



UNIVERSIDADE TIRADENTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

**OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DA *Alpinia zerumbet* (PERS.)
BURTT & SMITH RICO EM TERPENOS COM ATUAÇÃO NA
CAVEOLINA 1.3: UM ESTUDO CROMATOGRÁFICO E *in sílico***

ÍTALO JORGE FEITOSA SILVA

Aracaju
Fevereiro – 2024

UNIVERSIDADE TIRADENTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

**OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DA *Alpinia zerumbet* (PERS.)
BURTT & SMITH RICO EM TERPENOS COM ATUAÇÃO NA
CAVEOLINA 1.3: UM ESTUDO CROMATOGRÁFICO E *in silico***

Dissertação de mestrado submetido à banca
examinadora para a obtenção do título de
Mestre em Saúde e Ambiente, na área de
concentração Saúde e Ambiente.

ÍTALO JORGE FEITOSA SILVA

Orientadoras:

Profa. Dra. Edna Aragão Farias Cândido

Profa. Dra. Margarete Zanardo Gomes

Coorientador:

Dr. Klebson Silva Santos

Aracaju

Fevereiro – 2024

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

S568o Silva, Ítalo Jorge Feitosa
Obtenção do óleo essencial da *Alpinia zerumbet* (pers.) Burt & Smith rico em terpenos com atuação na Caveolina 1.3 [manuscrito] : um estudo cromatográfico e *in silico* / Ítalo Jorge Feitosa Silva – Aracaju, SE : 2024.
101 f.: il.

Orientadora: Dra. Edna Aragão Farias Cândido.
Orientadora: Dra. Margarete Zanardo Gomes.
Coorientador: Dr. Klebson Silva Santos.

Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Tiradentes, 2024.

1. *Alpinia*. 2. Canais de Cálcio Tipo L. 3. *Docking* Molecular. 4. Hidrodestilação. 5. Óleo essencial. I. Cândido, Edna Aragão Farias, orient. II. Gomes, Margarete Zanardo, orient. III. Santos, Klebson Silva, coorient. IV. Título.

CDU: 665.52:582.548.27

Ficha elaborada por Marcos Breno Andrade Leal (CRB-5/2048)

**OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DA *Alpinia zerumbet*
(PERS.) BURTT & SMITH RICO EM TERPENOS COM ATUAÇÃO
NA CAVEOLINA 1.3: UM ESTUDO CROMATOGRÁFICO E *in*
*sílico***

Ítalo Jorge Feitosa Silva

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA À BANCA EXAMINADORA
PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM SAÚDE E AMBIENTE, NA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO SAÚDE E AMBIENTE

Aprovada por:

Documento assinado digitalmente
 EDNA ARAGAO FARIAS CANDIDO
Data: 31/01/2024 20:36:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Edna Aragão Farias Cândido
(Orientadora)

Documento assinado digitalmente
 MARGARETE ZANARDO GOMES
Data: 02/02/2024 15:43:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Margarete Zanardo Gomes
(Orientadora)

Documento assinado digitalmente
 KLEBSON SILVA SANTOS
Data: 01/02/2024 14:33:47-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Klebson Silva Santos
(Coorientador)

Documento assinado digitalmente
 MARIA NOGUEIRA MARQUES
Data: 01/02/2024 16:25:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Maria Nogueira Marques
(PPG em Saúde e Ambiente da Universidade Tiradentes)

Documento assinado digitalmente
 THIAGO RODRIGUES BJERK
Data: 05/02/2024 13:12:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Thiago Rodrigues Bjerk
(PPG em Biotecnologia Industrial da Universidade Tiradentes-UNIT)

Aracaju, SE
Fevereiro - 2024

AGRADECIMENTOS

O mestrado talvez tenha sido um dos maiores desafios que já enfrentei na vida. Por vários momentos os inúmeros desafios geravam sentimentos de tristeza, incerteza e alegria, mas apesar dos percalços que muitos pesquisadores estão destinados a enfrentar de maneira solitária e intrínseca, há contributos de muitas pessoas para que o resultado seja alcançado.

Inicio meus agradecimentos com um versículo, que se encontra em 1 João 5:4: *“Porque todo o que é nascido de Deus vence o mundo; e esta é a vitória que vence o mundo, a nossa fé.”*, este texto foi meu sustento e refrigério diversas fases da minha vida. Sou grato primeiramente a Deus, por me fortalecer, renovar e guiar-me com sabedoria e discernimento para que eu concluísse as pesquisas e dissertação do mestrado. Sem Ele, e sua poderosa mão, não conseguiria chegar até aqui, pois ainda segundo a Bíblia, neste mesmo capítulo: *“Esta é a confiança que temos nEle, que, se pedirmos alguma coisa, segundo a sua vontade, Ele nos ouve.”*, e assim o fez.

Agradeço imensamente a minha família, especialmente aos meus pais (Jorge e Itaci), que foram meu alicerce em todos os momentos em que desistir, parecia ser a única opção. Passamos por muitas provas durante esses dois anos até a concretização de mais um sonho, mas aqui estamos, mais fortalecidos, gratos, unidos e vitoriosos. Quero externar minha gratidão também a minha irmã Hanna, ao meu cunhado Sidney, tias, tios e todos os demais familiares que de alguma forma, se fizeram presentes.

Aos meus amigos, pacientes, estagiários e colegas de laboratório, vocês são parte importantíssima e fundamental dessa trajetória. Obrigado por me ouvir, ajudar, acolher e incentivar. Esta conquista também é de vocês.

A Universidade Tiradentes, pela estrutura e suporte acadêmico oferecido na Graduação e agora, na Pós-Graduação. A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), pelo financiamento e fomento a pesquisa (bolsa PROSUP). Ao Instituto de Tecnologia e Pesquisa (ITP), Laboratório de Estudos Biológicos e Produtos Naturais (LBPN) e Laboratório de Morfologia e Patologia Experimental (LMPE) e ao Núcleo de Estudos em Sistemas Coloidais (NUESC), pelo apoio e ensinamento diário da rotina laboratorial.

A minha orientadora, prof. Dra. Edna Aragão, uma grande referência no cenário científico, que além de me incentivar diretamente a ingressar no mestrado, me

aconselhou, instruiu e corrigiu em vários momentos. És um exemplo de amor e dedicação à ciência, saiba que seu legado está sendo levado aos cientistas que perpassam seu caminho. Obrigado por tanto.

A prof. Dra. Margarete Zanardo, que abriu as portas do seu laboratório para mim, e me orientou de maneira concisa e paciente. Seus ensinamentos serão de grande valia para minha trajetória. Obrigado por aceitar o desafio de me orientar em uma temática tão específica e multifacetada, que envolve conhecimentos das mais diversas áreas.

Ao prof. Dr. Klebson Silva, meu coorientador, que me instruiu nas técnicas laboratoriais. Seu perfil científico amante da inovação, com inúmeras e constantes ideias, foram de suma importância para o enriquecimento da minha dissertação. Obrigado por me incentivar e ser peça fundamental para este trabalho.

A professora Dra. Daniela Droppa, que foi parte importante para a análise do docking molecular, o que agregou imensamente a esta pesquisa. Finalizo meus agradecimentos orgulhoso, grato e feliz, com a sensação de estar mais fortalecido, maduro e capaz. Honrarei o título de mestre e me comprometo a disseminar o conhecimento de forma justa e democrática.

“Tudo posso nAquele que me fortalece.” Fp. 4:13

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral.....	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
3.1 PLANTAS MEDICINAIS	13
3.2 ÓLEOS ESSENCIAIS	16
3.2.1 Óleos essenciais no Brasil.....	17
3.2.2 Composição química dos óleos essenciais	20
3.3 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS	22
3.3.1 Secagem de plantas medicinais pré extração	22
3.3.2 Granulometria do Material Vegetal	25
3.3.2 Extração por Hidrodestilação.....	26
3.4 <i>Alpinia zerumbet</i> (PERSOON) B. L. BURTT & R. M. SMITH VAR. EXCELSA FUNAKOSHI & ITO	27
3.4.1 Propriedades biológicas da <i>Alpinia zerumbet</i>	29
3.5 TERPENOS	31
3.5.1 Monoterpenos	32
3.5.2 Sesquiterpenos	34
3.6 CANAIS DE CÁLCIO TIPO L (CAVEOLINA 1.3).....	36
3.6.1 Óleo Essencial da <i>Alpinia zerumbet</i> em Canais de Cálcio Tipo L.....	39
3.7 DOCAGEM MOLECULAR.....	40
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
4.1 LOCAL DA PESQUISA.....	42
4.2 DESENHO DA PESQUISA.....	42
4.3 COLETA DO MATERIAL VEGETAL	42
4.4 DESENHO EXPERIMENTAL	43
4.5 PROCESSAMENTO	43
4.6 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA	46
4.6.1 Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG/EM)	46
4.6.2 Condições cromatográficas	46
4.6.3 Análises de dados cromatográficos	46
4.7 ESTUDO <i>in silico</i>	47
4.7.1 Identificação dos compostos	47
4.7.2 Análise da Docagem Molecular	49
4.7.3 Análise Farmacocinética.....	49
4.7.4 Análise no DrugBank	50
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	50
5 RESULTADOS.....	50
5.1 EXTRAÇÃO E RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DA <i>Alpinia zerumbet</i>	50
5.2 PERFIL CROMATOGRÁFICO DO ÓLEO ESSENCIAL DA <i>Alpinia zerumbet</i>	52
5.4 ESTUDO <i>in silico</i>	57
5.4.1 Docagem Molecular	57

5.3.2 Propriedades Físico-químicas e Farmacocinética	60
5.5 RENDIMENTO DOS TERPENOS-ALVO DO ÓLEO ESSENCIAL DA <i>Alpinia</i> <i>zerumbet</i> EVIDENCIADOS NA ANÁLISE <i>in sílico</i>	63
6 DISCUSSÃO	67
7 CONCLUSÃO.....	74
8 REFERÊNCIAS.....	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estufa de secagem com circulação de ar.	24
Figura 2: Peneira de granulometria.	26
Figura 3: Esquema de extração de óleo essencial por hidrodestilação com aparelho tipo Clevenger.	27
Figura 4: Foto ilustrativa de uma <i>Alpinia zerumbet</i>	28
Figura 5: Foto ilustrativa inflorescências da <i>Alpinia zerumbet</i>	29
Figura 6: Compostos químicos presentes na <i>Alpinia zerumbet</i>	34
Figura 7: Folhas da <i>Alpinia zerumbet</i>	43
Figura 8: Processamento da amostra.	44
Figura 9: Processo de hidrodestilação.	45
Figura 10: Rendimento de óleo essencial da <i>Alpinia zerumbet</i> das folhas frescas ou submetidas a secagem após extração por hidrodestilação, onde valores de * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ foram analisados pelo teste Mann-Withney.....	Erro! Indicador não definido.
Figura 11: Rendimento de óleo essencial da <i>Alpinia zerumbet</i> das folhas submetidas a secagem após extração por hidrodestilação em granulometrias menores, onde valores de * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ foram analisados pelo teste ANOVA ONE-WAY com pós teste de Tukey	Erro! Indicador não definido.
Figura 12: Cromatograma dos compostos identificados do óleo essencial da <i>Alpinia zerumbet</i> por Cromatografia Gasosa.	52
Figura 13: Compostos terpenóides majoritários dos grupos extraídos do óleo essencial da <i>Alpinia zerumbet</i> submetidos a intensificação por desidratação de folhas.	Erro! Indicador não definido.
Figura 14: Imagem ilustrativa da análise do OEAz por CG-EM, onde compostos A) Cicleno; B) Tujeno; C) α -Terpineno; D) p-cimeno; E) γ -terpineno; F) Eucaliptol; G) Terpineno-4-ol; H) Cariofileno e I) Óxido de Cariofileno foram selecionados para as análises in sílico.	67
Figura 15: Radar de biodisponibilidade do Cariofileno e Óxido de Cariofileno. A área rosa é a faixa ideal para cada propriedade analisada, lipofilicidade, tamanho, polaridade, solubilidade, flexibilidade e saturação segundo o software SwissADM	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Compostos obtidos através da análise cromatográfica do óleo das folhas de *Alpinia zerumbet* suas respectivas identificações no PubChem. 67

Tabela 2: Perfil cromatográfico por grupo de extração folhas frescas e secas do óleo essencial da *Alpinia zerumbet*. **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 3: Perfil cromatográfico do óleo essencial da *Alpinia zerumbet* por extração de folhas frescas e grupos de gramatura de folhas secas..... **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 4: A afinidade de ligação e estruturas acopladas dos nove compostos identificados no óleo de *Alpinia zerumbet* com o canal de cálcio Cav1.3. 69

Tabela 5: Resultados referentes ao SwissADME e os parâmetros do radar de biodisponibilidade dos compostos Cariofileno e Óxido de Cariofileno. 71

Tabela 6: Propriedades ADMET e Druglikeness tabuladas obtidas do servidor PreADMET e SwissADME. 73

Tabela 7: Quantitativos e percentuais do composto majoritário e compostos com melhor resposta na docagem molecular, identificados em cromatografia do OEAz extraído por hidrodestilação pós secagem ou não de folhas. **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 8: Quantitativos e percentuais do composto majoritário e compostos com melhor resposta na docagem molecular, identificados em cromatografia do OEAz extraído por hidrodestilação pós secagem de folhas com granulometrias diferentes. . **Erro! Indicador não definido.**

LISTA DE SIGLAS

ABRAPOE	Associação Brasileira de Produtores de Óleos Essenciais
Ca ²⁺ L	Canais de Cálcio Tipo L
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
IAC	Instituto Agronômico de Campinas
IO	Instituto de Óleos
IQA	Instituto de Química Agrícola
LBPN	Laboratório de Estudos Biológicos e Produtos Naturais
LMPE	Laboratório de Morfologia e Patologia Experimental
LTPRI	<i>Linear Temperature Programmed Retention Indices</i>
NIST WEB	<i>National Institute of Standards and Technology – NIST – MS</i>
NUESC	Núcleo de Estudos em Sistemas Coloidais
OEaz	Óleo Essencial da <i>Alpinia zerumbet</i>
OE _s	Óleos Essenciais
OMS	Organização Mundial da Saúde
PDB	Protein Data Bank
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
RESISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde
SNC	Sistema Nervoso Central
SNPA	Serviço Nacional de Pesquisas Agronômicas
SUS	Sistema Único de Saúde
TGI	Sistema Respiratório e Trato Gastrointestinal
VGCCs	Canais de Cálcio Dependentes de Voltagem

RESUMO

O óleo essencial da *Alpinia zerumbet* (OEAz) se destaca por suas atividades farmacológicas como a neuroproteção e a cardioproteção, que estão relacionadas ao bloqueio de canais de cálcio tipo L (Ca^{+2}L). Os monoterpenos são os compostos presentes em grandes quantidades na composição química do OEAz e que variações no método de extração podem resultar em modificações do teor e perfil do óleo obtido, este estudo teve como objetivo intensificar a extração do OEAz, bem como avaliar *in silico* as suas características farmacológicas e de ligação dos monoterpenos e sesquiterpenos identificados sobre os Ca^{+2}L . A pesquisa se caracteriza como experimental e *in silico*. A abordagem analítica verificou a influência da secagem e do tamanho de partículas das folhas de *Alpinia zerumbet* sobre o rendimento da extração e umidade, além da composição química do OEAz, que foi analisada por meio de cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas. Em seguida, foi realizada análise *in silico* por docagem molecular para possíveis interações entre os monoterpenos e Ca^{+2}L e de suas propriedades físico-químicas e farmacocinéticas. Não houve diferenças significativas no teor de umidade entre grupos (5,3% a 8,1%), mas o rendimento foi maior no grupo Folhas Secas 16-60 MESH trituradas em moinho de facas. A análise cromatográfica mostrou a presença de monoterpenos, terpenos oxigenados, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados em todos os grupos, com os compostos terpineno-4-ol, gama-terpineno, 1,8-cineol e 4(10)-tujeno em maior porcentagem. O percentual total de terpineno-4-ol, majoritariamente encontrado em todos os grupos, referente ao rendimento obtido do OEAz foi de $0,124 \pm 0,018$ para grupo FF; $0,445 \pm 0,089$ para grupo FS; $0,444 \pm 0,177$ para grupo FS8-16; $0,736 \pm 0,254$ para o grupo FS16-60. Os resultados da análise da docagem molecular revelaram que nove compostos identificados nas folhas de *Alpinia zerumbet* têm potencial para interagir com os Ca^{+2}L identificados como caveolinas cerebrais (Cav1.3). Desses compostos, o cariofileno e o óxido de cariofileno demonstraram as melhores afinidades de ligação, com o óxido de cariofileno demonstrando capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica. Assim, estes compostos são possíveis candidatos viáveis para desenvolvimento de fármacos. Conclui-se que modificações no processamento das folhas de *Alpinia zerumbet* quanto à secagem e tamanho de partícula (16-60 MESH) das folhas, permitiu obter um OEAz com melhor rendimento, sem perda de compostos químicos de interesse, com alto teor de monoterpenos e sesquiterpenos, oxigenados ou não, de interesse para a área farmacêutica, especialmente os sesquiterpenos, cariofileno e óxido de cariofileno, que mostraram maior afinidade em relação a Cav1.3, validando possíveis novas estratégias terapêuticas.

Palavras-chave: Óleo essencial; *Alpinia*; Hidrodestilação; Monoterpenos; Docking Molecular; Canais de Cálcio Tipo L.

ABSTRACT

Alpinia zerumbet essential oil (EOAz) stands out for its pharmacological activities such as neuroprotection and cardioprotection, which are related to the blockade of L-type calcium channels (Ca²⁺L). Monoterpenes are compounds present in large quantities in the chemical composition of EOAz and variations in the extraction method can result in changes in the content and profile of the oil obtained. This study aimed to intensify the extraction of EOAz, as well as evaluate *in silico* the its pharmacological and binding characteristics of the monoterpenes and sesquiterpenes identified on Ca²⁺L. The research is characterized as experimental and *in silico*. The analytical approach verified the influence of drying and particle size of Alpinia zerumbet leaves on the extraction yield and humidity, in addition to the chemical composition of EOAz, which was analyzed using gas chromatography coupled to mass spectrometry. Next, *in silico* analysis was carried out by molecular docking for possible interactions between monoterpenes and Ca²⁺L and their physicochemical and pharmacokinetic properties. There were no significant differences in moisture content between groups (5.3% to 8.1%), but the yield was higher in the group Dried Leaves 16-60 MESH crushed in a knife mill. Chromatographic analysis showed the presence of monoterpenes, oxygenated terpenes, sesquiterpenes and oxygenated sesquiterpenes in all groups, with the compounds terpinene-4-ol, gamma-terpinene, 1,8-cineole and 4(10)-thujene in the highest percentage. The total percentage of terpinene-4-ol, mostly found in all groups, referring to the yield obtained from EOAz was 0.124±0.018 for the FF group; 0.445±0.089 for FS group; 0.444±0.177 for group FS8-16; 0.736±0.254 for the FS16-60 group. The results of the molecular docking analysis revealed that nine compounds identified in Alpinia zerumbet leaves have the potential to interact with Ca²⁺L identified as brain caveolins (Cav1.3). Of these compounds, caryophyllene and caryophyllene oxide demonstrated the best binding affinities, with caryophyllene oxide demonstrating the ability to cross the blood-brain barrier. Thus, these compounds are possible viable candidates for drug development. It is concluded that modifications in the processing of Alpinia zerumbet leaves in terms of drying and particle size (16-60 MESH) of the leaves, allowed obtaining an EOAz with better yield, without loss of chemical compounds of interest, with a high content of monoterpenes and sesquiterpenes, oxygenated or not, of interest to the pharmaceutical area, especially sesquiterpenes, caryophyllene and caryophyllene oxide, which showed greater affinity in relation to Cav1.3, validating possible new therapeutic strategies.

Keywords: Essential oil; *Alpinia*; Hydrodistillation; Monoterpenes; Molecular Docking; L-type Calcium Channels.

1 INTRODUÇÃO

A *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burt. & R.M. Smith é uma planta da família Zingiberaceae comumente encontrada em regiões tropicais e subtropicais e que é utilizada popularmente como anti-hipertensivo e ansiolítico (VAN *et al.*, 2021). Sua relevância pode ser evidenciada pela inclusão da espécie na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (ReniSUS).

De acordo com a literatura, o óleo essencial obtido das folhas desta espécie apresenta ações biológicas com potencial terapêutico: no sistema cardiovascular, a administração intravenosa do OEAz e de seu componente químico terpineno-4-ol diminuíram a hipertensão experimentalmente induzida em ratos, um efeito atribuído diretamente ao relaxamento dos músculos lisos dos vasos (LAHLOU *et al.*, 2002; LAHLOU *et al.*, 2003). Este efeito miorelaxante (vasodilatador/anti-hipertensivo) também foi observado em artérias de ratos tratados com o OEAz (33,29% de 1,8-cineol, 19,4% de terpineno-4-ol e 11,04% de p-cimeno, em porcentagem do peso do óleo) e com o 1,8-cineol isoladamente. Neste estudo, os autores observaram que as ações do OEAz e 1,8-cineol foram diminuídas pela administração de inibidores da síntese de óxido nítrico endotelial (PINTO *et al.*, 2009). Rocha *et al.* (2023) mostraram que o efeito relaxante do OEAz sobre a resistência vascular em aorta de ratos envolve o bloqueio de mobilização de íons cálcio, sendo que a análise por docking molecular indicou a interação de compostos presentes no OEAz tanto com canais de membrana dependentes de voltagem (influxo de cálcio) quanto com canais do retículo sarcoplasmático (liberação de cálcio para o sarcolema).

Buscando elucidar o efeito e mecanismo de ação do OEAz sobre o músculo cardíaco, Santos *et al.* (2011) mostraram que a inibição de canais de Ca^{2+} L está envolvida no efeito cardiodepressor (diminuição da força de contração, ritmo sinusal e frequência cardíaca) provocado por este óleo. Observou-se que o OEAz (contendo 38,0% de terpineno-4-ol e 18,0% de 1,8-cineol) diminui a passagem corrente elétrica nos canais de Ca^{2+} L (SANTOS *et al.*, 2011). Mais recentemente, Holanda *et al.* (2023) mostraram que administração do OEAz via oral, majoritariamente constituído de 1,8-cineol, p-cimeno, terpineno-4-ol e γ -terpineno, promove diminuição da modulação simpática sobre o coração de ratos com infarto agudo do miocárdio.

As ações do OEAz sobre tecidos excitáveis também foram investigadas em modelos experimentais para estudo do sistema nervoso. Foi observado que o OEAz diminui de forma reversível a amplitude e a velocidade de condução do potencial de ação em nervo ciático de roedores (LEAL-CARDOSO *et al.*, 2004). No sistema nervoso central, trabalhos indicaram que o OEAz teve efeito depressor, antipsicótico (de ARAÚJO *et al.*,

2009; administração intraperitoneal) e ansiolítico (MURAKAMI *et al.*, 2009; administração inalatória, OEZ: p-cimeno 28,0%, 1,8-cineol 17,9%, terpineno-4-ol 11,9) em roedores. Foi evidenciado que esta ação antipsicótica tem relação com efeitos antioxidante, anti-inflamatório e promotor de aumento dos níveis de BDNF (Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro),

Em músculos estriados esqueléticos, o OEAz contendo p-cimeno (31,0%), 1,8-cineol (23,3%) e terpineno-4-ol (22,7%) melhorou a marcha de ratos imobilizados em modelo para estudo de fibrose muscular (BATISTA *et al.*, 2022). Já havia sido observado que o OEAz, também administrado por via cutânea, diminui a espasticidade muscular após acidente vascular encefálico em humanos (MAIA *et al.*, 2016; CÂNDIDO *et al.*, 2017b). De fato, um fitomedicamento indicado para a espasticidade muscular, Ziclague, produzido a partir do OEAz, é comercializado pela indústria farmacêutica.

Os compostos químicos citados anteriormente, monoterpenos predominantes na composição do OEAz (HOCH *et al.*, 2023), também apresentam atividades biológicas ligadas à interação com canais de cálcio. Por exemplo, o 1,8 cineol parece exercer seu efeito relaxante sobre o músculo liso traqueal inibindo os canais de Ca^{2+} tipo L dependentes de voltagem (PEREIRA-GONÇALVES *et al.*, 2018). O terpineno-4-ol promoveu relaxamento do músculo liso arterial por meio da inibição do influxo de Ca^{2+} através de canais dependentes de voltagem (MAIA-JOCA *et al.*, 2014). O tratamento com p-cimeno subcutâneo diminuiu a dor oncológica por meio da modulação das correntes de cálcio. Os autores avaliaram *in silico* (docking molecular) as probabilidades de ligação do p-cimeno com canais de cálcio dependentes de voltagem com relação às subunidades tipo CaV1 , CaV2.1 , CaV2.2 e CaV2.3 e os dados indicaram que é provável a ocorrência de ligação entre o p-cimeno e os sítios estudados (PEREIRA-GONÇALVES *et al.*, 2018).

Dos 4 subtipos de canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem, aqueles formados pelas subunidades $\alpha1$ Cav1.2 e Cav1.3 são os mais amplamente expressos em neurônios, no nodo sinoatrial e em cardiomiócitos (ORTNER, STRIESSNIG, 2016; BKAILY, JACQUES, 2023). Apesar da semelhança estrutural da subunidade $\alpha1$ formadora de poros e da sensibilidade comum aos bloqueadores de canais de Ca^{2+} , os subtipos apresentam características funcionais distintas quanto ao controle de abertura e interações estruturais com diferentes proteínas. Neste sentido, os pesquisadores têm direcionado esforços para a obtenção de inibidores seletivos de Cav1.3 , que têm efeito cardioprotetor (DELGADO-BETANCOURT *et al.*, 2023) mas estão menos associados à redução da pressão arterial (menores efeitos colaterais adversos) e que apresentam grande potencial terapêutico para o sistema nervoso (CAULFIELD *et al.*, 2023). Especificamente em relação à ação o OEAz e de seus marcadores químicos, ainda há

poucos estudos que possibilitem uma melhor compreensão dos mecanismos sobre as subunidades de canais Ca^{2+} L.

Ao longo deste trabalho, será mostrado que o OEAz apresenta ainda os sesquiterpenos cariofileno e o óxido de cariofileno. Esses compostos têm sido estudados por sua atividade antineoplásica (FIDYT *et al.*, 2016; XIU *et al.*, 2022; SHABANA *et al.*, 2023) e também foi observado que óxido de cariofileno inibe a passagem de correntes de Ca^{2+} com consequente diminuição da contratilidade cardíaca em cardiomiócitos (SENSCH *et al.*, 2000).

Dada a relação entre composição química dos produtos naturais e suas atividades biológicas, como apresentado acima, torna-se relevante a escolha do método de extração. Além da qualidade, os métodos de extração influenciam a quantidade de produtos obtidos e, no caso do OEAz, apenas uma pequena quantidade de óleo (0,04–0,07%) pode ser extraída de uma grande quantidade de folhas (KAWAI *et al.*, 2020), o que eleva seu custo. Neste sentido, variações das condições do processamento da amostra, tal como a secagem e padronização do tamanho de partículas do material utilizado, podem favorecer a extração do OEAz (GE *et al.*, 2022; SAIKIA *et al.*, 2023) obtido convencionalmente por hidrodestilação.

Verifica-se, portanto, que o OEAz e seus principais marcadores químicos (monoterpenos e sesquiterpenos) apresentam importantes ações biológicas que podem estar relacionadas ao bloqueio de canais Ca^{2+} L. No entanto, as interações e a especificidade de ligação desses compostos ainda não são claramente elucidadas. Este estudo obteve e caracterizou um OEAz rico em monoterpenos e sesquiterpenos de importância biológica e verificar possíveis interações entre as substâncias identificadas e os canais Ca^{2+} L do subtipo Cav1.3.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Realizar a extração do óleo essencial presente nas folhas de *Alpinia Zerumbet* por meio do método de hidrodestilação, visando identificar os terpenos que demonstrem potencial de interação com os canais de cálcio do tipo L (Ca^{2+}L).

2.2 Objetivos específicos

- Verificar a influência das condições de secagem e granulometria sobre o rendimento da extração;
- Caracterizar o OEAz obtido por hidrodestilação quanto ao Perfil químico e teor de terpenos;
- Realizar a análise *in silico* quanto às possíveis interações entre os terpenos encontrados no OEAz e os canais Ca^{2+}L .

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 PLANTAS MEDICINAIS

Mundialmente, o uso de plantas medicinais com propriedades terapêuticas é uma prática que remonta à ancestralidade. Por um longo período, as plantas medicinais foram o principal recurso utilizado na medicina para o tratamento e prevenção de doenças (SILANO, 2004; FOGLIO, 2006; AHMAD, 2010; MORAES, 2011; CONTER, 2015; MARMITT, 2016). Muitas culturas tradicionais utilizam essas plantas como base da medicina popular, e até hoje, a medicina moderna incorporou diversas plantas medicinais em tratamentos terapêuticos (BRASIL, 2012). Essas plantas contêm compostos bioativos, como polifenóis, terpenos e alcaloides, que têm efeitos farmacológicos e podem ajudar a melhorar a saúde e o bem-estar humano e são aplicadas para a síntese de produtos químicos e farmacêuticos, tendo como responsáveis pela ação terapêutica os constituintes químicos denominados "princípios ativos" (FREITAS; SILVA, 2023).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), as plantas medicinais possuem a capacidade de diminuir sintomas ou tratar doenças tendo como foco seu uso como remédio na população por vias diretas, ou seja, chás e infusões (BRASIL, 2014). Um dos fatores que auxiliou esse cenário no país, foi a variedade de plantas com amplas propriedades medicinais. O Brasil contém a maior diversidade genética do mundo. Segundo dados do próprio Ministério do Meio Ambiente, o Brasil possui mais de 43 mil espécies vegetais, se tornando assim um local com alto potencial econômico para o uso de tais espécies como produtos (BRASIL, 2008). Dessa forma, a

diversidade da flora brasileira proporciona uma grande variedade de plantas com propriedades terapêuticas, muitas das quais são utilizadas pela população para tratar diversos problemas de saúde, desde dores de cabeça até doenças mais graves (PROENÇA DA CUNHA, 2010).

Por conta do potencial que essas plantas apresentam e a popularidade do seu uso, a Organização Mundial da Saúde (OMS) vem buscando elaborar medidas que valorizem sua aplicação ligada à medicina tradicional, assim como o Ministério da Saúde (MS) juntamente com outras organizações. A exemplo disso, tem-se a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS) (2003/05) que em 2005 determinou a criação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), com intuito de fornecer maior acesso e uso de plantas medicinais e dos fitoterápicos, garantindo sua segurança e eficácia (BRASIL, 2008; MATSUCHITA; MATSUCHITA, 2015).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) afirma que 80% da população de países em desenvolvimento faz uso de práticas medicinais na atenção primária à saúde. No Brasil, cerca de 20% da população consome 63% dos medicamentos alopáticos, enquanto a outra parte busca soluções nos produtos de origem natural, especialmente em plantas com caráter medicinal (SILVA; SANTOS, 2016). Essa preferência pela medicina natural reflete a confiança em abordagens tradicionais que muitas vezes envolvem o uso de extratos de plantas.

É importante notar que os extratos de plantas têm sido historicamente utilizados para tratar uma variedade de doenças comuns, como gripes, resfriados e distúrbios digestivos. No entanto, à medida que a pesquisa avança, novas perspectivas se abrem sobre o potencial terapêutico das plantas, especialmente em relação a doenças mais complexas, incluindo aquelas relacionadas aos canais de cálcio tipo L. Esses canais desempenham um papel crítico na regulação de várias funções celulares, e pesquisas recentes sugerem que algumas plantas medicinais podem ter a capacidade de modular esses canais, oferecendo possíveis benefícios no tratamento de condições como hipertensão arterial, arritmias cardíacas e distúrbios neurológicos (SILVA; SANTOS, 2016).

Além disso, estudos científicos também apontam que muitas ervas e extratos de plantas podem ter efeitos positivos na saúde do cérebro, potencialmente reduzindo o risco de doenças neurodegenerativas. Essas descobertas destacam o valor das terapias baseadas em plantas como uma abordagem complementar importante para a saúde, capaz de abranger tanto doenças comuns quanto condições mais complexas, incluindo aquelas relacionadas aos canais de cálcio tipo L. Portanto, a pesquisa contínua nesse

campo é essencial para explorar o potencial terapêutico das plantas de forma abrangente (NY *et al.*, 2021).

Apesar da popularidade das plantas medicinais no Brasil, e consequentemente dos níveis altos de uso de produtos associados a essas plantas, (90% da população brasileira), é importante ressaltar que o uso dessas plantas deve ser feito com cautela e orientação adequada, uma vez que elas podem ser tóxicas em excesso ou interagir com medicamentos alopáticos, e podem causar efeitos adversos devido a seus constituintes químicos, razão pela qual se faz importante o uso desses medicamentos de maneira racional, já que sua origem natural não impede que tais plantas possam trazer malefícios a saúde do usuário (QUEIROZ, 2017; SANTOS, 2018; SOUZA, 2019).

Em resumo, as plantas medicinais são uma alternativa natural e promissora para a prevenção e tratamento de diversas doenças. No entanto, é importante utilizar essas plantas com cautela e orientação adequada, para garantir a segurança e eficácia do tratamento (SOUZA, 2019).

Por conta disso, é de suma importância o conhecimento sobre os efeitos farmacológicos e toxicológicos das plantas, já que estas podem apresentar riscos e contraindicações para a saúde humana. Os estudos associados a toxicidade das plantas vêm ganhando espaço pois averiguam o quão seguro é o seu uso e verificam diferentes aspectos a seu respeito, observando também a sua composição, que podem servir para o desenvolvimento de outros fármacos (HARVEY *et al.*, 1998; MERINO *et al.*, 2015).

3.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

A primeira descrição dos óleos essenciais foi realizada pelo físico catalão Arnald de Villanova, que registrou o processo de destilação na Europa, fazendo assim com que o uso dessa técnica e de seus produtos ficassem reconhecidos pela indústria farmacêutica da época pós-medieval (RAMME *et al.*, 2020). Já na segunda metade do século XVI, o físico Estrasburgo Hieronymus Brunschwig escreveu e lançou dois volumes do livro "Liber De Arte Distillandi", onde explicava técnicas de destilação e detalhava alguns produtos, dentre esses, quatro óleos essenciais: terebintina, alecrim, madeira de zimbro e de lavanda. Logo após, Adam Lonicer, evidencia os usos medicinais dos óleos essenciais, em seu livro intitulado Krauterbuch, e posteriormente o napolitano Giovanni Battista Della Porta, lança o "De Destillatione libri IX", que descreve a preparação dos óleos essenciais, a separação correta dos óleos voláteis e da água, além dos equipamentos empregados para a obtenção dos mesmos (GUENTHER *et al.*, 1948).

Atualmente, sabe-se que os óleos essenciais (OEs) têm em torno de 20 a 60 componentes, presentes em concentrações diferentes, sendo assim, se caracterizam

como compostos complexos (CONCEIÇÃO, 2019). É comum que entre dois e três compostos em concentrações majoritárias determinem a diferença de ação terapêutica entre esses óleos (BAKKALI *et al.*, 2008 *apud* GOMES, 2011). Levando em consideração a estrutura desses óleos, eles contêm hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas e cumarinas (FURTADO; VENEZIANI; AMBRÓSIO, 2017; NASCIMENTO, PRADE, 2020).

Os óleos essenciais possuem algumas atividades farmacológicas, dentre as quais incluem-se as ações gastrointestinais, como ação antiespasmódica, carminativa e digestiva (RIAZ; KHAN; QAZI, 2020), antiparasitária (AZADBAKHT *et al.*, 2020), antinociceptiva (HERNANDEZ-LEON *et al.*, 2020), ação anti-inflamatória (MATULYTE *et al.*, 2020), estimulante do sistema respiratório (LIU *et al.*, 2020), ajudam a melhorar quadros de ansiedade e depressão (SOHRABI *et al.* 2017), possuem atividade antioxidante (GHANIMA *et al.*, 2020) e atividade citotóxica antitumoral (TIAN *et al.*, 2020). Além disso, eles possuem baixo peso molecular, volatilidade e lipossolubilidade, que fazem com que os óleos essenciais sejam ideais para maior absorção na pele, sistema nervoso central (SNC), sistema respiratório e trato gastrointestinal (TGI) (CONCEIÇÃO, 2019; GNATTA *et al.*, 2016; NASCIMENTO, PRADE, 2020).

Ainda levando em consideração os efeitos dos óleos essenciais sobre o organismo, um fator importante a se considerar é que estes podem decorrer da ação combinada dos diferentes componentes (SIMÕES *et al.*, 2017) que atuam em diferentes vias ou receptores nas células (FURTADO; VENEZIANI; AMBRÓSIO, 2017; NASCIMENTO, PRADE, 2020; POSSEL, 2019).

3.2.1 Óleos essenciais no Brasil

As pesquisas com óleos essenciais no Brasil remontam ao século XIX, quando as primeiras plantas medicinais começaram a ser estudadas no país. As primeiras pesquisas com óleos essenciais foram feitas por Theodor Peckolt, um farmacêutico natural da Silésia Alemã (atual Polônia), que chegou ao Brasil em 1847. Suas pesquisas incluíam dados sobre rendimento e composição desses óleos (PINTO *et al.*, 2002).

Embora já houvesse estudos isolados sobre o assunto, o estudo sistemático de óleos essenciais no Brasil teve início na década de 40 se diversificando e expandindo na década de 50, no Instituto de Óleos (IO), sendo estudado o sassafrás (BIZZO; HOVEL; REZENDE, 2009), e no Instituto de Química Agrícola (IQA), avaliando o óleo de pau-rosa (GOTTLIEB; MAGALHÃES, 1958). Ambos os institutos faziam parte do Serviço Nacional de Pesquisas Agronômicas (SNPA) e atualmente estão extintos, porém as pesquisas

destas áreas foram incorporadas à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) (BIZZO; HOVEL; REZENDE, 2009).

Nos anos 50 foram conduzidos trabalhos de pesquisa com plantas aromáticas pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), resultando no surgimento da cultivar de menta IAC- 701, levando o Brasil à liderança no fornecimento mundial de mentol no final da década de 1960 (HOPP; LAWRENCE, 2007).

Em 2009 foi fundada a Associação Brasileira de Produtores de Óleos Essenciais (ABRAPOE) objetivando aproximar os produtores e os centros de pesquisa nacionais para agregar qualidade aos óleos essenciais e, através de estudos padronizados, atualizar dados de mercado e representar a área junto aos órgãos e programas governamentais (BUENO *et al.*, 2021).

O Brasil possui as duas maiores diversidades vegetais do planeta, a floresta amazônica e a mata atlântica. O cultivo de plantas medicinais e a obtenção dos óleos voláteis têm importante atividade econômica pela crescente utilização industrial. Além disso, o país é um grande produtor de óleos essenciais, porém, enfrenta desafios como a falta de manutenção da qualidade dos óleos, a representatividade nacional limitada e baixos investimentos governamentais, que dificultam o desenvolvimento do setor. O Paraná, por exemplo, é o estado brasileiro com maior tradição na produção de fitoterápicos, com uma área de 6 mil hectares ocupados por espécies potenciais, medicinais, condimentares e aromáticas. A produção anual média é de 18,6 mil toneladas, gerando uma receita de R\$88,5 milhões (BUENO *et al.*, 2021).

Os produtos derivados de óleos essenciais desempenham um papel importante no comércio e na economia do Brasil. A Dierberger, uma empresa brasileira, é um exemplo de indústria que produz óleos essenciais, com uma produção anual de 10 a 12 toneladas de óleo essencial de casca de laranja e 5 a 10 toneladas de óleo essencial de limão siciliano. Apesar da posição de destaque que o Brasil ocupa na produção mundial de óleos essenciais, a falta de manutenção da qualidade dos óleos, a baixa representatividade do setor no mercado e o insuficiente investimento governamental no setor têm sido visíveis. Esses problemas afetam as produções e vendas, estabilizando o setor (BIZZO 2009).

No entanto, a criação da ABRAPOE (Associação Brasileira de Produtores de Óleos Essenciais) tem ajudado a aproximar os produtores dos centros de pesquisa e estudo nacionais. A associação auxilia na melhoria da qualidade dos óleos essenciais, no fornecimento de dados e outras ferramentas para o desenvolvimento da atividade (BIZZO 2009).

Durante as décadas de 1950 e início dos anos 60, quando o Brasil estava imerso no processo de industrialização, várias empresas do setor de alimentos e especializadas

em produtos químicos estabeleceram suas operações no país, em resposta à crescente demanda interna por esses produtos. É interessante notar que durante esse período, muitas dessas empresas também desempenharam um papel crucial na introdução de espécies de plantas aromáticas em território brasileiro (BIZZO; HOVEL; REZENDE, 2009).

A partir dos anos 70, com o crescente interesse por produtos naturais e terapias alternativas, o mercado de óleos essenciais no Brasil passou por uma expansão significativa. Empresas especializadas surgiram no país e a produção de óleos essenciais tornou-se uma atividade importante em diversas regiões. A principal área de produção de óleos essenciais no Brasil é a Região Sudeste, com destaque para o Estado de São Paulo, sendo que a produção de óleos de citronela, eucalipto, laranja e lavanda são as mais expressivas (CONAB, 2018).

A normalização da produção chinesa e a consequente competição no mercado internacional, onde os preços chineses se tornaram mais acessíveis, tiveram um impacto significativo na exportação de óleos essenciais. Esta situação, combinada com a ausência de políticas nacionais voltadas para o estímulo da produção desses óleos no Brasil, resultou em uma queda substancial no mercado nacional deste produto. É importante notar que os óleos essenciais cítricos não foram tão afetados por essa dinâmica, devido à sua utilização como subprodutos da indústria de sucos, uma indústria bem estabelecida no Brasil e focada principalmente na exportação (COPPEN, 1995).

No cenário atual, o Brasil se destaca como um dos maiores produtores mundiais de óleos essenciais, figurando entre os quatro principais produtores, ao lado da Índia, China e Indonésia. Esse reconhecimento internacional deve-se, em grande parte, à produção de óleos essenciais provenientes de várias espécies de plantas aromáticas. É relevante mencionar que a posição de destaque do Brasil nesse mercado é particularmente impulsionada pelos óleos essenciais derivados de plantas cítricas, os quais, como já foi destacado, são amplamente utilizados como subprodutos da indústria de sucos (SNA, 2017).

3.2.2 Composição química dos óleos essenciais

Para entender melhor a composição de um óleo essencial, pode ser realizada a caracterização química dos seus componentes via cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM) (PIMENTEL, 2014).

A CG-EM é uma técnica analítica utilizada para a identificação e quantificação de compostos químicos em uma amostra. Essa técnica é amplamente utilizada na caracterização química dos componentes de óleos essenciais (ALVES, 2019). O

processo de CG-EM envolve a separação dos componentes químicos de uma amostra por cromatografia em fase gasosa, onde a amostra é vaporizada e passa através de uma coluna cromatográfica (PIMENTEL, 2014). A coluna contém uma fase estacionária que retém os componentes da amostra de acordo com suas propriedades físico-químicas, como polaridade e massa molecular. Os componentes separados são então detectados e identificados pela espectrometria de massa, que fornece informações sobre a estrutura molecular dos compostos (ALVES, 2019).

A CG-EM permite a identificação precisa de compostos químicos em óleos essenciais, ajudando a determinar a composição química desses óleos e a entender suas propriedades terapêuticas. Por exemplo, a análise por CG-EM pode ajudar a identificar compostos específicos em um óleo essencial que têm propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias ou analgésicas, permitindo que o óleo seja utilizado de forma mais eficaz para o tratamento de condições específicas. Os resultados das regiões de pico analisadas são confrontados com padrões de referência da espécie da planta (SARKIC; STAPPEN, 2018).

Nesse sentido, a cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massa é uma técnica importante para a caracterização química de óleos essenciais e a identificação de seus componentes terapêuticos, auxiliando na compreensão da sua composição e propriedades (PIMENTEL, 2014).

Se faz importante entender a sua composição especialmente para a produção de óleos voláteis terapêuticos, isso por que esses não são estáveis em certas circunstâncias, como na presença de metais, umidade, calor, luz e ar (FURTADO; VENEZIANI; AMBRÓSIO, 2017). Além disso, é relevante conhecer certas características como: seu ponto de ebulição que varia de 150 até acima de 300°C; sua solubilidade em solventes lipofílicos e baixa solubilidade em água, enquanto na presença de moléculas oxigenadas contendo grupamentos alcoólicos e ácidos, são parcialmente solúveis (OLIVEIRA; SARMENTO, 2019; SARKIC; STAPPEN, 2018).

Além desses fatores citados, a genética e fisiologia da planta (fatores internos), e o ambiente e a colheita (fatores externos), causam influência em diversos âmbitos e devem ser levados em consideração para a produção desses óleos (OLIVEIRA; SARMENTO, 2019; SIMÕES *et al.*, 2017).

Quimicamente, os óleos essenciais são óleos naturais, de cheiros distintos, provenientes pelas glândulas das plantas aromáticas, com estruturas químicas compostas por carbono, hidrogênio e oxigênio, formando misturas complexas de componentes (OLIVEIRA; SARMENTO, 2019). As substâncias podem apresentar estruturas diferentes entre si, podendo ser classificadas segundo o quadro 1.

Quadro 1: Compostos químicos presentes nos óleos essenciais

Compostos	Classe	Referência
Linalol, geraniol, citronelol, terpinol, mentol, borneol.	Álcoois	QUARESMA-SANTOS (2017).
Citral, citronelal, benzaldeído, aldeído cumínico, vanilina.	Aldeídos	FERREIRA (2014)
Eugenol, timol, carvanol.	Fenóis	SOUZA <i>et al.</i> (2016); DAL POZZO (2011).
Canfeno, pinneno, limoneno, felandreno, cedreno.	Terpenos	FELIPE <i>et al.</i> (2017); PIRES <i>et al.</i> (2018).
Cimeno, estireno (feniletano).	Hidrocarbonetos	ALCANTARA <i>et al.</i> (2010); VELOSO <i>et al.</i> (2014).

Fonte: Adaptação de Shreve (2008).

Os óleos essenciais possuem composição química bastante complexa. Sua produção está associada à fisiologia dos vegetais, logo os constituintes fitoquímicos e quantitativos dependem das enzimas específicas que catalisam os compostos voláteis. Geralmente, os óleos essenciais são formados por estruturas de terpenos (LUPE, 2007).

Os terpenos são formados pela associação dos isoprenos, com cadeias de cinco carbonos interligados uns aos outros, e esses se diferenciam pelo número de unidades que se repetem. Os monoterpenos e sesquiterpenos possuem uma pequena massa molecular e por isso são extremamente voláteis explicando assim o aroma acentuado e característico dos óleos essenciais (ALVES *et al.*, 2017).

Além dos terpenos, também pode ser encontrado na composição dos óleos essenciais os sesquiterpenos, fenólicos, fenilpropanóides, alifáticos não terpênicos, heterocíclicos, entre outros. Esses compostos apresentam funções similares a álcoois, aldeídos, ácidos carboxílicos, acetatos, cetonas, ésteres, dentre outros. Como exemplo, o óleo essencial de rosas apresenta cerca de 300 constituintes, com ações biotecnológicas e bioquímicas específicas (SARKIC; STAPPEN, 2018).

3.3 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Dentre os métodos de extração mais utilizados atualmente estão a extração por solvente, a extração por fluido supercrítico e a extração por micro-ondas. Cada método tem suas vantagens e desvantagens, e a escolha do método mais adequado depende do tipo de amostra, da molécula alvo e da finalidade da extração. Além disso, a seleção dos solventes e as condições de extração são importantes para garantir a seletividade e a eficiência da extração. A otimização desses parâmetros pode aumentar significativamente a recuperação da molécula alvo e reduzir a presença de impurezas indesejáveis no produto (NOUR; OLUWASEUN; NOUR; OMER; AHMED, 2021).

Dado as propriedades da *Alpinia zerumbet*, convém salientar que existem várias formas de produção do seu óleo essencial, que é obtido a partir das folhas ou rizomas da planta. Algumas das técnicas utilizadas incluem a destilação por arraste de vapor, sendo a técnica mais comum para obtenção do óleo essencial da *Alpinia zerumbet*. Neste caso, a *Alpinia zerumbet* é imersa em um solvente (água), que dissolve os componentes essenciais da planta, formando um extrato. O solvente é separado por decantação por diferença de peso molecular, separando o óleo essencial. E ainda a pressão a frio, utilizada principalmente para a produção de óleo de *Alpinia zerumbet* para fins cosméticos. Consiste em prensar as folhas ou rizomas da planta a frio, para obter o óleo essencial sem aquecimento. O rendimento do óleo essencial da *Alpinia zerumbet* pode variar dependendo da técnica utilizada, da parte da planta utilizada e das condições de cultivo da planta (OKOH *et al.*, 2010).

3.3.1 Secagem de plantas medicinais pré extração

A secagem é uma operação unitária que objetiva a eliminação da água pelo processo de evaporação, com o intuito de melhorar as condições de conservação de um produto. Neste processo é feita a retirada da água livre contida nos tecidos vegetais, isso é realizado por meio do aumento da temperatura que causa a elevação da pressão parcial de vapor do produto, ocasionando assim a redução no teor de água do material (HII *et al.*, 2012; ALMEIDA *et al.*, 2016).

Este processo em plantas medicinais é uma ação de suma importância para o armazenamento, uma vez que a indústria farmacêutica de fitoterápicos não possui estrutura para o uso de plantas frescas em quantidades regulamentadas para a produção industrial (LORENZI; MATOS, 2002).

O processo de secagem de plantas medicinais tem como finalidade preparar as plantas para um armazenamento correto e seguro, possibilitando-lhe a permanência das

propriedades biológicas e medicinais, visando atender as exigências das indústrias farmacêuticas de fitoterápicos (LORENZI; MATOS, 2008).

Podem ser destacados dois tipos de secagem, a natural e a artificial. A secagem natural, pode ser feita à sombra ou sob o sol, mas para muitas plantas medicinais e aromáticas, é totalmente desaconselhada, visto que o processo de foto decomposição degrada os componentes químicos e altera o odor, cor e sabor (LORENZI; MATOS, 2008).

Já a artificial, pode ser realizada em estufa de circulação de ar (figura 1) com temperatura controlada. De acordo com CÔRREA *et al.* (2004), a secagem de plantas produtoras de óleos essenciais deve ser criteriosa e deve ser definida a metodologias mais apropriadas para cada espécie, visando assegurar os teores de substâncias ativas dos diversos métodos de extração (MAIA *et al.*, 1987).



Figura 1: Estufa de secagem com circulação de ar.

Fonte: próprio autor.

Nos últimos anos, os pesquisadores realizaram estudos aprofundados sobre a influência de diferentes métodos de secagem no teor e composição de óleos essenciais de plantas aromáticas, incluindo o óleo essencial de borneol (MOR-SHEDLOO; MACHIANI; MOHAMMADI; MAGGI e JAVANMARD, 2020), óleo essencial de lavanda

(MIRJALILI; SALEHI; VALA e GHORBANPOUR, 2019), casca de limão (ZHANG; LV; XU e ZHANG, 2018), de hortelã-pimenta (MOKHTARIKHAH; EBADI e AYYARI, 2020) e óleo essencial de anis estrelado (SHI *et al.*, 2021), etc.

Os efeitos da secagem sobre a composição de plantas medicinais têm sido pesquisados, com o objetivo de demonstrar que as variações nas concentrações de seus constituintes, durante a secagem dependem de diversos fatores como o método e tempo de secagem, temperatura do ar empregada, características fisiológicas, além do tipo de componente químico presente nas plantas submetidas à secagem (VENSKUTONIS, 1997; MELO, 2004).

É fundamental entender a importância da influência da variação da temperatura nos óleos essenciais, tendo em vista que a temperatura de secagem prévia do material vegetal apresenta uma relação no teor e na composição dos princípios ativos de espécies medicinais afetando assim a composição dos óleos essenciais. Como consequência de processos de secagem mal-conduzidos, podem ocorrer alterações físico-químicas nos óleos essenciais tais como: perda de substâncias voláteis, capacidade de reidratação, alteração de coloração e perda de aromas (SOUZA *et al.*, 2008; BORSATO, 2005; RADUNZ, 2004).

A influência da granulometria do material vegetal também deve ser considerada no processamento de óleos essenciais. A granulometria se refere ao tamanho das partículas do material vegetal após a secagem e trituração, e isso pode afetar significativamente a extração dos óleos essenciais.

3.3.2 Granulometria do Material Vegetal

Granulometria é a medida da distribuição do tamanho das partículas em um material, geralmente expressa em mm ou Mesh considerando o peso ou volume das partículas em cada tamanho de intervalo. O aumento da área superficial, através da redução da partícula da amostra, é um parâmetro crucial na extração de moléculas (Oliveira, *et al.*, 2011). Na área da extração de moléculas, o aumento da área superficial da amostra é importante para aumentar a transferência de massa da fase sólida para a fase líquida, o que é fundamental para a obtenção de compostos alvos. Os métodos de extração e processamento têm um papel fundamental na obtenção de compostos alvos, e a escolha do método adequado pode afetar significativamente a qualidade e a quantidade do produto final (CARVALHO, 2018).

A análise de granulometria (figura 2) é importante para garantir a repetibilidade e reprodutibilidade do processo de extração, como em produtos farmacêuticos, onde

partículas muito grandes ou muito pequenas podem afetar a eficácia do produto (YOO; CHOI; KIM, 2016).



Figura 2: peneira de granulometria.

Fonte: elaboração própria.

3.3.2 Extração por Hidrodestilação

A hidrodestilação é um método bastante versátil e eficiente, sendo a técnica mais utilizada em laboratório. Neste processo se evita a perda de compostos pela alta temperatura e há maior qualidade do óleo obtido, porém tem a desvantagem de ser mais lenta e com menor rendimento (SILVEIRA *et al.*, 2012).

A hidrodestilação em aparelho de Clevenger, conforme destacado na Figura 3, é um método que aquece a amostra embebida em água a temperaturas brandas (abaixo de 100°C), temperatura superior ao ponto de ebulição dos componentes do óleo essencial, até que seja volatilizado. Posterior à volatilização, o vapor d'água e os constituintes do óleo essencial passam por um condensador. No entanto, a água é imiscível com o óleo essencial, formando duas fases (óleo e água), cuja mistura é recebida no frasco e separada com auxílio de constituintes químicos (AZAMBUJA, 2017).

A hidrodestilação é o método mais utilizado em escala laboratorial, sendo considerada uma forma de extração artesanal pois ainda carece de aperfeiçoamento e estudos para maior aplicação em escala industrial (AZAMBUJA, 2017). Todavia, segundo

o Azambuja (2017), é um método mais “refinado e completo”, porque através de menores temperaturas, há menos perda de compostos delicados.

O princípio de extração neste método é o mesmo que na destilação por arraste a vapor, a diferença é que na hidrodestilação o material vegetal está imerso em água. No extrator a mistura é aquecida até a ebulição. O vapor força a abertura das paredes celulares e consequentemente ocorre a evaporação do óleo que está entre as células da planta (SILVA, 2011). A água e o óleo essencial se vaporizam, formando uma mistura homogênea. Em seguida os vapores de água e óleo são resfriados em um condensador, sendo liquefeitos, e após decantação da mistura, os óleos são separados em razão da diferença de densidade (WOLFFENBUTTEL, 2010). O processo está representado na Figura 1, no qual está sendo utilizado o aparato Clevenger.

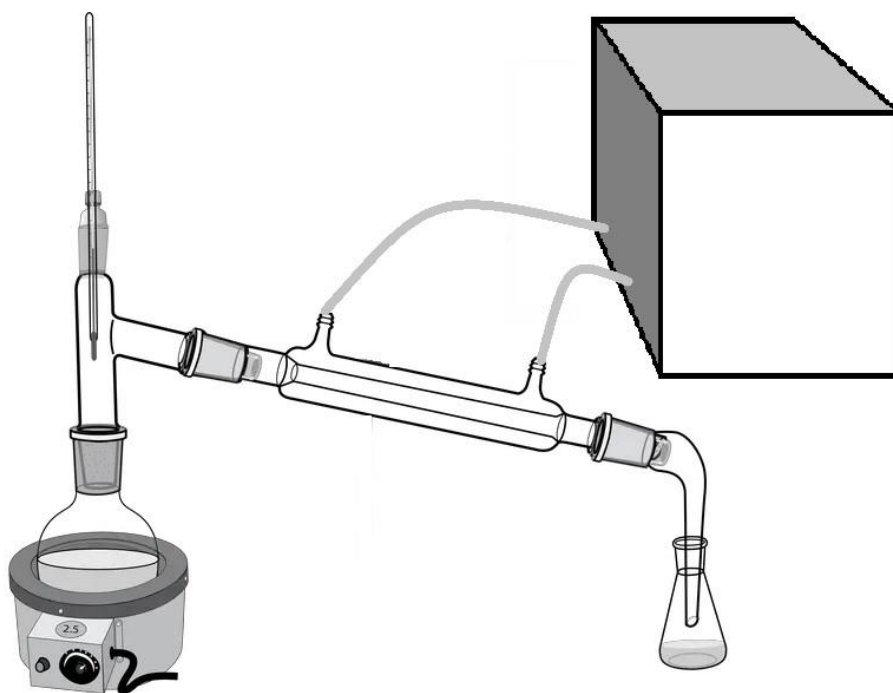


Figura 3: esquema de extração de óleo essencial por hidrodestilação com aparelho tipo Clevenger.

Fonte: próprio autor.

3.4 *Alpinia zerumbet* (PERSOON) B. L. BURTT & R. M. SMITH VAR. EXCELSA FUNAKOSHI & ITO

A família das *Zingiberaceae* possui uma classificação que inclui outras quatro espécies que são: *Hedychieae* que tem 22 gêneros, *Alpinieae* com 25 gêneros,

Zingibereae com 1 gênero e *Globbeae* com 4 gêneros, com características florais e vegetativas (BURTT; SMITH, 1972, LARSEN *et al.*, 1998).

Muitas espécies desta família têm se destacado por sua importância econômica, pois fornecem alimentos (féculas de rizomas), perfumes, condimentos de propriedades aromáticas, corantes, fibras e papel. Um exemplo disso é a *Zingiber Officinale* Rosc., conhecido popularmente como gengibre, sendo utilizado para fins medicinais e como condimento (ALBUQUERQUE; NEVES, 2004). No aspecto ornamental mencionam-se os gêneros *Zingiber*, *Alpinia*, *Nicolaia*, *Hedychium* e *Kaempferia* pela beleza da folhagem e a da inflorescência (WINTERS, 1995).

O gênero *Alpinia* é o maior da família, destacando-se a *Alpinia zerumbet* (Figura 4), que é pertencente à família *Zingiberaceae* e originária da Ásia. Ela possui várias sinonímias na literatura científica, incluindo *Alpinia speciosa* K. Shum, *Costus zerumbet* Pers., *Languas speciosa* Small e *Zerumbet speciosum* J. C. Wendel (LORENZI; SOUZA, 2001).

A *Alpinia zerumbet* é amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais ao redor do mundo, incluindo Índia, Malásia, Taiwan, Brasil e Japão, sendo que os vegetais desta espécie apresentam melhor crescimento em habitats sombreados ou semi-sombrados, ricos em húmus (DAHLGREN *et al.*, 1985). Além desses termos, também recebeu vulgarmente os nomes Colônia, Pacová, Paco-Seroca (ALMEIDA, 1993), Gengibre-Concha (Lorenzi; Souza, 1995), jardineira, cuité-açu, água da lavante, dentre outros, sendo bastante encontrada no Nordeste do Brasil (CORREA *et al.*, 2010).



Figura 4: Foto ilustrativa de uma *Alpinia zerumbet*.

Fonte: Próprio autor.

Outrossim, a *Alpinia zerumbet* é uma espécie bastante cultivada como ornamental, muito utilizada em jardins e paisagismo devido às suas belas flores e

folhagem exuberante (JOLY, 1993). É uma planta robusta que apresenta características como um caule suculento e mais frágil do que os caules lenhosos, além de não formar um tronco duro. Essa planta pode atingir de 2 a 3 metros de altura, é rizomatosa, com pseudocaule aéreo curto e folhas coriáceas, oblongas, pontuadas, invaginantes espessas e lanceoladas, com bainha aberta e língula desenvolvida. Suas folhas são verdes-lusíadas, curto-pecioladas e em disposição dística, de margens ciliadas de 50 a 70 cm de comprimento e de 10 a 12 cm de largura. Suas inflorescências (Figura 5) são em espigas, com brácteas brancas ou rosadas, que envolvem as flores tubulares, perfumadas e de cor amarelo-pálido (ALBUQUERQUE; NEVES, 2004; ARAÚJO, 2011).

Esta planta é usada em todo o mundo para tratar reumatismo e distúrbios gastrointestinais (INDRAYAN *et al.*, 2010). Destacando-se que cientistas e pesquisadores vêm buscando encontrar mais propriedades para esta espécie (Almeida, 1993).

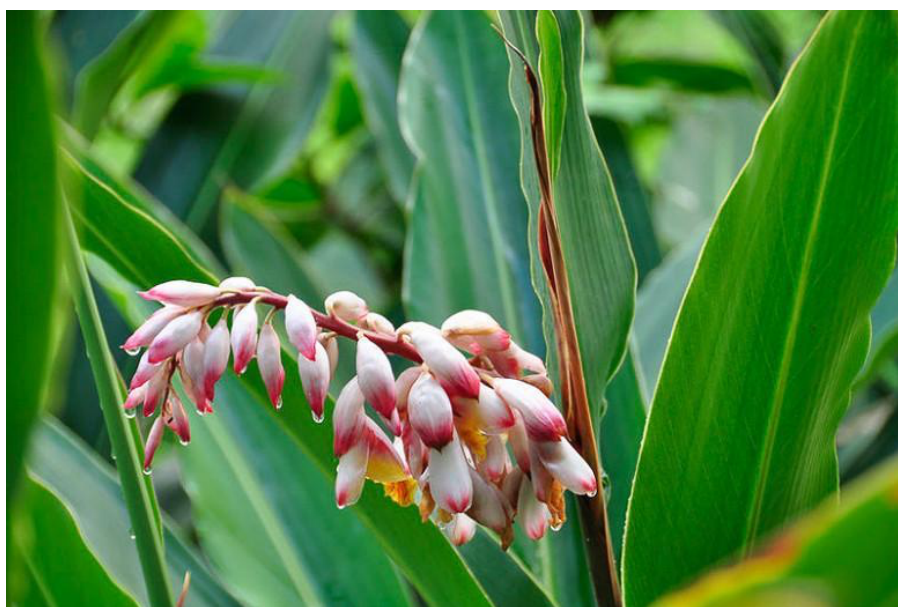


Figura 5: Foto ilustrativa inflorescências da *Alpinia zerumbet*

Fonte: GARDENIA, s.d.

3.4.1 Propriedades biológicas da *Alpinia zerumbet*

Por ser muito utilizada na medicina popular, especialmente pelas propriedades medicinais atribuídas às suas folhas, flores e rizomas, os efeitos hipotensores e levemente diuréticos obtidos através do chá das folhas são exemplos dessas propriedades farmacológicas comprovadas para a espécie (SANTOS *et al.*, 2012; LIMA *et al.*, 2009; BEZERRA *et al.*, 2000).

Dentre as diversas propriedades da *Alpinia zerumbet*, os principais metabólitos secundários presentes nestas espécies são: alcaloides, flavanoides, catequina, espicatequina, esteroides, triterpenoides, derivados hidroxiantracênicos e saponinas (RODRIGUES, 2016). Há estudos que ressaltam que a partir das folhas, rizoma, raízes e as flores de *Alpinia zerumbet* podem ser obtidos as substâncias químicas como dihidro-5,6-desidrokawain (DDK) e compostos fenólicos com elevada atividade antioxidante (ELZAAWELY *et al.*, 2007).

Muitas são as propriedades farmacológicas da *Alpinia zerumbet*, isto conforme enfatiza os dados de Souza (2018), obtidos a partir de uma análise científica de diversos pesquisadores. Sob essa ótica, pode-se afirmar que o extrato das flores tem uma atividade farmacológica comprovada para a asma, enquanto o óleo essencial tem atividade expectorante (MATOS, 1984).

O extrato obtido da folha apresenta ação vasodilatadora (KEEF, 1986). E folhas e/ou do rizoma apresenta atividade antioxidante (DI STOSI, 2002), enquanto o extrato da folha e/ou caule, a atividade farmacológica passa a ser anti-inflamatória (SANTANA, 1966).

A atividade antimicrobiana, anti-inflamatórias, bacteriostáticas e fungistáticas, também já foi comprovada para os óleos essenciais da espécie, que variam segundo sua composição. Outras propriedades medicinais, tais como anti-histéricas, estomáticas e vermífugas relacionadas às folhas, flores e rizoma também foram descritas na literatura científica (GHOSH *et al.*, 2014). Por outro lado, o óleo essencial das folhas tem atividade farmacológica vermífuga e hipotensora (VANDERLINDE, 1986; MENDONÇA *et al.*, 1991).

Esses estudos, assim como demais evidenciam possibilidades terapêuticas possíveis para futuros bioprodutos. Estudos *in vitro* e em animais sugerem que os compostos presentes na *Alpinia zerumbet* possuem atividade antioxidante, capaz de proteger as células contra o estresse oxidativo e o dano celular; propriedades anti-inflamatórias em pesquisas com animais e em culturas de células, sugerindo que esses compostos podem ser úteis no tratamento de doenças inflamatórias. Assim como propriedades antitumorais capazes de inibir o crescimento de células cancerígenas; propriedades hipoglicemiantes em que pode ser útil no controle da glicemia, com potencial para ser utilizada no tratamento do diabetes; e propriedades antibacterianas e antifúngicas, que demonstram através dos compostos isolados da planta, atividades contra bactérias e fungos patogênicos (GHOSH *et al.*, 2014; VANDERLINDE, 1986; MENDONÇA *et al.*, 1991; LENCINA; VILAVERDE; MEIRELES, 2020).

Observa-se que o potencial máximo dessa planta reside no aproveitamento das propriedades de seu óleo essencial aromático (VICTÓRIO, 2011). Esse é comumente

comercializado para uso nas indústrias de alimentos e cosméticos, devido à sua fragrância agradável e forte atividade antioxidante, sendo geralmente extraído das folhas por hidrodestilação e analisado por cromatografia gasosa e espectroscopia infravermelha (ELZAAWELY *et al.*, 2007; HOKAMA, 1965).

Além disso, estudos mais específicos sobre o óleo essencial da *A. zerumbet* revelaram novas funções, incluindo efeitos quimioprotetores contra danos de DNA induzidos por H₂O₂ em leucócitos humanos cultivados, inibição de produtos avançados de glicação (CAVALCANTI *et al.*, 2012) e espasticidade muscular pós-acidente vascular cerebral (MAIA *et al.*, 2016; CÂNDIDO *et al.*, 2017a; CÂNDIDO *et al.*, 2017b).

Outro ponto observado foi que os compostos fitoquímicos deste óleo apresentam efeitos antibióticos sinérgicos significativos quando combinados com aminoglicosídeos (MENDES *et al.*, 2015; UPADHYAY *et al.*, 2013). Estudos relatam que o óleo exibe propriedades farmacológicas, como um efeito anti-melanogênico contra o melanoma B₁₆F₁₀ *in vitro* (TU e TAWATA, 2015) e proteção contra lesão e inflamação das células endoteliais da aorta *in vitro* e *in vivo* (JI *et al.*, 2019), principalmente os terpenos (RODRIGUES, 2016).

3.5 TERPENOS

Os terpenos são uma classe diversificada de compostos orgânicos naturais que desempenham um papel fundamental na química da vida. Eles são formados pela combinação de unidades de isopreno (C₅H₈), que são blocos de construção básicos compostos por cinco átomos de carbono e oito átomos de hidrogênio. A variedade estrutural dos terpenos é vasta, resultando em uma ampla gama de aromas, sabores e propriedades biológicas (MCMURRY, 2011). Eles são responsáveis pelos aromas e fragrâncias de muitas plantas, flores e frutas. Por exemplo, o limoneno é um terpeno encontrado em cascas de frutas cítricas e é responsável pelo aroma característico de limão e laranja. Outros terpenos, como o pineno, dão o aroma de pinheiro, enquanto o mentol fornece o sabor refrescante da menta (ÁLVARO, 2022).

Os terpenos são quimicamente definidos como "alcenos naturais", uma vez que contêm uma dupla ligação carbono-carbono e são considerados hidrocarbonetos insaturados. Por outro lado, quando um terpeno incorpora átomos de oxigênio em sua estrutura, ele é classificado como terpenoide, podendo exibir uma variedade de grupos funcionais, como ácidos, álcoois, aldeídos, cetonas, éteres, fenóis ou epóxidos terpênicos (MCMURRY, 2011; FELIPE; BICAS, 2017).

Embora existam diferenças estruturais entre os terpenos e terpenóides, todos eles compartilham uma característica fundamental: eles são compostos baseados em blocos

de cinco átomos de carbono, conhecidos como unidades de isopreno (C_5H_8). Essas unidades geralmente estão ligadas em uma ordem "cabeça-a-cauda" (ligação 1-4), seguindo o que é chamado de "regra do isopreno" (LOMMIS; CROTEAU, 2014). Existem também terpenos irregulares que têm ligações diferentes, como o β -caroteno, que apresenta uma ligação "cauda-a-cauda" (ligação 4-4). Além disso, terpenos cíclicos, como o limoneno, também podem apresentar outras ligações em unidades de cinco carbonos (FELIPE; BICAS, 2017).

A origem bioquímica dos terpenos é baseada na formação de todos os seus átomos de carbono a partir do isopentenil pirofosfato (IPP) ou do seu isômero dimetilalil pirofosfato (DMAPP). Essas moléculas precursoras, por meio de duas rotas metabólicas distintas - a via do mevalonato e a via do 1-desoxilulose 5-fosfato (DXP) - são responsáveis pela produção dos diferentes tipos de terpenos (KITAOKA *et al.*, 2015). Essa estrutura básica de cinco carbonos e a diversidade de grupos funcionais nos terpenos e terpenóides os tornam componentes químicos essenciais com uma ampla gama de aplicações na natureza, incluindo na síntese de compostos orgânicos complexos e na produção de aromas e fragrâncias em plantas (LOMMIS; CROTEAU, 2014).

Os terpenos podem ser categorizados com base na quantidade de resíduos de isopreno presentes em sua estrutura. Além dessa classificação, eles também podem ser subdivididos de acordo com o grau de ciclização da molécula, o que significa que podem ser classificados como acíclicos (moléculas não cíclicas), monocíclicos (moléculas com um único anel) ou bicíclicos (moléculas com dois anéis) (DEWICK, 2002; FELIPE; BICAS, 2017).

Alguns terpenos têm efeitos sobre o canal de cálcio tipo L, como por exemplo, a ação do isopulegol (monoterpeno alcoólico que apresenta atividades antioxidante, ansiolítica e anticonvulsivante) sobre esses canais de maneira a apresentar efeito cardioprotetor em modelo de hipertrofia cardíaca induzida por isoproterenol (FILHO, 2019).

Uma pesquisa realizada por Andrade *et al.* (2017) buscou observar as atividades cardiovasculares de constituintes químicos de óleos essenciais, a partir disso foi obtido como resultado que diversas moléculas terpênicas, tais como timoquinona, cinamaldeído, ácido cinâmico, α -bisabolol, carvacrol, borneol, carvona, citral, citronelal, linalol, mentol, α -terpineol e 1,8-cineol, têm a capacidade de reduzir a pressão arterial por alguns mecanismos, sendo um deles o bloqueio de canais Ca^{2+} L. E segundo Santos *et al.* (2011) os principais compostos majoritários, terpineno-4-ol e 1,8 cineol, provavelmente são os monoterpenos responsáveis pelo bloqueio desses canais Ca^{2+} L.

3.5.1 Monoterpenos

Os monoterpenos são comuns em muitas espécies de plantas e são utilizados em preparações cosméticas e farmacêuticas, assim como na indústria alimentar, é importante avaliar o potencial farmacológico de monoterpenos com a atividade anti-inflamatória (DE CÁSSIA DA SILVEIRA E SÁ, ANDRADE, DE SOUSA, 2013).

O 1,8-cineol é apto a inibir a ação da interleucina IL-1 β , capaz de ativar o metabolismo do ácido araquidônico que é precursor do fator de necrose tumoral TNF- α , IL-1 β , tromboxano B2 e leucotrieno LTB4, importantes citocinas pró-inflamatórias. Esta atividade inibitória acarreta a consequente classificação do eucaliptol como antiasmático, impedindo a hipersecreção mucosa (atividade mucolítica) ocasionada pela liberação de citocinas e a congestão dos vasos nos alvéolos pulmonares, ocasionada pelo aumento de leucócitos durante a inflamação aguda (JUERGENS *et al.*, 2003; ANDRADE *et al.*, 2013).

O óleo essencial da *Alpinia zerumbet* apresenta como classes de compostos químicos, alcaloides, flavonoides e apontam como principais constituintes químicos os monoterpenos com elevada concentração de 1,8-cineol e terpeno-4-ol. Com comprovação na literatura das atividades biológicas denominadas a estes componentes (GOTTLIEB *et al.*, 1981; DE POOTER *et al.*, 1995; ZOGHBI *et al.*, 1999; VICTORIO *et al.*, 2009).

Os principais constituintes químicos da ação do óleo essencial de *A. zerumbet* foram: terpineno-4-ol, óxido de cariofileno, trans-hidrato de sabineno e 1,8-cineol, sendo atribuídas diversas atividades biológicas e farmacológicas a estes componentes majoritários (DE POOTER *et al.*, 1995; LAHLOU *et al.*, 2003; RODRIGUES, 2016).

O terpineno-4-ol é um isômero de terpineol com fórmula química C₁₀H₁₈O, que apresenta atividade hipotensora e ação redutora da inflamação aguda, também é eficaz na inibição *in vitro* de células de melanoma humana (LAHLOU *et al.*, 2003; CALCABRINI *et al.*, 2004).

O constituinte químico 1,8-cineol ou eucaliptol, apresenta ação interna, como ação secretora em vias respiratórias, possui inibição do mecanismo da ciclooxygenase e tratamento da asma brônquica (DEWHIRST, 1980; FERREIRA, 2014).

É importante destacar que as propriedades medicinais da *A. zerumbet* são relacionadas aos constituintes químicos presentes na planta, no entanto, de acordo com a região anatômica usada como matéria prima na extração do óleo essencial, esses compostos podem ser encontrados em maior ou menor quantidade, podendo estar associados às características distintas (LAHLOU, 2003).

Na Figura 6, estão presentes alguns compostos químicos do óleo essencial da *Alpinia zerumbet*, que são Gama-terpineno ($C_{10}H_{16}$), Terpineno-4-ol ($C_{10}H_{18}O$), p-cymeno ($C_{10}H_{14}$), 1,8-cineol ($C_{10}H_{18}O$) e β -cariofileno ($C_{15}H_{24}$).

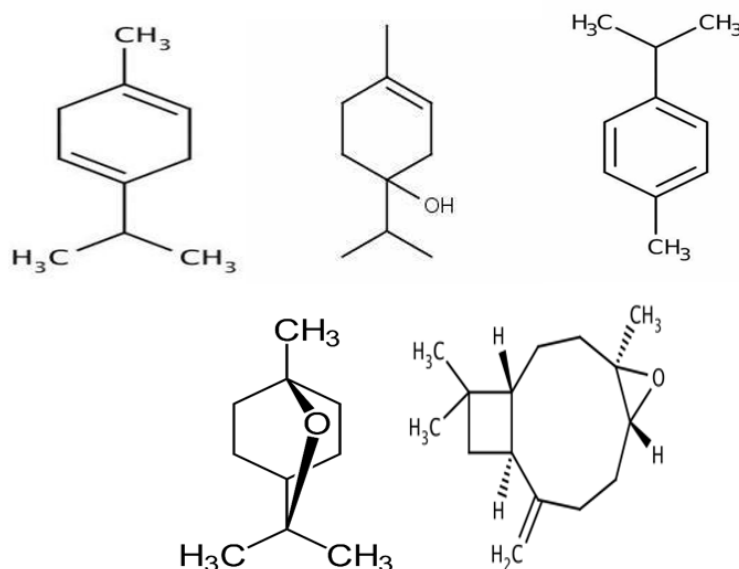


Figura 6: Compostos químicos presentes na *Alpinia zerumbet*.

Fonte: Google, 2023.

Ademais, o monoterpene terpineno-4-ol é um dos principais constituintes do óleo essencial de *A. zerumbet*, independentemente da localização da planta e variações sazonais (CAVALCANTI *et al.*, 2012; MACEDO *et al.*, 2013; MURAKAMI *et al.*, 2009; PADALIA *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 2011). O terpineno-4-ol apresenta efeitos hipotensivos e relaxantes musculares lisos (LAHLOU *et al.*, 2002, LAHLOU *et al.*, 2003), e tem sido sugerido como sendo pelo menos parcialmente responsável pelos efeitos do OEAz no sistema cardiovascular.

Em suma, o monoterpene terpineno-4-ol é um componente chave do óleo essencial de *A. zerumbet*, que tem demonstrado efeitos benéficos no sistema cardiovascular. Suas propriedades hipotensivas e relaxantes musculares lisas sugerem que ele pode contribuir para os efeitos cardiovasculares do extrato de *A. zerumbet*. Portanto, estudos adicionais podem ser necessários para entender melhor como o terpineno-4-ol e outros constituintes do óleo essencial de *A. zerumbet* afetam o sistema cardiovascular e podem ter aplicações potenciais na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares (Cavalcanti *et al.*, 2012).

3.5.2 Sesquiterpenos

Os sesquiterpenos são uma classe importante de terpenos, caracterizada por conterem três unidades de isopreno, possuindo 15 átomos de carbono, o que se traduz em uma fórmula geral de $C_{15}H_{24}$. Esses compostos são amplamente distribuídos no reino vegetal e desempenham papéis diversos nas plantas, incluindo funções de defesa contra herbívoros, atração de polinizadores e regulação de processos fisiológicos (CARDOSO, 2018).

O sesquiterpeno beta-cariofileno, também conhecido como cariofileno, é um exemplo notável nessa categoria. É um composto encontrado em muitas plantas, especialmente em óleos essenciais de plantas aromáticas, como o cravo, a pimenta-preta, a canela e o manjerição. O cariofileno é responsável pelo aroma característico dessas plantas e é amplamente utilizado na indústria de alimentos e perfumaria devido ao seu aroma picante e terroso (RIBEIRO, 2015).

Como características físico-químicas, a baixa solubilidade em água é a mais citada, o que sugere sua elevada afinidade pela membrana celular e capacidade de transposição da barreira hematoencefálica (FIDYT *et al.*, 2016). A toxicidade do beta-cariofileno vem sendo estudada *in vivo* e *in vitro*. Esta substância, atualmente, é considerada não mutagênica, não genotóxica e a dose letal oral aguda (DL50) em ratos é relatada como acima 5000 mg/kg de peso corporal (SCHMITT; LEVY; CARROLL, 2016). O beta-cariofileno é uma substância aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA) e pela Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) (VARGA *et al.*, 2018; YAMAGUCHI; LEVI, 2017).

O beta-cariofileno é considerado um agonista seletivo dos receptores canabinoides do tipo CB2 (K_i de 155 nmol/l para receptores CB2 humanos, sem afinidade significativa para ligação ao receptor CB1) (GERTSCH, 2008). Dentre as atividades farmacológicas descritas na literatura, destacam-se a atividade antiproliferativa, anestésica, antiviral, antifúngica, antibacteriana, anti-inflamatória, antioxidante e os efeitos neuroprotetores em modelos de isquemia cerebral, convulsão, hipóxia em células da glia, doença de Alzheimer e depressão (LOIZZO *et al.*, 2008; GHELARDINI *et al.*, 1999; DUKINC; BENZIC; VUKO, 2011; HO *et al.*, 2011; SHAFAGHAT, 2011; KOBAYASHI *et al.*, 2011; CALLEJA *et al.*, 2013; CHOI *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2015; GUO *et al.*, 2014; CHENG *et al.*, 2014; OLIVEIRA, 2018). Ademais, algumas evidências sugerem o potencial terapêutico do beta-cariofileno no tratamento da dependência de drogas (AI MANSOURI *et al.*, 2014; HE *et al.*, 2020, 2021; GALAJ *et al.*, 2021).

Outro sesquiterpeno notável é o óxido de cariofileno, que é uma variante oxigenada do cariofileno. Este composto é encontrado em óleos essenciais de várias

plantas, como o óleo de cravo e no OEAz. O óxido de cariofileno também exibe propriedades anti-inflamatórias e analgésicas, tornando-se um componente valioso na medicina tradicional e na pesquisa farmacêutica (BEZERRA, 2021).

Ambos os sesquiterpenos, o cariofileno e o óxido de cariofileno, destacam-se não apenas por suas propriedades sensoriais, como os aromas que conferem às plantas, mas também por seus potenciais benefícios à saúde humana. Suas atividades anti-inflamatórias e analgésicas são áreas de interesse crescente na pesquisa médica, com possíveis aplicações terapêuticas em tratamentos naturais e alternativos. Além disso, a diversidade de sesquiterpenos encontrados na natureza continua a ser explorada, revelando novos compostos e suas funções biológicas em uma variedade de contextos e aplicações (CARDOSO, 2018). E a produção dos sesquiterpenos, de acordo com unidades de isopreno e fenilpropanóides podem atravessar membranas celulares influenciando uma variedade de alvos moleculares, desde canais iônicos (ação inotrópica) até enzimas intracelulares (SHARIFI-RAD *et al.*, 2017). Uma das possibilidades inotrópicas dos sesquiterpenos é a ação específica do óxido de cariofileno de forma negativa por bloqueio dos canais de cálcio (CCa^{2+}) em mais de 50% associado ao bloqueio dos canais de potássio (SENSCH *et al.*, 2000).

3.6 CANAIS DE CÁLCIO TIPO L (CAVEOLINA 1.3)

Os CCa^{2+} são canais que controlam o Ca^{2+} como segundo mensageiro, influenciando neurotransmissores envolvidos em várias funções fisiológicas. No próprio neurônio, os CCa^{2+} são responsáveis por ativar transporte na membrana celular, sensíveis a permeação do Ca^{2+} , em resposta aos neurotransmissores, a exemplo do N-metil-D-aspartato, segundo mensageiro agonista do glutamato. Outra condição de neurotransmissão são resposta em células sensoriais em resposta aos estímulos de estiramento de fuso muscular (PCHITSKAYA; POUPUGAEVA; BEZPROZVANY, 2018). O envolvimento dos CCa^{2+} é regulado por excitação do próprio Ca^{2+} que regulariza sua ação, se autoexcitando, como se excita indiretamente pelos CCa^{2+} . Assim, os CCa^{2+} participam de ações envolvendo informações sobre duração, frequência, tempo e amplitude de sinalização celular dependente de Ca^{2+} (COOPER; DIMRI, 2023).

Desta forma a concentração de Ca^{2+} , influenciadores de fluxos de membrana atuam diretamente com a expressão da função celular. Os fluxos por membrana envolvem esses canais de cálcio e são divididos em dois tipos, dependentes de ligantes e os dependentes de voltagem (CATTERRAL, 2011; DOLPHIN, 2018).

Os canais de cálcio dependentes de voltagem (VGCCs) são ativados por mudanças nos potenciais elétricos da membrana e induzem à entrada de cálcio nas

células. Por sua vez, o influxo de cálcio, através desses canais, promove uma ampla gama de funções celulares, como contração muscular, liberação de hormônios e neurotransmissores, como citado anteriormente (CATTERALL; FEW, 2008), além da cascata de sinalização celular que leva à expressão gênica (FLAVELL; GREENBERG, 2008).

Os VGCCs são classificados de acordo com suas propriedades fisiológicas e farmacológicas e compreendem várias subunidades. A subunidade principal é uma subunidade Caveolar (Cav) composta de cerca de 2.000 aminoácidos que formam o poro do canal responsável pelo influxo de Ca^{2+} (CATTERALL, 2011), com outras subunidades acessórias (β , α , 2δ e γ) modulando as propriedades da Subunidade Cav, em atividade envolvendo cinética e direcionamento subcelular (DOLPHIN, 2018).

Existem duas famílias principais de VGCCs, uma família ativada por baixa voltagem (LVA) e uma família ativada por alta voltagem (HVA). As LVA são comumente chamadas de canais do tipo T e compreendem a subunidade Cav3. Já as HVA, são em quatro subgrupos, de acordo com sua sensibilidade farmacológica. A Cav1 ou canais de cálcio do tipo L (Ca^{2+}L), dependentes de voltagem de longa duração, são encontrados em tecidos excitáveis e não excitáveis, e desempenham papéis importantes em várias funções fisiológicas. Esses canais são especialmente cruciais na contração do músculo liso vascular e no músculo cardíaco normal. Dessa forma, os Ca^{2+}L são bloqueados pela diidropiridina (DHPs, como a nifedipina), pelas fenilalquilaminas (Phe, como o verapamil) e pelos benzotiazepínicos (BZT, como o diltiazem) (CATTERALL, 2011).

Os bloqueadores de Ca^{2+}L dessas três famílias têm modos de ação semelhantes, ou seja, bloqueiam os canais Cav1 em estados abertos ou inativados pela ligação dos segmentos transmembranares IIS5-6 e IVS6 da subunidade da Cav1 (CATTERALL *et al.*, 2005). A família Cav1 consiste em quatro subtipos de canais (Canais Cav1.1 a 1.4) que são expressos em uma ampla gama de células em mamíferos. No entanto, no SNC, apenas as subunidades Cav1.2 e Cav1.3 estão presentes (CATTERALL, 2011).

Suas diferenças são devidas à cinética de *gating* específica, sensibilidade à voltagem, farmacologia e a distribuição espacial. O canal Cav1.3 é ativado em uma voltagem mais baixa do que o canal Cav1.2 (KOSCHAK *et al.*, 2001; XU; LIPSCOMBE, 2001; HELTON *et al.*, 2005; BOCK *et al.*, 2011) e é menos sensível ao bloqueio pelos DHPs (XU; LIPSCOMBE, 2001; SINNEGGER-BRAUNS *et al.*, 2009). No SNC, os canais Cav1.2 e Cav1.3 são canais predominantemente pós-sinápticos e são expressos no corpo e dendritos de células neuronais (DI BIASE *et al.*, 2008; JENKINS *et al.*, 2010).

Na medula espinhal, os canais Cav1.2 e Cav1.3 diferem em sua distribuição neuronal, com os canais Cav1.3 sendo expressos na árvore dendrítica, nos neurônios do corno ventral e em todo o compartimento somatodendrítico até os dendritos distais no

corno dorsal (DH), enquanto os canais Cav1.2 são principalmente restritos ao corpo celular e dendritos proximais (SIMON *et al.*, 2003; DOBREMEZ *et al.*, 2005; RADWANI *et al.*, 2016).

A subunidade Cav1.3 é ativada por voltagem mais baixa e tem a capacidade de transportar correntes internas em potenciais de membrana elétricos semelhantes, contribuindo para a regulação do disparo neuronal. Além disso, a subunidade Cav1.3 tem sido implicada em uma variedade de processos fisiológicos, incluindo a regulação do ritmo cardíaco, neurotransmissão e secreção de insulina (STRIESSNIG *et al.*, 2006). Por outro lado, a despolarização induzida pelo Ca^{++} através de ambos os tipos de canais de Ca^{2+} L influencia a excitabilidade neuronal, ativando canais dependentes de cálcio e canais de potássio dependentes, tais como os canais KCa. Esses canais são importantes na regulação do potencial de repouso, pois sua abertura permite a saída de potássio da célula, hiperpolarizando a membrana celular e diminuindo a probabilidade de disparo neuronal. Esses mecanismos são fundamentais para a regulação da atividade elétrica do neurônio e podem influenciar a transmissão sináptica e processos cognitivos (MALJEVIC; LERCHE, 2013).

Eles também contribuem para patologias como a doença de Parkinson e distúrbios do desenvolvimento, como síndromes de autismo (STRIESSNIG *et al.*, 2015). Existem fortes evidências de que os Ca^{2+} L realmente incluem o processamento da dor no corno dorsal da medula espinhal (SCHAIBLE *et al.*, 2000; FOSSAT *et al.*, 2007; FOSSAT *et al.*, 2010; FAVEREAUX *et al.*, 2011; RADWANI *et al.*, 2016). Os Cav 1.3 são expressos na medula espinhal, tanto no corno dorsal quanto no ventral (PERRIER *et al.*, 2002; SIMON *et al.*, 2003; DOBREMEZ *et al.*, 2005; FOSSAT *et al.*, 2010; RADWANI *et al.*, 2016). Eles carregam correntes de cálcio de inativação lenta, permitindo a expressão de propriedades regenerativas da membrana em neurônios do corno dorsal (DHNs), chamados potenciais de platô (RADWANI *et al.*, 2016).

Os potenciais de platô podem ser considerados como a despolarização ativa do potencial de membrana elétrica neuronal durante um pulso de estimulação constante, que é transportado pela corrente de cálcio do tipo L bloqueada pela nifedipina é aprimorada por Bay K8644. Uma vez atingido o limiar do potencial de ação, a despolarização ativa induz um aumento progressivo da frequência de descarga (MORISSET; NAGY, 1996; RUSSO; HOUNSGAARD, 1996; MORISSET; NAGY, 1999).

Subsequentemente, o influxo de cálcio através dos Ca^{2+} L ativa uma corrente catiônica não específica dependente de cálcio (CAN) que mantém o neurônio em um estado despolarizado e sustenta uma pós-descarga após o término da estimulação (MORISSET; NAGY, 1999).

O influxo de cálcio através dos Ca^{2+} L também ativa os canais KCa que restringem a amplitude dos potenciais de platô e desempenham um papel no término da pós-descarga (MORISSET; NAGY, 1999). Portanto, a expressão de potenciais de platô correlaciona-se com um claro aumento da resposta neuronal tanto no domínio da amplitude quanto no domínio do tempo, e os potenciais de platô podem ser vistos como um mecanismo intrínseco de amplificação de entrada/saída (MORISSET; NAGY, 1999).

A redução da expressão da caveolina-1 (subunidade Cav1.3) tem sido associada a doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer, além de reduzir a progressão da aterosclerose, pois estudos têm demonstrado que o transporte de colesterol das caveolas direcionadas aos compartimentos intracelulares é feito pela caveolina-1, mostrando que esta proteína modula a concentração de colesterol nas caveolas (BOSCH *et al.* 2011) incluindo regulação de atividades celulares, transporte de lipídios, expressão gênica e função mitocondrial (FRIDOLFSSON *et al.* 2014).

3.6.1 Óleo Essencial da *Alpinia zerumbet* nos Canais de Cálcio Tipo L

Adiante, é importante mencionar sobre o fitomedicamento a base de óleo de *Alpinia zerumbet* (OEAz®) que desde 2017 vem sendo fabricado em forma de *Spray* pela Hebron. Esse agente terapêutico, segundo a bula do fabricante, promete uma diminuição temporária da espasticidade decorrente de lesões no sistema nervoso central, facilitando dessa forma a atuação fisioterapêutica, isso posto, após 15 minutos de sua aplicação (LENCINA; VILAVERDE; MEIRELES, 2020).

A espasticidade é uma condição neuromuscular caracterizada por um aumento involuntário do tônus muscular, resultando em rigidez, resistência e espasmos musculares. Essa condição ocorre quando os músculos são constantemente estimulados pelo sistema nervoso central, o que pode levar a movimentos descoordenados, dificuldades de movimentação e de realização de atividades cotidianas. O OEAz® tem sido estudado como uma possível opção de tratamento para a espasticidade muscular, principalmente em pacientes com lesões medulares e esclerose múltipla, sendo que este medicamento, pode ajudar a reduzir a espasticidade muscular, melhorar a mobilidade e a qualidade de vida dos pacientes. (LENCINA; VILAVERDE; MEIRELES, 2020).

Um estudo utilizando o OEAz® no tratamento da espasticidade foi realizado pelo Laboratório de Estudos Biológicos e Produtos Naturais do Instituto de Pesquisa e Tecnologia (RTI) em Aracaju/SE, no ano de 2017. Esse estudo foi realizado a partir do tratamento com óleo essencial de *Alpinia zerumbet* extraído por rede de arrasto a vapor e diluído em óleo vegetal (33%). O tempo de tratamento, que variou de dois a sete meses,

teve o objetivo de verificar a resposta ao tratamento subagudo e crônico da espasticidade. Por fim, através deste estudo e dos dados resultantes dele, comprovou que o uso do OEAz®, justificou os resultados de inibição da espasticidade nos casos relatados neste estudo (CÂNDIDO *et al.*, 2017b).

É importante ressaltar que o OEAz®, por ser um medicamento e, frise-se, ainda em estudo, deve ser utilizado apenas sob orientação médica. É essencial que os pacientes com espasticidade muscular sejam avaliados por um médico especialista e recebam um tratamento adequado e individualizado, que pode incluir medicamentos, fisioterapia, terapia ocupacional e outras terapias complementares (CÂNDIDO *et al.*, 2017b).

3.7 DOCAGEM MOLECULAR

A metodologia de docagem ou, do inglês, *docking* molecular, é aplicada com o objetivo de se investigar e analisar a interação proteína-ligante, observando assim a capacidade com que as moléculas com atividade biológica conseguem se ligar com seus receptores. Esse processo é realizado de maneira computacional, identificando conformações e posições em que os ligantes da proteína alvo apresentam maior afinidade para realizar a ligação (COUTINHO; MORGON 2007).

A docagem molecular é uma técnica computacional utilizada para prever a conformação mais provável de ligação entre moléculas. Esse processo envolve uma busca exaustiva por diferentes conformações de ligação, seguida de uma avaliação da energia de interação entre essas conformações. O objetivo é encontrar a conformação de menor energia, indicando a configuração mais estável e provável para a ligação (COUTINHO; MORGON 2007; MENG *et al.*, 2011).

Para identificar a conformação mais provável de ligação, o processo de docagem molecular passa por um ciclo de busca e avaliação de conformações. Primeiramente, uma ampla variedade de conformações de ligação é gerada e avaliada em termos de energia de interação. Em seguida, as conformações com menor energia são selecionadas para uma nova rodada de avaliação, até que uma solução de energia mínima seja alcançada (FERREIRA *et al.*, 2015).

Essa metodologia se classifica como *in silico*, pois tem como processo presumir a maneira como ocorrerá a ligação e afinidade entre receptores e ligantes. Esses modelos são populares por apresentar como vantagens a agilidade, conveniência e menor custo já que dispensa *testes in vivo*, reduzindo assim o uso de insumos e evitar problemas experimentais em análises de maior complexidade, além de permitir a triagem virtual,

também conhecida como *virtual screening*, de milhões de compostos de forma rápida e prática (NEIS, 2019).

A aplicação de abordagens bioinformáticas se tornaram cada vez mais comuns por conta dos avanços nessa área e o aumento da capacidade computacional permitindo diversos testes *in silico* comparáveis a extensas bibliotecas (ÁLVAREZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2021).

Um exemplo de aplicação de docagem molecular associada a óleos essenciais está apresentada na pesquisa de Mohapatra, Pattnaik e Panda (2021), que teve por objetivo detectar e caracterizar genes de virulência no *Staphylococcus aureus in vitro* e estudar a interação molecular com componentes de óleo essencial de ervas *in silico*. A partir da tradução da sequência da proteína citolisina HlyII (receptor) foi realizada a docagem com os componentes do óleo essencial estudados (citral a citronelol, eucaliptol, eugenol, geraniol, linalol, mentol, piperina e timol) como ligantes; obtendo-se como resultado que o geraniol foi o fitoconstituente mais potente para interagir.

No contexto da docagem molecular aplicada aos canais de cálcio tipo L e óleos essenciais, há estudos emergentes que também exploram essa interação, utilizando de técnicas de modelagem molecular para investigar como os compostos encontrados em óleos essenciais podem interagir com os canais de cálcio tipo L em nível molecular. Isso inclui a identificação de quais componentes dos óleos essenciais têm maior afinidade com esses canais e como essa interação pode afetar a função dos Ca^{2+} L.

Um exemplo desses estudos inclui a pesquisa de Figueiredo *et al.* (2020), que utilizou a docagem molecular para investigar a interação entre os componentes de óleos essenciais e os Ca^{2+} L. Através da análise *in silico*, foi possível identificar quais fitoconstituintes dos óleos essenciais apresentam maior afinidade com os Ca^{2+} L, obtendo informações importantes sobre como esses compostos podem afetar a função desses canais e, assim, influenciar processos fisiológicos e patológicos relacionados ao cálcio intracelular. Nesse contexto, foi observado que determinados componentes, como o geraniol, demonstraram ser potentes na interação com esses canais, destacando seu potencial na modulação das atividades celulares mediadas pelo cálcio (FIGUEIREDO *et al.*, 2020).

Um estudo realizado no Brasil por Costa *et al.* (2022) buscou estudar a atividade inibitória de trinta e um sesquiterpenos identificados em óleos essenciais brasileiros (*Copaifera langsdorffii* Desf., *Croton cajucara* Benth. e *Siparuna guianensis* Aublet.), e esses foram analisados por docagem molecular *in silico*. Os compostos foram caracterizados por cromatografia gasosa e espectrometria de massa e aplicados contra proteínas de coronavírus-2 (SARS-CoV-2) e enzima conversora de angiotensina humana

2 (hACE2). A partir da aplicação da docagem e do software AutoDock Vina verificaram-se um total de 496 interações individuais, observando-se potencial antiviral nesses óleos.

Os estudos que utilizam técnicas de docagem molecular *in silico* são importantes na busca por novos compostos com atividades biológicas, como antivirais, antibacterianos, antifúngicos, bem como, com atuação nos Ca^{2+} L. Essa abordagem permite a avaliação computacional da interação de compostos com alvos biológicos, como proteínas, e assim, permite a identificação de possíveis candidatos a fármacos (SILVA, 2022).

Além disso, os estudos que utilizam compostos naturais, como os óleos essenciais, têm grande relevância, pois esses compostos são amplamente disponíveis e podem ter menor toxicidade do que os compostos sintéticos. Nesse sentido, a investigação de sesquiterpenos presentes em óleos essenciais e que utilizam técnicas de docagem molecular para avaliar a atividade dos compostos presentes no OEAz, e sua atuação nos Ca^{2+} L, se faz necessária.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL DA PESQUISA

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Morfologia e Patologia Experimental (LMPE), no Laboratório de Estudos Biológicos e Produtos Naturais (LBPN) e no Núcleo de Estudos em Sistemas Coloidais (NUESC) do Instituto de Tecnologia e Pesquisa. Além disso, foi utilizada a estufa do ITP da Universidade Tiradentes (UNIT).

4.2 DESENHO DA PESQUISA

Estudo experimental com abordagem analítica.

4.3 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

As folhas de *Alpinia zerumbet* (Figura 7) foram coletadas em fevereiro de 2022 sempre às 7h da manhã da estufa da Farmácia Viva do Curso de Farmácia da Universidade Tiradentes (Lat.-10.968597736952423, Long.-37.05746040551607), Aracaju/SE, Brasil.



Figura 7: Folhas da *Alpinia zerumbet*.

Fonte: Próprio autor.

4.4 DESENHO EXPERIMENTAL

Foram ajustadas as condições de temperatura, tempo, tamanho de partículas e secagem de folhas para a extração do óleo essencial da *Alpinia zerumbet*, seguida de caracterização química através da análise cromatográfica (CG-MS) e identificação dos terpenos com possível ação nos Ca^{2+} L (Cav1.3) envolvidos em doenças do sistema nervoso central, bem como, análise do rendimento destes compostos, após otimização da hidrodestilação. O estudo de possíveis ações biológicas dos compostos foi realizado por método *in silico*, identificando os terpenos e suas respectivas vias de administração para possíveis bioprodutos.

4.5 PROCESSAMENTO

As amostras de folhas coletadas foram higienizadas com água destilada, secas com uso de papel toalha e distribuídas em cinco grupos de acordo com o processamento.

No grupo 1 (Folhas Frescas 2 cm), as folhas frescas foram cortadas mecanicamente (tesoura), havendo cautela na padronização dos cortes, em pedaços de aproximadamente 2 cm de largura e 2 cm de comprimento.

Nos grupos 2 (Folhas Secas 2 cm), 3 (Folhas Secas 8-16 MESH) e 4 (Folhas Secas 16-60 MESH) as folhas foram submetidas à desidratação em estufa de secagem com circulação e renovação de ar (marca Tecnal, modelo TE-394/3) por 3 dias a 43°C. A umidade das folhas após passar por estufa de secagem, foi mensurada em uma balança

de umidade com aquecimento por halogênio (Shimadzu modelo MOC63), no qual a umidade das folhas foi padronizada entre 8 e 15%.

Em seguida, foi realizado o processamento do tamanho de partícula em aproximadamente 2 cm de largura e 2cm de comprimento para o grupo 2.

Nos grupos 3 e 4 as folhas foram trituradas em moinho de facas (Skymssen, modelo TSP-02) em seguida foram submetidas a peneira de granulometria inox da marca Bertel de 8-16 MESH e 16-60 MESH, respectivamente (Figura 8).



Figura 8: Processamento da amostra.

Fonte: Próprio autor.

As folhas, já processadas, foram pesadas em balança digital (Star House Glass) em quantidade de 100 g de *Alpinia zerumbet* adicionada em 1 L de água destilada em balão de vidro transparente com capacidade para 2 L. Durante o processo de extração (Figura 9), o sistema foi aquecido por uma manta térmica (Fisatom, modelo 102E) durante 3 h, com temperatura controlada a 100°C por um termômetro químico de escala interna (Incoterm-Mylabor). O processo de hidrodestilação foi realizado em um aparelho do tipo

Clevenger. Em seguida, o óleo contido na mistura água/óleo foi retirado, identificado, datado e armazenado em frasco âmbar protegido por papel alumínio sob refrigeração a 4°C.



Figura 9: Processo de hidrodestilação.

Fonte: Próprio autor.

Para a realização das análises, o grupo 1 (Folhas Fresca de *Alpinia*) foi o controle para comparação de rendimento, já que foi considerado como o método convencional, sem alterações metodológicas de intensificação da extração.

O percentual de desidratação foi conseguido por subtração da massa final desidratada das folhas em relação a massa fresca das folhas, que equivale:

$$\text{Umidade das folhas (\%)} = \frac{\text{Massa folhas frescas} - \text{Massa folhas secas}}{\text{Massa folhas frescas}} \times 100$$

Já o teor de rendimento do óleo em comparação aos grupos controles foram calculados pelas fórmulas:

$$\frac{\text{Biomassa do óleo}}{(\text{mg}/100\text{g}) \text{ folhas}} = \frac{\text{Massa do óleo (folhas secas)}}{\text{Massa do óleo (folhas frescas)}}$$

$$\frac{\text{Biomassa do óleo FSMesh}}{(\text{mg}/\text{g}) \text{ folhas}} = \frac{\text{Massa do óleo mg}/100\text{g (folhas secasMesh)}}{\text{Massa do óleo mg}/100\text{g (folhas secas)}}$$

$$\frac{\text{Percentual de rendimento da biomassa do óleo FSMesh (\%)}}{=} = \frac{\text{Biomassa mg/g (Folhas secas)} \times 100}{\text{Biomassa mg/g (folhas frescas)}}$$

4.6 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA

4.6.1 Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG/EM)

Os *n*-alcanos lineares (*n*-C8 a *n*-C40 + pristano e fitano: 500µg mL⁻¹, em diclorometano) foram adquiridos em Sigma-Aldrich, EUA. O solvente diclorometano foi adquirido da Synth®. A amostra injetada foi de 10 mg de OEAz, diluído em 1mL de diclorometano, equivalente a 10000ppm (10.000mg/L).

4.6.2 Condições cromatográficas

Para as análises cromatográficas por GC-MS monodimensional, usou-se um cromatógrafo em fase gasosa acoplado à espectrometria de massa Shimadzu (modelo GCMS-QP2010plus, Japão) equipado com injetor automático AOC-20i (Shimadzu, Japão) e uma coluna capilar Zebron ZB-5 (30 m; 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura da fase estacionária), em uma programação de temperatura iniciando em 50°C (por 0,0 min); taxa de aquecimento de 2°C min⁻¹ até 145°C (por 47 min); e taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹ até 300°C (por 15,0 min), com um tempo total de corrida de 62 min. As temperaturas do injetor, interface e fonte de ionização foram 220°C, 300°C e 280°C, respectivamente. O fluxo do gás Hélio (99,999%) foi 0,8 mL/min⁻¹. A injeção de 1 µL (10000 ppm) foi realizada no modo split 15:1.

4.6.3 Análises de dados cromatográficos

O tratamento de dados foi realizado utilizando o software *GC-MS solution*, versão 2.6.1, com uma razão sinal/ruído maior ou igual a 3. Assim, para a identificação tentativa dos compostos, foi injetado padrão de hidrocarbonetos (C8 a C40) nas mesmas condições das amostras e, conforme a Equação desenvolvida por Van Den Dool e Kratz (1963), com o uso do sistema de índices de retenção com programação linear de temperatura (LTPRI, do inglês, *Linear Temperature Programmed Retention Indices*). Os índices obtidos experimentalmente foram comparados (pelo método tentativa) com os disponibilizados na biblioteca NIST WEB (*National Institute of Standards and Technology – NIST – MS*), para uma coluna ZB-5 ou similar, bem com o banco de dados Adams (2017). Os compostos que apresentaram uma diferença de até 10 unidades em relação ao índice de retenção teórico e cuja semelhança de espectro foi superior a 80% foram considerados identificados.

4.7 ESTUDO *in silico*

A ancoragem molecular (A.M.), também designada como atracamento ou docagem, é uma metodologia *in silico* que fornece o prognóstico dos modos de ligação de micromoléculas (ou macromoléculas) ao interagirem com um sítio receptor (BARREIRO; FRAGA, 2015). As conformações e orientações do ligante foram encontradas por algoritmos de busca, enquanto a classificação dessas soluções foi conduzida em termos de afinidade pelo sítio de ligação via funções de pontuação (ou funções de *score*) (AMUTHA; SANGEETHA, 2021; BARREIRO; FRAGA, 2015, SILAKARI; SINGH, 2021).

Os valores numéricos obtidos pelas funções de pontuação foram decorrentes da modelagem matemática das interações, que ocorrem durante a formação de complexos estáveis. (AMUTHA; SANGEETHA, 2021; PAGADALA *et al*, 2017; SCHNEIDER, 2002).

4.7.1 Análise da Docagem Molecular

Para o Docagem molecular, os compostos previamente selecionados e com suas estruturas tridimensionais obtidas pelo Pubchem serviram como ligantes para predição de interação com o canal de cálcio tipo L dependente de voltagem (Cav1.3) (7UHF) obtido no Protein Data Bank (PDB) e descritos por regularem uma ampla gama de processos fisiológicos, como contração muscular, transdução de sinal sináptico e secreção hormonal. Após a obtenção dos compostos e dos receptores, os mesmos foram preparados em relação às cargas, presença de hidrogênios polares e retirada de água. Os ligantes ainda foram expostos no software MarvinSketch para verificar o

estereoisômero mais prevalente no pH 7.8. A docagem molecular foi realizada utilizando o AutoDock Vina (TROTT; OLSON, 2010) e a análise e visualização das interações foram realizadas utilizando o Discovery Studio.

4.7.2 Análise Farmacocinética

A análise farmacocinética aconteceu em duas etapas, por meio de dois Softwares Online. O primeiro software foi o SwissADME (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017), que fez a predição da absorção gastrointestinal, da permeabilidade da barreira hematoencefálica, dos substratos e inibição da glicoproteína P, dos Inibidores do Citocromo P-450 CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 e CYP3A4 e da Permeação da pele. O segundo software foi o PreADMET Prediction of ADME/Tox, que fez tanto a etapa de análise farmacocinética, como a análise de toxicidade. Na fase de análise farmacocinética, visando complementar as informações coletadas pelo SwissADME, o PreADMET | Prediction of ADME/Tox fez a predição do CYP2D6 substrato e do CYP3A4 substrato, assim como foi predita a Permeabilidade Celular MDCK.

Para a análise ADMET foi necessário utilizar o *Canonical smiles*. Para a análise de toxicidade dos compostos, também foi predita através do Software PreADMET | Prediction of ADME/TOX na intenção de verificar a Toxicidade aguda de algas, teste de Ames, Carcinogenicidade (camundongo), Carcinogenicidade (rato), Toxicidade aguda Daphnia magna, inibição de hERG in vitro, Toxicidade aguda em peixes (medaka), Toxicidade aguda em peixes (minnow), Ames TA100 (+ S9), Ames TA100 (-S9), Ames TA1535 (+ S9) e Ames TA1535 (-S9). Com esse mesmo software foi possível verificar a opção Drug-likeness que analisa a regra dos cinco ou a Regra de Lipinski como também é conhecida, associados a regra de lead, regra de semelhança a CMC, regras do tipo MDDR, grupo funcional reativo e regra tipo WDI.

4.7.3 Análise no DrugBank

No intuito de verificar os inibidores já testados para inibição do receptor utilizado, o Cav1.3, o DrugBank foi utilizado e após foi feita uma correlação entre a similaridade dos compostos já descritos como inibidores e os compostos bioativos identificados na *Alpinia zerumbet*.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis quantitativas (quantitativo de teor do óleo e percentual dos compostos) foram expressas sob a forma de média $\pm$ erro padrão da média. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de distribuição de valores. Para o teste de normalidade, foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk. Dados com distribuição Gaussiana foram comparados entre si utilizando análise de variância (ANOVA) seguida do teste post-hoc de comparações múltiplas de Tukey. Diferenças entre as médias foram consideradas significativas para valores de p menores que 0,05 ($\alpha=5\%$).

5 RESULTADOS

5.1. EXTRAÇÃO, QUANTITATIVO E RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DA *Alpinia zerumbet*

A presente pesquisa realizou variações de procedimentos de secagem prévia ou não das folhas de *Alpinia zerumbet* para obtenção do óleo essencial. Na Figura 10, os resultados da extração mostram que a quantidade de óleo obtida no Clevenger, após hidrodestilação, foi de 124 mg no grupo FF; 445 mg no grupo FS; 444 mg no grupo FS8-16 e no grupo FS16-60, a quantidade foi de 736 mg. Esse quantitativo corresponde a média de rendimento de $0,124 \pm 0,018$ para grupo FF; $0,445 \pm 0,089$ para grupo FS; $0,444 \pm 0,177$ para grupo FS8-16; $0,736 \pm 0,254$ para o grupo FS16-60, evidenciado na Figura 10.

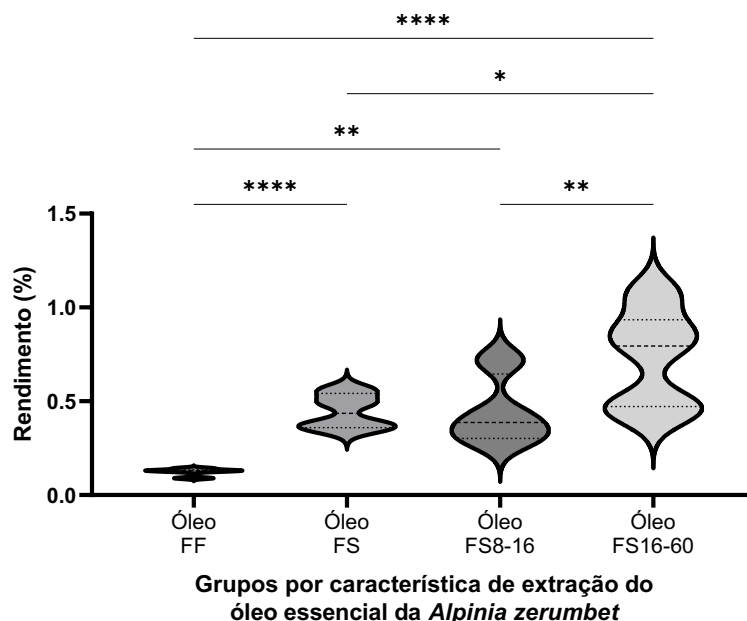


Figura 10: Rendimento de óleo essencial da *Alpinia zerumbet* das folhas frescas ou submetidas a secagem após extração por hidrodestilação, onde valores de * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ foram analisados pelo teste Mann-Withney.

Para obtenção da biomassa (Tabela 1) foi levando em consideração a umidade das folhas em todos os grupos. No grupo onde as folhas estavam frescas, as referidas apresentaram média de percentual de umidade de 65,25% ($\pm 1,0$) que resultou em 34,75 g de biomassa do OEAz em 100 g de folhas da *A. zerumbet*. Já nos grupos onde houve secagem prévia de folhas as 100 g dessas folhas continham 10,24% ($\pm 0,14$) de umidade, que gerou 89,76 g de biomassa de OEAz.

Já o quantitativo desse óleo essencial de acordo com o seu rendimento (0,124; Figura 10), ao ser convertido em miligrama de óleo em relação a biomassa de óleo em 100 gramas de folhas, foi obtido 3,4 mg de óleo/1 g de biomassa das FF. Enquanto no grupo FS a média e desvio-padrão de rendimento do óleo essencial foi de 0,44 ($\pm 0,09$) g e sua conversão em miligrama de óleo / grama de massa de folhas apresentou 4,9 mg óleo/1 g de FS.

Ao calcular a biomassa de óleo em miligramas (mg) para cada grama de folha nos grupos. Conforme mostrado na Tabela 1, foi observado que o grupo FS produziu 4,9 mg, respectivamente, em comparação com o grupo FF, verificou-se que o grupo FS produziu 3,58 vezes mais óleo. Após comparação de aumento de compostos de interesse contido no óleo essencial da *Alpinia zerumbet* (Tabela 8), após rendimento obtido por secagem de folhas, foi verificado que os grupos FS e FS8-16 renderam 4,9 mg, respectivamente. Já o grupo FS16-60 rendeu 8,1 mg, quando comparado com o rendimento do grupo FF.

Para verificar se o rendimento das folhas secas poderia ser intensificado, foram realizadas extrações de óleo essencial em duas granulometrias menores em relação a essas folhas secas (2 cm), grupo FS. Essas partículas foram de 8 a 16 Mesh (grupo FS8-16) e 16 a 60 Mesh (grupo FS16-60). Para melhor comparação os valores do grupo FS foram repetidas nestes resultados.

A massa do OEAz obtido após a extração no grupo FS foi de 445 mg; no grupo FS8-16 foi de 444 mg; e no grupo FS16-60 esse volume foi de 736 mg. Já a umidade para mg de massa contida no óleo extraído foi de 5,28% no grupo FF, 6,71% no grupo FS, 8,13% no grupo FS8-16 e 5,65% no grupo FS16-60.

Os rendimentos do óleo essencial do grupo FS8-16, em média e desvio-padrão, foram de 0,44 ($\pm 0,12$) mg e sua conversão em grama de óleo / grama de massa de folhas apresentou 4,9 mg óleo/1 g de FS. Já o grupo FS16-60 apresentou rendimento de 0,73 ($\pm 0,27$) mg e sua conversão em miligrama de óleo / grama de massa de folhas apresentou 8,19 mg óleo/1 g de FS (Figura 11).

Tabela 1: Rendimento e biomassa obtidos nas hidrodestilações de folhas frescas, desidratadas e com gramaturas diferentes.

Variáveis	Grupos por característica de extração		Grupos por tipo de granulometria com secagem prévia de folhas	
	FF	FS	F8-16	F16-60
Umidade das folhas	65,25%	10,24%	10,24%	10,24%
Biomassa do OEAz (mg) em 100 g folhas	34,75 g	89,76 g	89,76 g	89,76 g
Biomassa do OEAz (mg) em 1 g folhas	3,4	4,9	4,9	8,19
Percentual a mais do rendimento da biomassa de OEAz em comparação ao grupo FF	0%	44,11%	44,117%	140,88%

5.2 PERFIL CROMATOGRÁFICO DO ÓLEO ESSENCIAL DA *Alpinia zerumbet*

Na figura 12, é possível observar o mesmo perfil cromatográfico a partir dos dados dos picos da cromatografia do OEAz, onde há um padrão cromatográfico do tempo de retenção e intensidade de sinal para todos os métodos de extração.

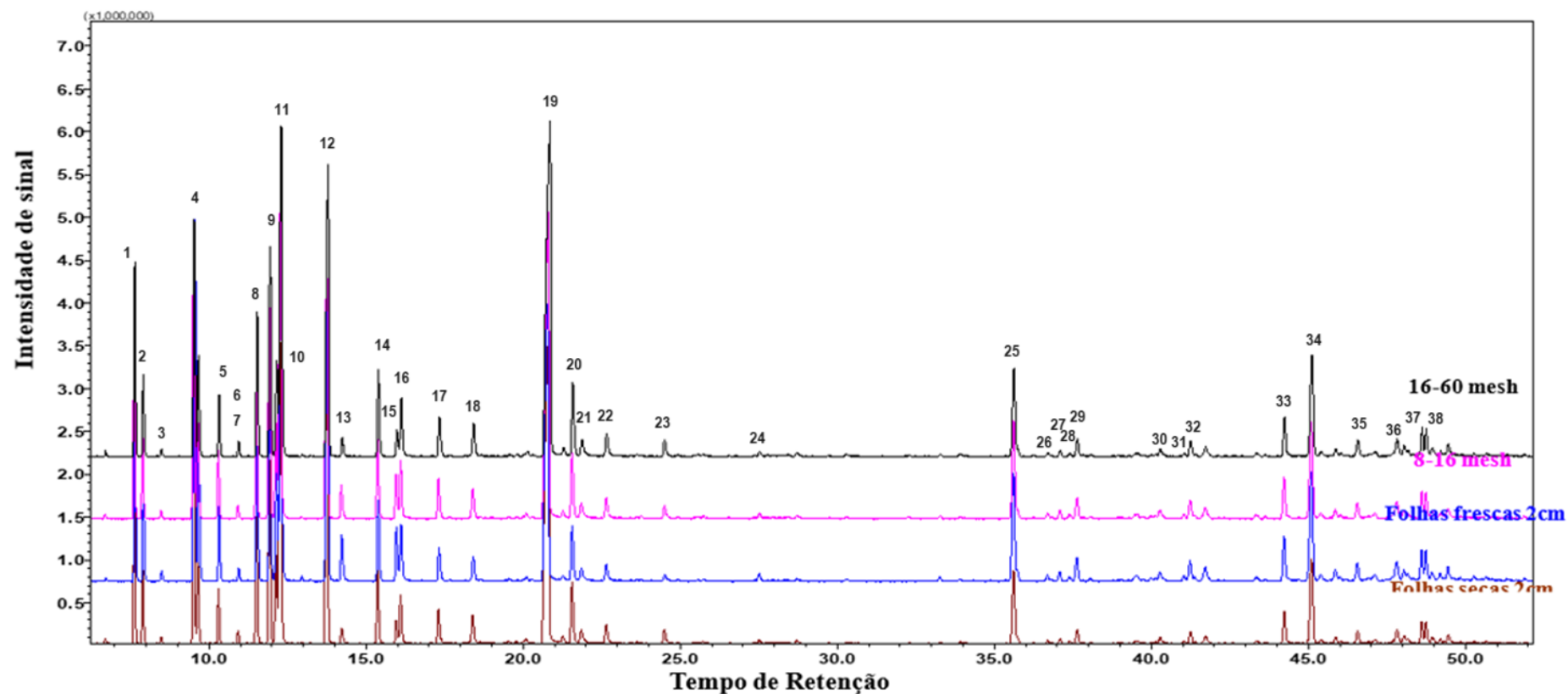


Figura 11: Cromatograma dos compostos identificados do óleo essencial da *Alpinia zerumbet* por Cromatografia Gasosa. Legenda: 1) cicleno; 2) 3-tujeno; 3) Canfeno; 4) 4(10)-tujeno; 5) β -pineno; 6) β -mirceno; 7) 4-careno; 8) α -terpineno; 9) p-cimeno; 10) Limoneno; 11) eucaliptol (ou 1,8-cineol); 12) γ -terpineno; 13) hidrato de cis-Sabineno; 14) terpinoleno; 15) hidrato de trans-Sabineno; 16) Linalol; 17) (Z)-2-menten-1-ol; 18) (E)-pinocarveol; 19) terpinen-4-ol; 20) p-cimeno; 21) cis-piperitol; 22) trans-Piperitol; 23) Ascaridol; 24) timol; 25) cariofileno; 26) α -bergamoteno; 27) α -Guaieno; 28) Isogermacreno D; 29) α -Humuleno; 30) (Z)- β -guaieno; 31) β -bisaboleno; 32) γ -cadineno; 33) (E)-nerolidol; 34) óxido de cariofileno; 35) carotol; 36) 12-oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-dieno, 1,5,5,8-tetrametil; 37) tetracyclo[6.3.2.0(2,5).0(1,8)]tridecan-9-ol, 4,4-dimetil; 38) dihidro-Eudesmol.

Em relação ao perfil cromatográfico de folhas frescas e secas (Tabela 2) em cada grupo de extração do óleo essencial da *Alpinia zerumbet* foi identificado 100% dos compostos de cada grupo.

Do total desses compostos, em relação aos monoterpenos totais, oxigenados ou não, foi verificado que o grupo submetido ao melhoramento do teor de óleo na extração por secagem (grupo FS) apresentou maior percentual em área dos picos desses compostos químicos, com 87,39%; enquanto o grupo FF, os monoterpenos totais representaram 83,82% de todos os compostos.

Em específico, nos monoterpenos, o teor de maior percentual de volume foi no grupo FF, com 50,33%; seguido de 46,91% no grupo FS. Já no perfil dos monoterpenos oxigenados, foi encontrado valores de 40,82% no grupo FS16-60 e em menor percentual 33,49% no grupo FF.

Apesar das classes dos sesquiterpenos totais, oxigenados ou não, se apresentarem em menor concentração em relação ao volume total dos compostos identificados, os referidos são evidenciados em detrimento aos resultados do estudo *in silico*. Esses sesquiterpenos totais foram encontrados em maior percentual no grupo FF com 15,29% seguido de 13,96% no grupo FS16-60. E os álcoois com maiores percentuais no grupo FS16-60 (1,46%) enquanto no grupo FF esse percentual foi de 0,89%.

Na mesma tabela 2, é possível verificar os resultados referentes ao percentual em área desses compostos majoritários por grupos. O composto em evidência encontrado em todos os grupos foi o terpineno-4-ol. O percentual desse composto foi de 21,81% no grupo FS16-60, enquanto no grupo FF foi apenas de 15,21%. E, tanto no composto cariofileno como no óxido de cariofileno, o percentual de área foi semelhante, 4,08% e 4,83% no grupo FF. No entanto, no grupo FS, o óxido de cariofileno apresentou percentual de 4,09% e cariofileno apresentou percentual em área apenas de 3,13%.

Quando levado em consideração a porcentagem a mais do volume do teor de óleo obtido no grupo FS16-60, apresentada na tabela 1 (126,25%) é possível ter uma projeção do quantitativo dos compostos majoritários presentes no OEAz.

Tabela 2: Perfil cromatográfico do óleo essencial da *Alpinia zerumbet* por extração de folhas frescas e folhas secas e em diferentes gramaturas

Pico	Composto	tR	Folhas Frescas ~2cm	% área	Folhas Secas ~2cm	% área	IRexp (8-16mesh)	% área	IRexp (16-60mesh)	% área	IR lit	Referência
1	cicleno	7.643	925	4,64	925	4,86	925	4,89	925	4,71	919	Adams, 2017
2	3-tujeno	7.899	932	2,46	931	2,15	931	2,17	931	2,01	923	Adams, 2017
3	canfeno	8.486	946	0,22	946	0,15	945	0,18	946	0,13	940	Konig, Joulain et al., 2006
4	4(10)-tujeno	9.525	972	11,86	971	6,84	971	8,91	971	6,46	969	Adams, 2017
5	β -pineno	9.663	975	3,47	974	2,53	974	2,62	975	2,47	974	Adams, 2017
6	β -mirceno	10.324	991	1,94	990	1,58	990	1,8	991	1,51	988	Adams, 2017
7	4-careno	10.941	1005	0,3	1004	0,35	1004	0,28	1005	0,36	997	de Feo, Porta, et al., 1998
8	α -terpineno	11.538	1016	3,94	1015	4,42	1015	3,74	1016	4,1	1014	Adams, 2017
9	p-cimeno	11.953	1023	5,75	1023	7,52	1023	7,6	1023	7,12	1023	Adams, 2017
10	limoneno	12.161	1027	2,04	1027	1,93	1027	1,68	1027	1,66	1028	Adams, 2017
12	γ -terpineno	13.792	1057	11,12	1057	11,94	1057	10,3	1058	11,61	1057	Adams, 2017
14	terpinoleno	15.394	1087	2,59	1087	2,64	1087	2,48	1087	2,67	1083	Adams, 2017
monoterpenos				50,33		46,91		46,65		44,81		
11	eucaliptol a (ou 1,8-cineol)	12.297	1030	9,74	1029	11,14	1029	10,19	1030	10,46	1032	Adams, 2017
13	hidrato de cis-sabineno	14.246	1065	1,49	1065	0,56	1065	1,09	1066	0,55	1065	Adams, 2017
15	hidrato de trans-sabineno	15.983	1098	1,44	1098	0,63	1098	1,21	1098	0,63	1098	Adams, 2017
16	Linalol	16.127	1101	1,5	1100	1,52	1100	1,59	1101	1,61	1099	Adams, 2017
17	(Z)-2-menten-1-ol	17.335	1121	1,08	1120	1,19	1120	1,36	1121	1,44	1123	Adams, 2017
18	(E)-pinocarveol	18.430	1138	0,77	1138	0,91	1138	1,01	1139	1,09	1138	Adams, 2017
19	terpineno-4-ol	20.856	1177	15,21	1177	21,59	1177	18,71	1178	21,81	1181	Adams, 2017

... Continuação da tabela

Pico	Composto	tR	Folhas Frescas ~2cm	% área	Folhas Secas ~2cm	% área	IRexp (8- 16mesh)	% área	IRexp (16- 60mesh)	% área	IR lit	Referência
20	p-cimeno	21.587	1190	1,89	1190	2,39	1190	2,26	1190	2,54	1189	Adams, 2017
23	ascaridol	24.503	1237	0,13	1237	0,55	1237	0,51	1237	0,55	1237	Adams, 2017
24	timol	27.517	1285	0,24			1285	0,13	1285	0,14	1291	Adams, 2017
monoterpenos oxigenados				33,49		40,48		38,06		40,82		
26	α-bergamoteno	36.703	1434	0,16			1434	0,13	1434	0,1	1430	Özel, Gögüs, et al., 2006
27	α-guaieno	37.100	1441	0,28	1441	0,21	1441	0,3	1441	0,2	1437	Adams, 2017
28	isogermacreno D	37.406	1446	0,12			1446	0,12	1446	0,09	1445	Radulovic, Lazarevic, et al., 2007
29	α-humuleno	37.657	1450	0,87	1450	0,56	1450	0,75	1450	0,62	1452	Adams, 2017
30	(Z)-β-guaieno	40.287	1495	0,21			1494	0,19	1495	0,15	1492	Adams, 2017
31	β-bisaboleno	41.030	1508	0,15			1508	0,13	1508	0,08	1506	Adams, 2017
32	γ-cadineno	41.251	1511	0,6	1512	0,44	1511	0,57	1511	0,45	1509	Adams, 2017
25	cariofileno	35.630	1416	4,08	1416	3,13	1416	3,71	1416	3,24	1415	Adams, 2017
Sesquiterpenos				6,47		4,34		5,9		4,93		
33	(E)-nerolidol	44.239	1564	1,54	1564	1,28	1564	1,47	1564	1,45	1560	Adams, 2000
34	óxido de cariofileno	45.111	1579	4,83	1579	4,09	1579	4,44	1580	4,45	1578	Adams, 2000
35	carotol	45.876	1593	0,31	1593	0,16	1593	0,29	1593	0,2	1599	Adams, 2017
36	12-oxabicyclo [9.1.0] dodeca- 3,7-dieno, 1,5,5,8- tetrametil-	46.581	1607	0,68	1608	0,5	1607	0,54	1608	0,58	1606	Adams, 2000

...Continuação da tabela

Pico	Composto	tR	Folhas Frescas ~2cm	% área	Folhas Secas ~2cm	% área	IRexp (8- 16mesh)	% área	IRexp (16- 60mesh)	% área	IR lit	Referência
37	tetraciclo [6.3.2.0(2,5).0(1, 8)] tridecan-9-ol, 4,4-dimetil-	48.616	1658	0,71	1658	0,57	1658	0,65	1658	0,63	1652	Adams, 2000
38	dihidro-eudesmol	48.746	1661	0,75	1661	0,57	1661	0,67	1661	0,67	1661	Adams, 2000
Sesquiterpenos oxigenados				8,82		7,17		8,06		7,98		
21	cis-piperitol	21.868	1195	0,33	1195	0,47	1195	0,57	1195	0,6	1198	Agnihotri, Agarwal et al., 2005
22	trans-piperitol	22.656	1207	0,56	1207	0,63	1207	0,76	1208	0,86	1208	Flamini, Cioni <i>et al.</i> , 2004
Álcoois				0,89		1,1		1,33		1,46		
Total				100,00		100,00		100,00		100,00		

5.4 ESTUDO *in silico*

5.4.1 Docagem Molecular

Os compostos identificados nos cromatogramas do óleo essencial obtido das folhas de *Alpinia zerumbet* que apresentaram áreas percentuais acima de 3%, somaram-se em nove (Figura 14). Destes, apenas dois foram classificados como sesquiterpenos (Cariofileno e Óxido de Cariofileno) e os demais classificados como monoterpenos.

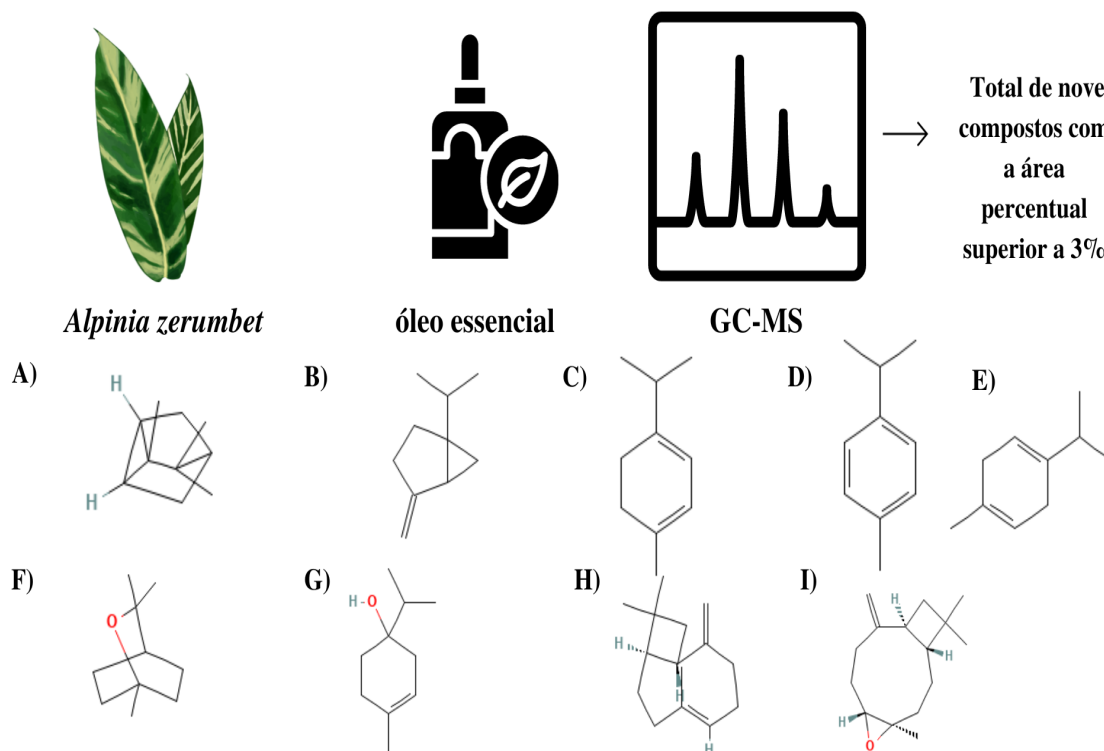


Figura 12: Imagem ilustrativa da análise do OEAz por CG-EM, onde compostos A) Cicleno; B) Tujeno; C) α -Terpineno; D) p-cimeno; E) γ -terpineno; F) Eucaliptol; G) Terpineno-4-ol; H) Cariofileno e I) Óxido de Cariofileno foram selecionados para as análises *in silico*.

5.4.2 Identificação dos compostos

Após a análise cromatográfica do óleo das folhas de *Alpinia zerumbet* os compostos foram tentativamente identificados e os com maior porcentagem de área foram selecionados para realização da etapa *in silico*. Os compostos estão descritos na tabela 1. Os compostos foram encontrados e selecionados no PubChem para obtenção de seus canonical smiles e de suas estruturas tridimensionais.

Tabela 3: Compostos obtidos através da análise cromatográfica do óleo das folhas de *Alpinia zerumbet* suas respectivas identificações no PubChem.

COMPOSTO	CLASSE QUÍMICA	PUBCHEM ID	> 3% ÁREA
ciclono	monoterpeno	79035	4.71
4(10)-tujeno	monoterpeno	18818	6.46
α -terpineno	monoterpeno	198978036	4.1
p-cimeno	monoterpeno	7463	7.12
γ -terpineno	monoterpeno	348276756	11.61
eucaliptol a (ou 1,8-cineol)	monoterpeno oxigenado	2758	10.46
terpineno-4-ol	monoterpeno oxigenado	11230	21.81
cariofileno	sesquiterpeno	5281515	3.24
óxido de cariofileno	sesquiterpeno oxigenado	1742210	4.45

A docagem molecular foi realizada e os resultados estão registrados na Tabela 4. A energia de ligação mais negativa (EB) está relacionada com a melhor pontuação de docagem e observadas na referida tabela. A mesma tabela revelou que a afinidade de ligação dos compostos ligantes evidenciados com o receptor Cav1.3 variou de -8 a -5,8 kcal/mol. O melhor resultado de acordo com a energia de ligação foi em relação ao composto Cariofileno e o Óxido de Cariofileno.

Ao se analisar as interações entre cada composto e seus receptores pode-se verificar nos monoterpenos analisados que: o γ -terpineno apresentou ligações de hidrogênio com a TRP³⁸³ presente no sítio ativo dos Ca²⁺L, com uma distância de 4,34 Å, 3,81 Å e 4,20 Å, o p-cimeno apresentou ligações de hidrogênio com a PHE³⁹⁵ e PHE¹⁴⁵⁹ presente no sítio ativo dos Canais de cálcio tipo L, com uma distância de 4,49 Å e 5,17 Å e 4,02 Å, o α -terpineno apresentou ligações de hidrogênio com a e ILE¹⁴⁵⁵, LEU¹⁴⁵⁸, PHE³⁹⁵ e PHE¹⁴⁵⁹ presente no sítio ativo dos Ca²⁺L, com uma distância de 5,02 Å, 4,68 Å e 4,30 Å, 4,54 Å 3,83 Å, o 4(10)-tujeno apresentou ligações de hidrogênio com a LEU⁷⁰², LEU⁷⁴³, ALA¹¹⁴⁰ e PHE⁶⁹⁹, presente no sítio ativo dos Ca²⁺L, com uma distância de 5,44 Å, 4,36 Å, 5,46 Å, 4,98 Å e 4,72 Å. Já o Ciclono apresentou ligações de hidrogênio com a ILE¹⁴⁵⁵, LEU¹⁴⁵⁸ e PHE³⁹⁵ presente no sítio ativo dos Ca²⁺L, com uma distância de 4,87 Å, 4,29 Å e 5,25 Å.

No grupo dos monoterpenos oxigenados, o Eucaliptol a (ou 1,8-cineol) apresentou ligações de hidrogênio com a ILE³⁶¹ e LEU³⁹⁸ presente no sítio ativo dos Ca²⁺L, com uma distância de 5,27 Å e 5,28 Å, enquanto o Terpineno-4-ol apresentou ligações de

hidrogênio com a ILE¹⁰¹⁵, ILE¹¹⁴⁶, ILE¹⁴⁵⁶, PHE¹¹⁵⁰ e PHE¹⁴⁵³, presente no sítio ativo dos Ca²⁺L, com uma distância de 4,99 Å, 5,38 Å, 4,88 Å, 5,05 Å e 5,29 Å e 4,37 Å, respectivamente. Já no grupo dos sesquiterpenos, o Cariofileno apresentou ligações de hidrogênio com a ILE¹⁴⁵⁵, LEU¹⁴⁵⁸ e PHE³⁹⁵ presente no sítio ativo dos Ca²⁺L, com uma distância de 5,38 Å, 4,25 Å e 5,14 Å, respectivamente. Já o sesquiterpeno oxigenado Óxido de Cariofileno apresentou ligações de hidrogênio com a LEU¹⁴⁵⁸, PHE³⁹⁵ e PHE³⁹⁵ presente no sítio ativo dos Ca²⁺L, com uma distância de 5,05 Å, 5,27 Å e 4,67 Å e 5,25 Å, respectivamente. Sendo estas consideradas um tipo de ligação forte.

Tabela 1: A afinidade de ligação e estruturas acopladas dos nove compostos identificados no óleo de *Alpinia zerumbet* com o canal de cálcio Cav1.3.

Composto	Energia de afinidade (Kcal/mol)	Ligações hidrofóbicas
ciclono	-6	ILE ¹⁴⁵⁵ 4,87 Å LEU ¹⁴⁵⁸ 4,29 Å PHE ³⁹⁵ 5,25 Å
4(10)-tujeno	-6,1	LEU ⁷⁰² 5,44 Å LEU ⁷⁴³ 4,36 Å ALA ¹¹⁴⁰ 5,46 Å PHE ⁶⁹⁹ 4,98 Å e 4,72 Å
α-terpineno	-6,1	ILE ¹⁴⁵⁵ 5,02 Å LEU ¹⁴⁵⁸ 4,68 Å e 4,30 Å PHE ³⁹⁵ 4,54 Å PHE ¹⁴⁵⁹ 3,83 Å
p-cimeno	-6,2	PHE ³⁹⁵ 4,49 Å e 5,17 Å PHE ¹⁴⁵⁹ 4,02 Å
γ-terpineno	-6,2	TRP ³⁸³ 4,34 Å e 3,81 Å e 4,20 Å
eucaliptol (1,8-cineol)	-5,8	ILE ³⁶¹ 5,27 Å LEU ³⁹⁸ 5,28 Å
terpineno-4-ol	-6	ILE ¹⁰¹⁵ 4,99 Å ILE ¹¹⁴⁶ 5,38 Å ILE ¹⁴⁵⁶ 4,88 Å PHE ¹¹⁵⁰ 5,05 Å e 5,29 Å PHE ¹⁴⁵³ 4,37 Å
cariofileno	-7,8	ILE ¹⁴⁵⁵ 5,38 Å LEU ¹⁴⁵⁸ 4,25 Å PHE ³⁹⁵ 5,14 Å
óxido de cariofileno	-8	LEU ¹⁴⁵⁸ 5,05 Å PHE ³⁹⁵ 5,27 Å e 4,67 Å PHE ³⁹⁵ 5,25 Å

5.3.2 Propriedades Físico-químicas e Farmacocinética

Ao se utilizar as ferramentas para verificar a farmacocinética dos compostos que apresentaram maior interação com os Ca^{2+} L, primeiro pode-se analisar os parâmetros do radar de biodisponibilidade (Figura 15 e Tabela 5). A área identificada em rosa representa a faixa ideal para cada propriedade mencionada.

Os compostos referidos que passaram pelas análises estão descritos na Tabela 3 e se mostram dentro dos padrões de lipofilicidade. Tanto o Cariofileno quanto o óxido de Cariofileno se encontram dentro do parâmetro estipulado pelo XLOGP3, um método atomístico que inclui fatores corretivos baseados em uma biblioteca com compostos já descritos. No entanto, o SwissADME apresenta seis métodos distintos para verificar a lipofilicidade desses compostos. E um dos cálculos é a determinação do iLOGP, este tem sido relatado como melhor preditor para essa característica. Neste contexto, o Cariofileno apresentou 4,38 enquanto o Óxido de Cariofileno apresentou 3,15 de lipofilicidade.

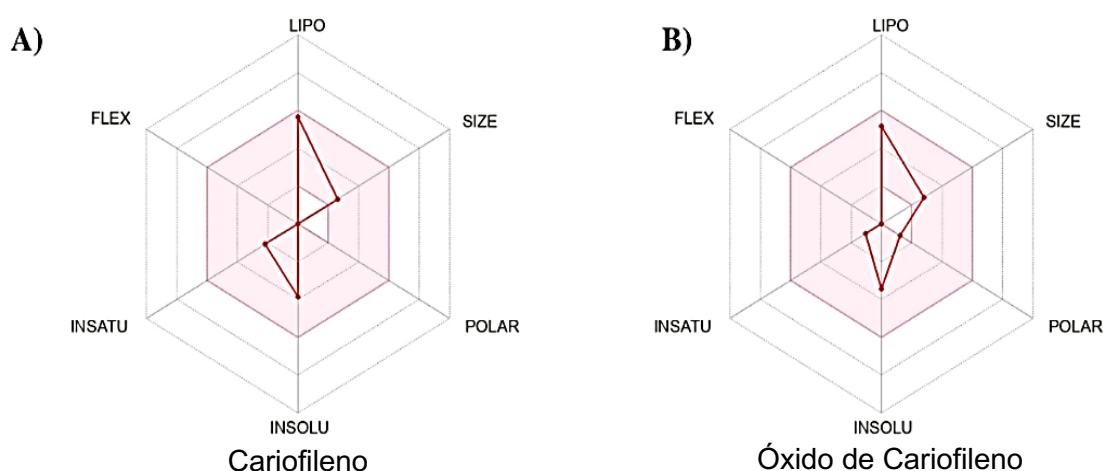


Figura 13: Radar de biodisponibilidade do Cariofileno e Óxido de Cariofileno. A área rosa é a faixa ideal para cada propriedade analisada, lipofilicidade, tamanho, polaridade, solubilidade, flexibilidade e saturação segundo o software SwissADME

Logo após o radar de biodisponibilidade, os parâmetros foram identificados em relação a estes compostos. Assim, foi verificado que tanto o Cariofileno como o Óxido de Cariofileno estão dentro dos padrões aceitáveis para possível medicamentos evidenciando capacidade de absorção, distribuição, potência e eliminação. Assim, na Tabela 5, além da lipofilicidade foram identificados dados específicos sobre peso molecular, polaridade, insolubilidade, instauração, flexibilidade.

Em relação ao peso molecular, tanto o Cariofileno (204.35 g/mol) como o Óxido de Cariofileno (220.35 g/mol) se encontram dentro da faixa de tamanho adequado para fármaco. Com exceção a polaridade, ambos, Cariofileno e Óxido de Cariofileno, se apresentam muito abaixo no padrão estipulado pelo algoritmo ($0,00\text{\AA}^2$ e $12,53\text{\AA}^2$) (Tabela 5).

Já em relação a solubilidade molar da água, esses compostos apresentaram solubilidade. O Cariofileno e Óxido de Cariofileno foram solúveis pelo método ESOL, -3,87 e -3,45, respectivamente, nos três métodos previstos pelo SwissADME. No entanto, vale ressaltar que o método é o logaritmo decimal da solubilidade molar da água.

Para mensurar o quantitativo de ligações foi verificado a insaturação do Cariofileno (0,73) e Óxido de Cariofileno (0,87), demonstrando que ambos têm pelo menos uma ligação dupla ou tripla, além de um átomo hídrico sp^3 em uma molécula. Além de serem flexíveis, Cariofileno (0) e Óxido de Cariofileno (1), já que apresentam no máximo 1 ligação rotativa (Figura 15).

Tabela 2: Resultados referentes ao SwissADME e os parâmetros do radar de biodisponibilidade dos compostos Cariofileno e Óxido de Cariofileno.

Características/Parâmetros	Cariofileno	Óxido de Cariofileno
Lipofilicidade ($-0.7 < \text{XLOGP3} < +5$)	4,38	3,15
Peso molecular ($150\text{ g/mol} < \text{MV} < 500\text{g/mol}$)	204,35 g/mol	220,35 g/mol
Polaridade ($20\text{\AA}^2 < \text{TPSA} < 130\text{\AA}^2$)	$0,00\text{\AA}^2$	$12,53\text{\AA}^2$
Insolubilidade ($0 < \text{LogS (ESOL)} < 6$)	-3,87 Solúvel	-3,45 Solúvel
Insaturação ($0.25 < \text{Fraction Csp3} < 1$)	0,73	0,87
Flexibilidade ($0 < \text{num. Rotatable bonds} < 9$)	0	1

Ao analisar a farmacocinética, a Tabela 6 traz informações relativas aos dois softwares utilizados, SwissADME e PreADMET.

Os compostos identificados nas folhas de *Alpinia zerumbet*, foram analisados por meio de docagem molecular. Os resultados indicaram que esses compostos têm afinidade variada com o Ca^{2+} L dependente de voltagem (Cav1.3), sendo o Cariofileno e o Óxido de Cariofileno os mais promissores.

A análise farmacocinética revelou que o Cariofileno apresentou baixa permeabilidade, enquanto o Óxido de Cariofileno apresentou alta permeabilidade gastrointestinal. Seguindo o modelo de classificação quanto à permeabilidade em células Caco2: > 70nm/sec: alta permeabilidade, 4-70nm/sec: média permeabilidade, >4nm/sec: baixa permeabilidade.

Em relação a Barreira Hemato Encefálica (BHE) apenas o Óxido de Cariofileno apresentou positividade em atravessar a barreira. Assim como, ambos não são substratos nem inibidores da glicoproteína-P. O Cariofileno mostrou inibição de algumas enzimas do citocromo P450.

Visto que o PreADMET também prevê a permeabilidade da pele (Skin Permeability), o referido foi analisado por ser um parâmetro importante quando se correlaciona com substâncias as quais são administradas por via transdérmica; como também para análise do perigo que essas substâncias podem provocar ao entrar em contato com a pele do indivíduo.

Em virtude disso, essas análises farmacocinéticas foram determinadas de acordo com a classificação da permeabilidade da pele em baixa e alta, sendo que o resultado é fornecido como alta para valores < 0,1; e baixa, para valores > 0,1. Em efeito desses valores foi observado que ambos os compostos analisados apresentaram alta permeabilidade, uma vez que esses exibiram resultados < 0,1 para Skin Permeability

A análise de toxicidade indicou que ambos são mutagênicos, mas apenas o Cariofileno não é carcinogênico. A avaliação de *druglikeness* e outras propriedades físico-químicas assim como as características das ligações sugerem que ambos têm potencial para serem desenvolvidos como fármacos orais.

Tabela 3: Propriedades ADMET e Druglikeness tabuladas obtidas do servidor PreADMET e SwissADME.

Características	Cariofileno	Óxido de Cariofileno
GI absorção	Baixo	Alto
Caco2	23.6315	56.3475
BHE	Não	Sim
Pgp substrato	Não	Não
Pgp_inibidor	Inibidor	Inibidor
CYP1A2 inibidor	Não	Não
CYP2C19 inibidor	Sim	Não
CYP2C9 inibidor	Sim	Sim
CYP2D6 inibidor	Não	Não
CYP2D6_substrato	Não	Não
CYP3A4 inibidor	Não	Não
CYP3A4 substrato	Substrato	Substrato
MDCK	56,2164*	218,885
Permeabilidade na pele	-4,44 cm/s	-5,12 cm/s
Toxicidade		
Ames_test	Mutagênico	Mutagênico
Carcinogênese/camundongo	Negativo	Positivo
Carcinogênese/rato	Positivo	Positivo
Druglikeness (Característica para droga semelhante)		
Lipinski #violations	1	0
Ghose #violations	0	0
Veber #violations	0	0
Egan #violations	0	0
Muegge #violations	1	1
Bioavailability Score	0,55	0,55
PAINS #alerts	0	0
Brenk #alerts	1	2
Leadlikeness #violations	2	2
Synthetic Accessibility	4,51	4,35

6 DISCUSSÃO

Intensificar o teor de compostos químicos é de grande valia, principalmente compostos terpinóides e sesquiterpinóides de óleo essencial em procedimentos de extração por hidrodestilação. Destilar óleo essencial por vaporização evita o uso de solventes (RADWAN *et al.*, 2020). E utilizar estratégias tais como granulometria e secagem de folhas podem ser opções interessantes para conseguir maior rendimento e maior quantidade do óleo essencial extraído para fins terapêuticos.

As ações terapêuticas de alguns óleos essenciais envolvem os compostos terpenóides. E ter a opção de maximizar o potencial terapêutico através da obtenção de compostos majoritários, se torna uma possibilidade atraente e promissora para os bioprodutos.

No presente estudo, duas amostras com perfis diferentes foram utilizadas na hidrodestilação, folhas frescas e folhas desidratadas. As folhas secas foram divididas em três grupos com gramaturas diferentes. As análises apontaram que o rendimento, após pré-tratamento por secagem de folhas a 43°C por 3 dias, foi superior ao grupo de folhas frescas.

Com relação ao rendimento do OEAz obtido por hidrodestilação, encontra-se na literatura os resultados descritos por Kawai *et al.* (2020), que obtiveram entre 0,04 e 0,07% de rendimento do óleo essencial da *Alpinia zerumbet* por hidrodestilação. Já Santos *et al.*, 2020, ao realizarem secagem das folhas a 45°C e obtiveram melhor rendimento (0,71%) e atividade biológica antimicrobiana para o OEAz quando comparado ao obtido por processamento das folhas com temperatura de 55 °C. Tal fato se deve provavelmente pela alta volatilidade do mesmo diante de temperaturas mais elevadas.

O tamanho de partícula é um fator importante que deve ser considerado em muitos processos de extração, isso ocorre porque a área superficial específica de uma partícula aumenta à medida que seu tamanho diminui (POLACHINI *et al.*, 2019). Desta forma, as partículas menores do presente estudo apresentam uma maior área de superfície para contato com o solvente utilizado na extração do óleo essencial, aumentando a eficiência do processo de hidrodestilação. No estudo em questão, foram utilizados diferentes tamanhos de partículas nas folhas secas da *Alpinia zerumbet*, variando de 2 cm a 16-60 MESH.

Os resultados indicaram que o tamanho de partícula influenciou o rendimento do óleo essencial extraído, sendo que o grupo de partícula 16-60 MESH apresentou um percentual 126,25% superior em relação aos grupos com tamanho de partícula maiores (2 cm). Além disso, os resultados também sugerem que a concentração de monoterpenos pode ser maior nos grupos com tamanho de partícula menores, indicando que a

granulometria pode afetar a quantidade de compostos químicos do óleo essencial, principalmente maior concentração de monoterpenos.

Segundo Alizadeh *et al.* (2017) a granulometria influencia na eficiência do processo de extração de óleos essenciais. O tamanho adequado de partículas contribui para a obtenção de maior eficiência na extração de óleos essenciais. Zellagui *et al.* (2018) mostraram que partículas de 18 a 35 MESH eram ideais para maior rendimento e concentração de compostos terpenóides através de perfil cromatográfico desses compostos, quando comparados a granulometrias maiores.

É importante ressaltar que nas extrações realizadas pela presente pesquisa, o rendimento da extração com menores MESH (16-60 MESH) apresentou-se cinco vezes maior em relação a extração de folhas de 2 cm, quer sejam frescas ou secas. Além de maior rendimento houve maior aumento do teor dos terpenos totais, otimizando os compostos majoritários. A redução do tamanho de partícula com aumento de compostos bioativos como fenólicos e flavonoides foram relatados por Prasedya *et al.* (2021). O estudo, aqui citado, evidenciou que partículas superiores a 270 MESH contribuíram para o aumento da atividade antioxidante dos extratos macroalga *S.cristaeifolium*.

Na presente pesquisa, foram utilizados dados da cromatografia para quantificar o teor dos terpenos, bem como, a percentagem dos compostos majoritários contidos no OEAz. Os principais monoterpenos achados por análise cromatográfica foram o terpineno-4-ol e 1,8-cineol, corroborando com os achados em estudos anteriores, onde Santos *et al.*, 2011 evidenciaram 38% e 18% e Batista *et al.* 2021, 23,3% e 22,7% desses compostos, terpineno-4-ol e 1,8-cineol, em seus achados com OEAz, respectivamente. Além disso, o mesmo grupo, evidenciou a atuação do OEAz nos Ca^{2+} L e melhoria da contratilidade muscular.

Otimizar teor de terpenos por extração do OEAz com ações em Ca^{2+} L torna-se importante, uma vez que estudos evidenciam a desregulação da homeostase Ca^{2+} vinculada a vários processos biológicos importantes envolvendo declínio cognitivo, envelhecimento e neuroinflamação (NAVAKKODE, 2018). Existindo ainda a regulação inadequada dos canais de Ca^{2+} envolvidos em distúrbios neurológicos, cardiovasculares, musculares e psiquiátricos.

Em relação aos estudos envolvendo os músculos e os Ca^{2+} L, entre os anos de 2011 e 2022, tem-se estudos evidenciando ações de modulação de hipertônica e espasticidade muscular e rigidez muscular pelo OEAz e Ziclague® (SANTOS *et al.* 2011; CÂNDIDO; XAVIER-FILHO, 2012, CERQUEIRA *et al.*, 2015; CÂNDIDO *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2018; BATISTA *et al.*, 2022).

Em específicos os monoterpenos oxigenados que o presente estudo evidencia como majoritários, terpineno-4-ol e 1,8-cineol, encontra-se várias citações de ações

biológicas. O monoterpeno oxigenado 1,8-cineol apresentou ação na contratilidade por influenciar os canais de cálcio dependentes de voltagem (VGCC) em músculo liso de traqueia, onde o 1,8-cineol, em baixas concentrações, relaxou as contrações induzidas pelo K⁺ isotônico (PEREIRA *et al.*, 2018). Enquanto o terpineno-4-ol, entre 2017 e 2020, vem sendo evidenciado com ação neuroprotetora em modelos experimentais com doença de Alzheimer e envelhecimento cerebral, já que apresentou atuação em vias de sinalização para a sobrevivência neuronal (M.A *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2017; REZVANI *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2019; LIU *et al.*, 2020).

Entretanto, ferramentas como a docagem molecular estão ganhando espaço para a descoberta de medicamentos na atualidade, visto que na atualidade, a era computacional contém uma série de ferramentas computacionais online e offline que auxiliam na previsão e análise desses perfis. Os perfis ADME, estão vinculados a funções dos ligantes, com base em sua estrutura e na interação entre o ligante e o receptor. Essas análises auxiliam no *screening virtual* de compostos, direcionando os ideais, dentro dos parâmetros estabelecidos por cada ferramenta, para seguirem para na busca de novos fármacos. Já a predição da farmacocinética, isto é, toxicidade, absorção, distribuição, metabolismo, além da (ADMET), está associada a medicamentos com moléculas semelhantes já descritas, e foram realizadas usando o software online PreADMET e SwissADME (LIPINSKI *et al.*, 1997; VEBER *et al.*, 2002; NTIE-KANG *et al.*, 2013; YALÇIN, YALÇINKAYA, ERCAN, 2021).

Segundo TORRES; SODERO; JOFELY; SILVA (2019) a energia das ligações negativas estão presentes nas melhores pontuações de docagem. Esse resultado foi verificado no presente estudo. As ligações de hidrogênio são um fator contribuinte primário no suporte da afinidade de ligação dos ligantes com o receptor. A forte interação da ligação de hidrogênio representa uma alta capacidade de ligação entre o ligante e a proteína (FERREIRA; SANTOS; OLIVA; ANDRICOPULO, 2015). Diante dos resultados relativos à energia de ligação entre os compostos e os receptores percebe-se que 7, dos 9 compostos, apresentaram interações menores que -6 kcal/mol e segundo Shityakov, Förster (2014) interações acima de -6 kcal/mol possuem menor probabilidade de acontecerem espontaneamente. Nesse contexto os melhores resultados apontaram os compostos composto Cariofileno e o Óxido de Cariofileno para afinidade de ligação com o receptor dos Ca²⁺L subunidade 1.3 (Cav1.3).

Percebe-se que os compostos, tanto o Cariofileno quanto o Óxido de Cariofileno, estão dentro dos padrões de medicamentos já descritos na literatura, relacionando esses compostos a doenças neurodegenerativas. E, compostos bioativos que modulem o Cav1.3 são promissoras terapia, porém ainda há limitação de dose bloqueadoras de Cav1.3 nessas atividades neurais (ORTNER *et al.*, 2017).

A necessidade de realizar estudos toxicológicos se faz necessário para determinação de parâmetros de segurança, que não são observados durante o uso popular dos derivados de plantas medicinais. Constituindo assim, uma análise bastante relevante, uma vez que se caracterizam os efeitos dos compostos produzidos e simulados a partir de sua administração, auxiliando a decidir se esses compostos devem ser adotados ou não para uso clínico (SARAIVA, 2012).

Relacionados à toxicidade, o software PreADMET é uma ferramenta essencial para prever a segurança de novos compostos. Os perfis de segurança de vários compostos sintetizados foram previstos usando esta ferramenta. Os dados previstos na Tabela 6 (pag 63) revelaram que os dois compostos são mutagênicos e apenas o Cariofileno não é carcinogênico. Em relação a mutagenicidade a avaliação *in silico* é realizada através do Teste de Ames que faz uso de cepas da bactéria *Salmonella typhimurium*. O teste de toxicidade AMES foi usado para identificar se um composto é mutagênico ou não, ou seja, esse teste com as cepas identifica agentes que podem causar alterações mutagênicas, elas podem ser avaliadas na presença ou ausência da fração S9, essa fração avalia a metabolização das substâncias, sendo composta por frações hepáticas microssomais e citosólicas, simulando as características dos metabólitos sintetizados (CLAXTON; DE UMBUZEIRO; DEMARINI, 2010).

Quanto ao efeito sobre o metabolismo, um dos parâmetros mais importantes na etapa de desenvolvimento de fármacos é a capacidade de inibição enzimática que determinada molécula possui. O complexo enzimático CYP-450 ou chamado de enzimas do citocromo P450 (Hemeproteínas localizadas no fígado), apresentam subfamílias responsáveis pelo processo de metabolização de fármacos, destacam-se as CYP3A4, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 as quais são umas das principais responsáveis pelo processo de metabolização de fármacos. Neste contexto, o Cariofileno foi inibidor da CYP2C19, e ambos da CYP2C9; entretanto, nas demais enzimas, os compostos não foram inibidores, e sim, substratos para CYP3A4. Entretanto, ambos, Cariofileno e Óxido de Cariofileno apresentaram alta permeabilidade cutânea de acordo com a classificação para Skin Permeability, segundo Dolabela *et al.* (2018) e Elmaidomy *et al.* (2020).

Ainda com enfoque em metabolismo e excreção, a maioria dos medicamentos dependem de muitos fatores, como a glicoproteína-P (PgP), umas das proteínas de superfície celular mais importantes envolvidas no efluxo xenobióticos, ou seja, bombeando xenobióticos de dentro para fora da célula, isto é, os compostos. E seguindo esse mesmo contexto, outra observação importante do resultado é que os compostos não são substratos, bem como, não são inibidores da PgP. Um não substrato significa

que a Pgp não reconheceria a molécula e não causaria seu efluxo. A Pgp, mesmo não sendo um inibidor, pode aumentar a biodisponibilidade desses compostos. Isso pode afetar a interação com outros medicamentos processados pela bomba de efluxo. Isso resultaria em uma maior fração desses compostos na corrente sanguínea, possivelmente exigindo doses mais altas para atingir o efeito desejado. Esse fenômeno poderia ser benéfico para alcançar o alvo terapêutico (DEWANJEE et al., 2017; SANTANA; MIRANDA; SOUSA, 2020).

Relacionado a lipofilicidade, que é a propriedade muito importante para um possível fármaco, já que está totalmente relacionada a sua capacidade de absorção, distribuição, potência e eliminação, percebeu-se neste contexto, que ambos os compostos, Cariofileno quanto o Óxido de Cariofileno, se encontram dentro do parâmetro estipulado; assim, para este coeficiente de partição n-octanol/água ($\log P_{o/w}$) (DAINA; MICHELIN; ZOETE, 2014).

Outro parâmetro analisado foi o druglikeness o qual avalia qualitativamente a chance de uma molécula, ou seja, dos compostos Cariofileno e Óxido de Cariofileno se tornarem um fármaco oral em relação a sua biodisponibilidade. O SwissADME dá acesso a cinco filtros baseados em regras diferentes, com diversas faixas de propriedades dentro das quais a molécula é definida como fármaco. Esses filtros geralmente se originam de análises de grandes empresas farmacêuticas com o objetivo de melhorar a qualidade de suas coleções de produtos químicos proprietários. O método do Lipinski é amplamente utilizado e ambos os compostos apresentaram apenas 1 violação, ainda sendo considerado adequado. Os métodos Ghose (Amgen), Veber (GSK), Egan (Pharmacia) e Muegge (Bayer) foram adaptados (DAINA; MICHELIN; ZOETE, 2017). Várias estimativas permitem visões de consenso ou seleção de métodos que melhor se adaptam às necessidades específicas do usuário final em termos de espaço químico ou demandas relacionadas ao projeto. Qualquer violação de qualquer regra descrita aqui aparece explicitamente no painel de saída. Dentre estes quatro, Ghose (Amgen), Veber (GSK), Egan (Pharmacia) e Muegge (Bayer) ambos os compostos não apresentaram nenhuma violação.

Já em relação a Synthetic Accessibility, a pontuação final fornece a possibilidade de síntese de tais moléculas avaliadas nesse estudo, verificando a sua facilidade (DAINA; MICHELIN; ZOETE, 2017). A pontuação varia entre 1 e 10, em que 1 é dita como muito fácil de ser sintetizada e o valor 10 muito difícil de ser sintetizada. Segundo a tabela 6 (pag 63) o composto Cariofileno apresentou uma pontuação de 4,51, enquanto o Óxido de Cariofileno apresentou uma pontuação de 4,35, ambos enquadrados, como moderada facilidade de síntese. Vale ressaltar que essa pontuação molecular é muito complexa e leva em consideração a presença de características estruturais não padronizadas, como

anéis grandes, fusões de anéis não padronizados, estereocomplexidade e tamanho da molécula (ERTL, 2009).

O Bioavailability Score é semelhante, mas procura prever a probabilidade de um composto ter pelo menos 10% de biodisponibilidade oral em ratos ou permeabilidade mensurável de Caco-2, em geral essa pontuação necessita estar no mínimo em 0,10 para que o composto seja um candidato e, segundo os dados descritos na tabela 6 (pag 63) ambos são considerados candidatos a ser um medicamento com administração oral (MARTIN, 2005).

Outro parâmetro fornecido pela ferramenta para avaliar essa permeabilidade intestinal, é a permeabilidade em células epiteliais, incluindo as linhagens de células intestinais Caco-2 (intestinal epithelium), oriundas de adenocarcinoma de cólon humano (intestino grosso) que possuem a capacidade de diferenciar-se em enterócitos. Esse dado permite-nos prever se este composto pode ser utilizado por via oral. De acordo com a classificação de Dolabela *et al.* (2018) e Elmaidomy *et al.* (2020) houve classificação da permeabilidade em células Caco2, classificando o Cariofileno em baixa permeabilidade, enquanto o Óxido de Cariofileno apresentou alta permeabilidade gastrointestinal às células Caco-2. Esse tipo de informação fornece a capacidade que o composto pode ser administrado por via oral. Os fármacos prescritos por via oral necessitam atravessar a parede do sistema digestivo para atingir a corrente sanguínea. Isso implica em saber o grau de absorção dos compostos no intestino, pois, as paredes do trato gastrointestinal (TGI) contém microvilosidades extremamente importantes e fundamentais na absorção local, onde várias substâncias podem adentrar e ter sua consequente biodistribuição no corpo, tendo em vista tais resultados, a absorção vai depender da finalidade do medicamento, assim como também da sua forma farmacêutica final.

Em virtude disso, o ideal é que os laboratórios produzam medicamentos para que apresentem absorção de acordo com a necessidade da patologia do indivíduo, com o propósito de que a medicação não esteja de forma excessiva ou diminuída na corrente sanguínea. Nestes casos, os fármacos apresentam-se altamente permeáveis em células epiteliais; tal como o medicamento sinvastatina, utilizado como parâmetro de análise própria da pesquisa, por possuir alta permeabilidade epitelial (MOURA; ARAÚJO; SOUSA, 2020).

O outro tipo de célula, que verifica a via de excreção são as Madin-Darby canine kidney (MDCK), oriundas de rim canino e sofreram diferenciação em células epiteliais colunares com membranas semipermeáveis quando cultivadas (DOLABELA *et al.*, 2018; NISHA, 2016). Esse modelo de MDCK, como dito, mede a taxa de eliminação dos fármacos, ou seja, essa célula simula a barreira epitelial intestinal e a propriedade de depuração renal, prevendo assim a permeabilidade e a excreção do composto. Este fato

proporciona a biodisponibilidade oral, importante na fase pré-clínica do desenvolvimento do fármaco, pode ser prevista por simulações biológicas *in vitro* e *in silico*, fornecendo deste modo uma excelente base para seu uso padronizado em transporte de fármacos e estudos de interação entre fármacos e excipientes (KOVAČEVIĆ; JEVRIĆ; KUZMANOVIĆ; LONČAR, 2014).

Ainda de acordo com os valores referente aos dados do servidor PreADMET e SwissADME, observa-se que houve uma enorme variação em relação aos resultados entre os compostos estudados. E dentro desse contexto, sabe-se que, quanto maior o valor apresentado, maior a capacidade de excreção deste composto (SANTOS; DANIEL; PRÓSPERO; COSTA, 2018). Deste modo, observou-se que o Óxido de Cariofileno apresentou maior excreção por esta via que o Cariofileno. Estes dados foram comparados com os dados do medicamento sinvastatina, pois o mesmo possui excreção e depuração renal descritas (MOURA; ARAÚJO; SOUSA, 2020).

Outra análise importante é relativa às subestruturas de certas moléculas que podem apresentar uma resposta potente, independente do alvo molecular, a isso chama-se Compostos Promíscuos (PAINS). Segundo Baell *et al.*, (2010) essas subestruturas podem apresentar resultados biológicos indevidos. O SwissADME avalia a possível existência de certas subestruturas em compostos como o Cariofileno e o Óxido de Cariofileno. Segundo a Tabela 6 (página 63), esses compostos não apresentam essas subestruturas identificadas. Além disso, a análise de Brenk examina se essas subestruturas podem ser potencialmente problemáticas, como toxicidade, reatividade, instabilidade metabólica ou fraquezas farmacocinéticas. Nessa análise, foi encontrado apenas um fragmento com essas características. Associado aos critérios de "leadlikeness", semelhantes ao conceito de "druglikeness" mas com um foco mais físico-químico para identificar moléculas adequadas para otimização, esse fragmento pode influenciar o tamanho e a lipofilicidade da molécula (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017).

Neste caso, uma violação foi vista para o Cariofileno e duas violações para o Óxido de Cariofileno indicando que há possibilidade de as mesmas sofrerem adequações relativas a tamanho e lipofilicidade e consequente melhora em sua biodistribuição.

A distribuição de cada composto no corpo humano depende de muitos fatores, como a permeabilidade da BHE, e neste caso apenas o Óxido de Cariofileno apresentou permeabilidade na BHE. Esse tipo de análise fornece informações importantes, pois a permeabilidade na BHE indica compostos com potencial ação no SNC, deste modo, testes de BHE *in silico* são ferramentas relevantes para auxiliar a prever a absorção cerebral de candidatos a fármacos antes de estudos *in vivo* (CHO *et al.*, 2017).

Em trabalhos como o realizado por Ullah *et al.* (2021), é evidente o potencial do β -Cariofileno na redução do estresse oxidativo e da disfunção mitocondrial, com foco

especial no sistema nervoso. No entanto, vale ressaltar que os próprios estudos indicam a necessidade de um carreador lipossomal, devido a sua baixa solubilidade em fluidos biológicos. Ou mesmo, muito desses estudos são ensaios *in vitro*, que de fato indicam o potencial antioxidante do β -Cariofileno e de seu próprio derivado oxidativo β -Óxido de Cariofileno. Além dessas informações, esses sesquiterpenos são bastante relatados, inclusive por atuar no agonista seletivo do receptor canabinóide tipo 2 (CB2). Nesse sentido, os dados relativos a bioinformática são previsões que podem auxiliar a compreender a farmacocinética de compostos, devido, justamente a ausência de estudos de farmacocinética *in vitro* e *in vivo*, como é o caso dos dois compostos analisados neste estudo.

Entretanto, vários estudos apresentam o Cariofileno como neuroprotetor com atuação nos receptores canabinóides CB2 em Sistema Nervoso Central (IRRERA *et al.*, 2020), presentes em neurônios pós-sinápticos com resposta inibitória por hiperpolarização do potencial de membrana (ZHANG *et al.*, 2014; STEMPEL *et al.*, 2016). Outra possível evidência do Cariofileno atravessar a barreira hematoencefálica são os estudos de Viveros-Paredes *et al.* (2017) e Machado *et al.* (2018). Respectivamente, os estudos evidenciaram proteção de neurônios dopaminérgicos após de lesão por MPTP e ação imunoinflamatória central, ambos em roedores.

Nesse contexto, a presença de um carreador lipossomal facilitará a transposição da barreira hematoencefálica. E segundo Wu *et al.* (2023) a barreira hematoencefálica permite difusão passiva apenas de fármacos lipossolúveis com baixo peso molecular. Nos estudos de CAL (2006ab) os terpenos são estudados por serem lipofílicos, com interação lipídica e queratinosa. Entre os terpenos, tem-se o terpeno-4-ol, um monoterpeneo que faz da parte das classes promotoras de absorção por ser um composto que facilita a absorção de drogas polares (JAIN, 2002; AQUIL *et al.*, 2007; LAN *et al.* (2014). Assim como 1,8 cineol, outro monoterpeneo, cuja estrutura é favorável para atravessar barreiras lipídicas, já que apresenta grupo de caudas de hidrocarbonetos de ligação polar (SANTOS; RAO, 2000; CHRISTIANSON, 2017).

Entretanto, Mallmann *et al.* (2022) mostrou que o Cariofileno diminuiu as atividades convulsivantes, além de amenizar o infiltrado de albumina no parênquima cerebral, evidenciando efeito protetor contra a quebra da BHE.

Além disso, possibilidades de nanocarreadores para liberação de fármacos orgânicos, por via inalatória são promissores para novos fármacos cuja formulações apresentem ações biológicas de tratamento de doenças do Sistema Nervoso Central (WU *et al.*, 2023).

7 CONCLUSÃO

O óleo essencial obtido por hidrodestilação, após secagem das folhas, apresentou maior rendimento em relação as folhas frescas. Seguido de teor de óleo potencializado em 126,25% quando a granulometria dessas folhas secas foi de 16-60 MESH. A caracterização química evidenciou perfil semelhante em ambas as extrações, de folhas frescas e secas. Em relação a possíveis interações dos compostos com os Ca^{2+} L, foi identificado por ordem de força de interação, óxido de cariofileno, cariofileno e terpineno-4-ol.

Assim, o preparo da amostra com secagem prévia das folhas de *Alpinia zerumbet* em menor granulometria promoveu o aumento no rendimento do óleo essencial obtido por hidrodestilação, sem perda de compostos terpenóides (monoterpenos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos, sesquiterpenos oxigenados e álcoois); especialmente os terpenóides de interesse (óxido de cariofileno, cariofileno e terpineno-4-ol), que mostraram maior afinidade em relação à com a Cav1.3, destacando-se como possíveis novas estratégias terapêuticas.

8 REFERÊNCIAS

- AHMAD, R.; JAVED, S.; BHANDARI, Uma. Antiapoptotic potential of herbal drugs in cardiovascular disorders: an overview. *Pharmaceutical biology*, v. 48, n. 4, p. 358-374, 2010.
- AKGOGAN, M.; GULTERKIN, F.; YONTEM, M. Effect of *Mentha piperita* (Labiatae) and *Mentha spicata* (Labiatae) on iron absorption in rats. *Toxicology and industrial health*, 2004, v. 20, n. 6, p. 119-122.
- ALBUQUERQUE, E. S. B.; NEVES, L. J. Anatomia foliar de *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burt & Smith (Zingiberaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 2004, v. 18, n. 1, p. 109-121.
- ALCÂNTARA, J. M.; YAMAGUCHI, K. K. D. L.; SILVA, J. R. D. A.; VEIGA JUNIOR, V. F. D. Composição química e atividade biológica dos óleos essenciais das folhas e caules de *Rhodostemonodaphne parvifolia* Madriñán (Lauraceae). *Acta Amazônica*, 2010, v. 40, n. 3, p. 567-571.
- ALIZADEH *et al.* Effects of the particle size on the extraction of essential oil from Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2017.
- ALMEIDA, E. R. Plantas medicinais brasileiras: conhecimentos populares e científicos. São Paulo: Hemus, 1993.
- ALMEIDA, I. B.; LIMA, M. A. A.; SOUZA, L. G. M. Desenvolvimento de secador solar construído a partir de material reciclável. *HOLOS*, 2016, v. 4, p. 197-205.
- ÁLVAREZ-MARTÍNEZ, F. J.; BARRAJÓN-CATALÁN, E.; HERRANZ-LÓPEZ, M.; MICOL, V. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. *Phytomedicine*, 2021, v. 90. Doi: 10.1016/j.phymed.2021.153626.
- ALVES, T. A.; FERREIRA, C. S.; COSTA, R. G.; HENRIQUE, M. K. C.; PRAÇA-FONTES, M. M.; PINHEIRO, P. F. Caracterização química e atividade mutagênica do óleo essencial de *Lippia alba*. *Revista Univap*, 2017, v. 22, n. 40.
- AMUTHA R.; Sangeetha B.; Muthukumaran, R. In *A Theoretical Revisit on Molecular Modeling and Docking Approaches*, Coumar, M. S., ed.; Academic Press: Cambridge, 2021; cap. 1.
- ANDRADE, E. H. A.; GUIMARÃES, E. F.; MAIA, J. G. S. Variabilidade química em óleos essenciais de espécies de Piper da Amazônia. Belém: FEQ/UFGA, 2009.
- ANDRADE, E. H. Óleos essenciais: caracterização, extração, análise e importância econômica. Encontro de profissionais da química da Amazônia, 12º, Belém: Conselho Regional da Química da 6ª Região, 2011.
- ARAUJO, F. Y. R. *et al.* Inhibition of ketamine-induced hyperlocomotion in mice by the essential oil of *Alpinia zerumbet*: possible involvement of an antioxidant effect. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2011, v. 68, n. 8, p. 1103-1110.
- AZAMBUJA, W. Métodos de Extração de Óleos Essenciais. *Óleos essenciais*, 2017.

AZEVEDO, M. V. M. P. S.; LINS, S. R. O. Aplicações terapêuticas da *Alpinia Zerumbet* (colônia) baseado na medicina tradicional: uma revisão narrativa (2010-2020). Curitiba: *Braz. J. of Develop*, 2020, v. 6, n. 11, p. 84222-84242. doi: 10.34117/bjdv6n11-001.

SANTOS, B.A. CAMPOS, D. R., CARVALHO, A. M.S., MIRANDA, A. F.M.F. CARNEIRO, A. C. D.C. CAVALCANTE, A. P.H. CÂNDIDO, E.A.F, XAVIER FILHO, D. L., CRUZ, B. J.S., GONDIM, A. B. A.N.S. Cardiodepressive effect elicited by the essential oil of *Alpinia speciosa* is related to L-type Ca^{2+} current blockade. *Phytomedicine*, Volume 18, Issue 7, 15 May 2011, Pages 539-543.

BAELL, J. B.; HOLLOWAY, G. A. New substructure filters for removal of pan assay interference compounds (PAINS) from screening libraries and for their exclusion in bioassays. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2010, v. 53, n. 40, p. 2719.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Efeitos Biológicos de Óleos Essenciais: uma Revisão. *Química Alimentar. Toxicol.* 2008, v. 46, n. 2, p. 446–475. Doi: 10.1016/j.fct.2007.09.106.

BATISTA, T.S.C.; BARROS, G.S.; DAMASCENO, S.C.; CÂNDIDO, E.A.F.; BATISTA, M.V.A. Caracterização química e efeitos do óleo volátil de *Alpinia zerumbet* na qualidade da deposição de colágeno e expressão de caveolina-1 em um modelo murino de fibrose muscular. *Braz J Biol.*, 2021, v. 84.

BECKER, C.; JICK, S.S.; MEIER, C.R. Use of antihypertensives and the risk of Parkinson disease. *Neurology*, 2008, v. 70, p. 1438-1444. Doi:10.1212/01.wnl.0000303818.38960.44.

BERWICH, A. *Aromaterapia Holística*. Trad. de Terezinha Ferreira Soares. Rio de Janeiro: Record, 1996. 270p.

BEZERRA, C. F. *Potencial antifúngico de sesquiterpenos livres e em formulação lipossômica frente a Candida spp.* Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE: UFPE, 2021.

BEZERRA, M. A., LEAL-CARDOSO, J. H., COELHO-DE-SOUZA, A. N., CRIDDLE, D. N., & FONTELES, M. C. Myorelaxant and antispasmodic effects of the essential oil of *Alpinia speciosa* on rat ileum. *Phytotherapy research*: 2000, v. 14, n. 7, p. 549–551. Doi: [https://doi.org/10.1002/1099-1573\(200011\)14:7<549::aid-ptr623>3.0.co;2-t](https://doi.org/10.1002/1099-1573(200011)14:7<549::aid-ptr623>3.0.co;2-t).

BIZZO, H. R.; HOVEL, A. M.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. São Paulo: *Química Nova*, 2009, v. 32, n. 3, p. 588-594. Doi: 10.1590/s0100-40422009000300005.

BKAILY G, JACQUES D. Calcium Homeostasis, Transporters, and Blockers in Health and Diseases of the Cardiovascular System. *Int J Mol Sci.* 2023 May 15;24(10):8803. doi: 10.3390/ijms24108803. PMID: 37240147; PMCID: PMC10218565.

BONIL, L. N.; BUENO, S. M. *Plantas medicinais: benefícios e malefícios*. União das Faculdades dos Grandes Lagos. UNILAGO: 2017.

BORSATO, A. V.; DONI-FILHO, L.; AHRENS, D. C. Secagem da camomila [*Chamomilla recutita* (L.) *Rauscherf*] com cinco temperaturas do ar. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 2005, v. 7, n. 2, p. 77-85.

BOSCH M, MARI M, GROSS SP, FERNANDEZ-CHECA JC, POL A. Mitochondrial cholesterol: a connection between caveolin, metabolism, and disease. *Traffic*. 2011;12:1483-1489. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2011.01259.x>.

BRASIL. Portaria interministerial nº 2.960, de 09 de dezembro de 2008. *Ministério da Saúde*. Gabinete do Ministro. Aprova o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e cria o Comitê Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. 2008.

BRASIL. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde. Brasília: *Ministério da Saúde*, 2012. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica; n. 31).

BRASIL. Resolução RDC nº 26, de 13 de maio de 2014. *Agência Nacional de Vigilância Sanitária*. ANVISA, Brasília, 2014.

BRAZIL. Formulário de Fitoterápicos Farmacopeia Brasileira. *Ministry of Health*, First Ed. ANVISA, Brasília, 2011.

BRISKIN, D. P. Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. *Plant Physiology*, 2000, v. 124, p. 507-514.

BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. DE M. 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 & Saúde Coletiva*, 2012, v. 17, n. 10, p. 2675–2685.

BUENO, C. C. *et al.* Perfil da exportação e importação de óleos essenciais no Brasil, entre os anos de 2020 e 2021, e a predominância do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* no Paraná. *Research Society and Development*, 2021, v. 10, n. 13.

BURTT, B. L.; SMITH, R. M. Key species in the taxonomic history of Zingiberaceae. *Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh*, 1972, v. 31, p. 177-227.

CALCABRINI, A. *et al.* Terpene-4-ol, the main component of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil inhibits the in vitro growth of human melanoma cells. *Journal of Investigative Dermatology*, 2004, v. 122, n. 2, p. 349-360.

CAMARGO, M. T. L. A. Estudo etnofarmacobotânico de *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt. & R.M.Sm. Zingiberaceae, empregada na medicina popular e em rituais afro-brasileiro. *Herbarium: Estudos de Etnofarmacobotânica*. 2004.

CALLEJA, Miguel Angel *et al.* The antioxidant effect of β -caryophyllene protects rat liver from carbon tetrachloride-induced fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation. *British journal of nutrition*, v. 109, n. 3, p. 394-401, 2013.

CÂNDIDO, J. F., dos SANTOS MENESES, D. C., DE CARVALHO-NETO, J. N., XAVIER-FILHO, L., & CÂNDIDO, E. A. F. (2017a). Subacute and Chronic Treatment with Herbal Medicine Essential Oil the *Alpinia Zerumbet* Associated with Kinesiotherapy on Patient with Muscle Spasticity: Cases Series. *International Journal of Research Studies in Biosciences* 2017b, 5(9), 1-6.

CÂNDIDO, J. F., LOPES, R. D. A., XAVIER-FILHO, L., & CÂNDIDO, E. A. F. (2017b). Influence of *Alpinia zerumbet* essential oil in the kinesiotherapeutic treatment of patients

with syndrome pyramidal. *International Journal Development Research*, 10(7), 15837-15843.

CARDOSO, B. M. *Levantamento etnobotânico no bairro centro da cidade Governador Mangabeira - BA*. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Faculdade Maria Milza - FAMAM, Governador Mangabeira, 2016.

CARDOSO, N. A. *Efeitos comportamentais e neuroquímicos do beta-cariofileno em modelos experimentais de ansiedade e depressão em camundongos*. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2018.

CARLESSO, V. D. O.; BERBERT, P. A.; SILVA, R. F. D.; DETMANN, E. Avaliação de modelos de secagem em camada fina de sementes de maracujá amarelo. *Revista Brasileira de Sementes*, 2007, v. 29, n. 2, p. 28-37.

CARNEIRO, F. M.; SILVA, J. P. F.; BORGES, L. L.; ALBERNAZ, L. C.; COSTA, J. D. P. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. *Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais*, 2014, v.3, n.2, p. 44-75.

CARVALHO, G. G. A. DE. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds from berry seeds. Food and Nutrition Science. *Department of Biology and Biological Engineering Chalmers University of Technology*, Gothenburg, Sweden, 2018.

CARVALHO, M. S. *Produção de polpa de abóbora em pó pelo processo de secagem em leito de espuma*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, 2014.

CASCON, V. Copaiba - *Copaifera* spp. In: CARVALHO, J. C. T. Fitoterápicos antiinflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004.

CASTRO, K. N. C. *et al.* Composição química e eficácia do óleo essencial e do extrato etanólico de *Alpinia zerumbet* sobre *Staphylococcus aureus*. *Arq. Inst. Biol.*, 2016, v. 83, p. 1-7. Doi: 10.1590/1808-1657000192014.

CASTRO, K. N. *et al.* In vitro efficacy of essential oils with different concentrations of 1,8-cineole against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev Bras Parasitol Vet.*, 2018; v. 27, n. 2.

CATTERALL, W. A., PEREZ-REYES, E., SNUTCH, T. P., & STRIESSNIG, J. (2005). International Union of Pharmacology. XLVIII. Nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated calcium channels. *Pharmacological Reviews*, 2005, v. 57, n. 4, p. 411-425. Doi: <https://doi.org/10.1152/physrev.00005.2005>.

CATTERALL, W.A.; FEW, A.P. Calcium channel regulation and presynaptic plasticity. *Neuron*: 2008, v. 59, p. 882–901.

CAULFIELD ME, MANFREDSSON FP, STEECE-COLLIER K. The Role of Striatal Cav1.3 Calcium Channels in Therapeutics for Parkinson's Disease. *Handb Exp Pharmacol*. 2023;279:107-137. doi: 10.1007/164_2022_629. PMID: 36592226.

CAVALCANTI, B. C. *et al.* Avaliação toxicológica genética do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* e seus efeitos quimioprotetores contra danos ao DNA induzidos por H(2)O(2)

em leucócitos humanos cultivados. *Toxicol Químico Alimentar*. 2012, v. 50, n. 11. Doi: 10.1016/j.fct.2012.03.038.

CERQUEIRA, F.L.; JUNIOR, R. L. C. A; ZINI, C. A.; CARAMAO, E. B.; CÂNDIDO, E. A. F. Efeitos da cinesioterapia associada ao bioproduto baseado no óleo essencial de *Alpinia zerumbet* no tecido colágeno espástico muscular de ratos após lesão na medula espinhal. *InterSciencePlace*, 2015, v. 10, p. 127-206.

CHATOW L. *et al.* In Vitro Evaluation of the Activity of Terpenes and Cannabidiol against Human Coronavirus E229. *Life (Basel)*, 2021, v. 11. Doi: <https://doi.org/10.3390/LIFE11040290>.

CHEN Y. *et al.* In vitro antiviral activity of germacrone against porcine parvovirus. *Arch Virol*, 2015. Doi: <https://doi.org/10.1007/S00705-015-2393-3>.

CHENG, Yujie; DONG, Zhi; LIU, Sha. β -Caryophyllene ameliorates the Alzheimer-like phenotype in APP/PS1 Mice through CB2 receptor activation and the PPAR γ pathway. *Pharmacology*, v. 94, n. 1-2, p. 1-12, 2014.

CHERUBIM, D. J. L.; MARTINS, C. V. B.; FARIÑA, L. O.; DE LUCCA, R. A. S. Polyphenols as natural antioxidants in cosmetics applications. *J Cosmet Dermatol*, 2019. Doi: 10.1111/jocd.13093.

CHERUBINI A. *et al.* Human ether-a-go-go-related Gene 1 Channels Are Physically Linked to β 1 Integrins and Modulate Adhesion-dependent Signaling. *Molecular Biology of the Cell*, 2005, v. 16. Doi: <https://doi.org/10.1091/MBC.E04-10-0940>.

CHIANG, L. C.; NG, L.T.; CHENG, P. W.; CHIANG, W.; LIN, C.C. Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of *Ocimum basilicum*. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2005, v. 32. Doi: <https://doi.org/10.1111/J.1440-1681.2005.04270.X>.

CHOI, In-Young *et al.* Activation of cannabinoid CB2 receptor–mediated AMPK/CREB pathway reduces cerebral ischemic injury. *The American journal of pathology*, v. 182, n. 3, p. 928-939, 2013.

CLAXTON L. D.; DE UMBUZEIRO G. A.; DEMARINI D. M. The salmonella mutagenicity assay: The stethoscope of genetic toxicology for the 21st century. *Environmental Health Perspectives*, 2010. Doi: <https://doi.org/10.1289/ehp.1002336>.

CONAB. *Série histórica das safras*. CONAB: 2018. [Acesso em: 05 abril 2023]. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras>.

CONTER, L. U. *et al.* Screening de plantas nativas do rio grande do sul quanto ao seu potencial citotóxico na linhagem celular de carcinoma epidermoide de boca. *Revista de Iniciação Científica da ULBRA*, v. 1, n. 13, 2015.

COOPER, D.; DIMRI, M. Biochemistry, Calcium Channel. Treasure Island (FL): *StatPearls Publishing*, 2023.

CORRÊA JUNIOR., C.; SCHEFFER, M. C.; LIN CHAU MING. *Cultivo agroecológico de plantas medicinais, aromáticas e condimentares*. Brasília: Ministério do Desenvolvimento Agrário, 2006.

CORREA, A. J. C.; LIMA, C. E.; COSTA, M. C. C. D.. *Alpinia zerumbet* (Pers.) B. L. Burt & 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, v. 12, n. 1, p. 113–119.

CORRÊA, R. M.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, J. E. B. P.; REIS, É. S.; ALVES, T. L. Rendimento de óleo essencial e caracterização organoléptica de folhas de assa-peixe submetidas a diferentes métodos de secagem. Lavras: *Ciência e agrotecnologia*, 2004. v. 28, n. 2, p. 339-344.

COSIMA C. H. *et al.* 1,8-cineole (eucalyptol): A versatile phytochemical with therapeutic applications across multiple diseases, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Volume 167, 2023, 115467, ISSN 0753-3322.

COSTA, A. V. *et al.* Efeito moluscicida do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) sobre *Lymnaea columela* (Say, 1817) e *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny, 1835). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 2015, v.17, n. 4, p. 707-712.

COSTA, R. B. G. M. *et al.* Molecular Docking *in silico* Analysis of Brazilian Essential Oils Against Host Targets and SARS-CoV-2 Proteins. *J. Braz. Chem. Soc.*, 2022, Vol. 33, nº. 10, p. 1219-1235. Doi: 10.21577/0103-5053.20220043.

DA SILVEIRA E SÁ, R. C.; ANDRADE, L.; DE SOUSA, D. A Review on Anti-Inflammatory Activity of Monoterpenes. *Molecules*, 2013, v. 18, n. 1, p. 1227–1254.

DAHLGREN, R. M. T.; CLIFFORD, H. T.; YEO, P. F. The families of the Monocotyledons Structure, Evolution and Taxonomy. Berlim. *Springer - Verlag*. 1985.

DAINA A; MICHELIN O; ZOETE V. SWISSADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 2017, v. 7, p. 1–13. Doi: <https://doi.org/10.1038/srep42717>.

DAMINI, W. *Extração de óleos essenciais através da destilação por arraste a vapor utilizando materiais alternativos*. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) - Fundação Educacional do Município de Assis - FEMA/ Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis - IMESA, Assis, 2003.

DANG, H. N. P.; QUIRINO, J. P. Analytical Separation of Carcinogenic and Genotoxic Alkenylbenzenes in Foods and Related Products (2010–2020). *Toxins*, [s. l.], 2021. v. 13, n. 6, p. 387.

DE ANDRADE, T. U.; BRASIL, G. A.; ENDRINGER, D. C.; DA NÓBREGA, F. R.; DE SOUSA, D. P. Cardiovascular Activity of the Chemical Constituents of Essential Oils. *Molecules*, 2017, v. 22. Doi: 10.3390/molecules22091539.

DE GRANDIS, R. A. Avaliação da atividade mutagênica de complexos heteroléticos de Rutênio (II) com atividade anti - *Mycobacterium tuberculosis*. *Aleph*, p. 55 f., 15 dez. 2015.

DE OLIVEIRA, Danilo R. *et al.* Monoamine involvement in the antidepressant-like effect of β -caryophyllene. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, v. 17, n. 4, p. 309-320, 2018.

DEGENHARDT, J.; KÖLLNER, T. G.; GERSHENZON, J. Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, 2009, v. 70, p. 1621-1637.

DELGADO-BETANCOURT V, *et al.* Heart rate reduction after genetic ablation of L-type Cav1.3 channels induces cardioprotection against ischemia-reperfusion injury. *Front Cardiovasc Med.* 2023 Aug 1;10:1134503. doi: 10.3389/fcvm.2023.1134503. PMID: 37593151; PMCID: PMC10429177.

DEWANJEE, S. *et al.* Natural products as alternative choices for P-glycoprotein (P-gp) inhibition, 2017, vol. 22. Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules22060871>.

DEWHIRST, F. E. Structure-activity relationships for inhibition of prostaglandin cyclooxygenase by phenolic compounds. *Elsevier*, 1980, v. 20, n. 2, p. 209-222. Doi: 10.1038/nrn.2016.178.

DEWICK, P.M. The biosynthesis of C5-C25 terpenoid compounds. *Nat. Prod. Rep.* 2002, v. 19, n° 2, p. 181–222.

DOLABELA, M. F. *et al.* Estudo *in silico* das atividades de triterpenos e iridoides isolados de *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson. *Revista Fitos* 2018; 12. Doi: <https://doi.org/10.17648/2446-4775.2018.602>.

DOLPHIN, A. C. Voltage-gated calcium channels: their discovery, function and importance as drug targets. *Brain Neurosci Adv.* 2018. Doi: 10.1177/2398212818794805.

DONADU, M. G. *et al.* Phytochemical Compositions and Biological Activities of Essential Oils from the Leaves, Rhizomes and Whole Plant of *Hornstedtia bella* Škorničk. *Antibiotics* 2020, v. 9, p.1–16. Doi: <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS9060334>.

DONG, W. *et al.* Comparative evaluation of the volatile profiles and taste properties of roasted coffee beans as affected by drying method and detected by electronic nose, electronic tongue, and HS-SPME-GC-MS, *Food Chemistry*, 2019, v. 272, p. 723-731, ISSN 0308-8146. Doi: 10.1016/j.foodchem.2018.08.068.

DOTANI, M. A. *Atividade inseticida, antifúngica e herbitóxina dos óleos essenciais de Eucalyptus citriodora e Cymbopogon nardus*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2010.

DUNKIĆ, V.; VUKO, E.; BEZIĆ, N.; KREMER, D.; RUŠČIĆ, M. Composition and antiviral activity of the essential oils of *Eryngium alpinum* and *E. amethystinum*. *Chem Biodivers* 2013, v.10. Doi: <https://doi.org/10.1002/CBDV.201300061>.

DUNKIĆ, V.; BEZIĆ, N.; VUKO, E.. Antiphytoviral activity of essential oil from endemic species *Teucrium arduini*. *Natural product communications*, v. 6, n. 9, p. 1934578X1100600940, 2011.

EBADI, M. T.; AZIZI, M.; SEFIDKON, F.; AHMADI, N. Influence of different drying methods on drying period, essential oil content and composition of *Lippia citriodora* Kunth. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2015, v. 2, Issue 4, p. 182-187, ISSN 2214-7861. Doi: 10.1016/j.jarmap.2015.06.001.

EL ASBAHANI, A. *et al.* Essential oils: from extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 2015, 483(1-2): 220-243. Doi: 10.1016/j.ijpharm.2014.12.069.

ELMAIDOMY, A. H. *et al.* Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities of Terpene- and Polyphenol-Rich *Premna odorata* Leaves on Alcohol-Inflamed Female Wistar Albino Rat Liver. *Molecules*, 2020, 25:3116. Doi: <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25143116>.

ELZAAWELY, A. A.; XUAN, T. D.; TAWATA, S. Essential oils, kava pyrones and phenolic compounds from leaves and rhizomes of *Alpinia zerumbet* and their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 2007, v. 103, n. 2, p. 486-494.

ELZAAWELY, A.; XUAN, T.; KOYAMA, H.; TAWATA, S. 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 Chem*, 2007, 104, 1648–1653.

ERTL, P.; SCHUFFENHAUER, A. Estimation of synthetic accessibility score of drug-like molecules based on molecular complexity and fragment contributions. *Journal of Cheminformatics* 2009, 1:8. Doi: <https://doi.org/10.1186/1758-2946-1-8>.

FALLEH, H.; JEMAA, M. B.; SAADA, M.; KSOURI, R. Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. *Food Chem*, 2020. Doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127268.
FARAG, R. S. *et al.* Chemical and Biological Evaluation of the Essential Oils of Different *Melaleuca* Species. *Phytotherapy Research* 2004, 18:30–5. Doi: <https://doi.org/10.1002/PTR.1348>.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. *Química Nova na Escola*, 2017, v. 39, n. 2, p. 120-130.

FELIPE, Lorena de Oliveira; BICAS, Juliano Lemos. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. São Paulo, SP: Química e Sociedade. Vol. 39, N° 2, p. 120-130, MAIO 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/0104-8899.20160068>.

FENG, J. *et al.* In Vitro Antiviral Activity of Germacrone Against Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus. *Curr Microbiol* 2016, 73:317–23. Doi: <https://doi.org/10.1007/S00284-016-1042-8>.

FERREIRA, A. R. A. *Uso de óleos essenciais como agentes terapêuticos*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, 2014.

FERREIRA, L. G.; SANTOS R. N. dos; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules* 2015, 20:13384. Doi: <https://doi.org/10.3390/MOLECULES200713384>.

FIDYT K, FIEDOROWICZ A, STRZĄDAŁA L, SZUMNY A. β -caryophyllene and β -caryophyllene oxide-natural compounds of anticancer and analgesic properties. *Cancer Med*. 2016 Oct;5(10):3007-3017. doi: 10.1002/cam4.816. Epub 2016 Sep 30. PMID: 27696789; PMCID: PMC5083753.

FIDYT, Klaudyna *et al.* β -caryophyllene and β -caryophyllene oxide—natural compounds of anticancer and analgesic properties. *Cancer medicine*, v. 5, n. 10, p. 3007-3017, 2016.

FIGUEIREDO, Pedro Thiago Ramalho, *et al.* Avaliação das possíveis interações por Docking Molecular dos Fitoconstituintes do Óleo Essencial de *Rosmarinus Officinalis* L. Em Enzimas de *Candida* SPP. Cajazeiras: *Revista Interdisciplinar em Saúde*, 2020, v. 7, n. 1, p. 1461-1479, ISSN: 2358-7490. Doi: 10.35621/23587490.v7. n1.p1461-1479.

FILHO, J. E. R. de M. *Os isômeros do isopulegol bloqueiam canais para cálcio tipo-L e atenuam a hipertrofia cardíaca em rato: via PKA e ERK 1/2*. Universidade Federal de Sergipe, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. Aracaju, SE: 2019.

FIORAVANTI C. A maior diversidade de plantas do mundo. *Revista Pesquisa Fapesp*, Ed. 241, mar. 2016.

FLAVELL, S.W.; GREENBERG, M. E. Signaling mechanisms linking neuronal activity to gene expression and plasticity of the nervous system. *Annu Rev Neurosci*, 2008, v. 31, p. 563–590.

FOGLIO, M. A.; QUEIROGA, C. L.; SOUSA, I. D. O.; RODRIGUES, R. A. F. Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: um modelo multidisciplinar. *Construindo a história dos produtos naturais*, 2006, v. 7, p. 1-8.

FOWLER, K.; FIELDS, W.; HARGREAVES, V.; REEVE, L.; BOMBICK, B. Development, qualification, validation and application of the Ames test using a VITROCELL® VC10® smoke exposure system. *Toxicology Reports*, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.04.003>.

FREITAS, A. S. de; SILVA, V. M. S. da. Estudo das propriedades medicinais e o uso de algumas plantas encontradas no campus da Universidade Federal do Mato Grosso. *Revista Biodiversidade*, 2023, v. 22, n. 2.

FRIDOLFSSON HN, ROTH DM, INSEL PA, PATEL HH. Regulation of intracellular signaling and function by caveolin. *FASEB J*. 2014;28:3823-3831. Doi: <https://doi.org/10.1096/fj.14-252320>.

GAN, L.; COOKSON, M. R.; PETRUCCELLI, L.; LA SPADA, A. R. Converging pathways in neurodegeneration, from genetics to mechanisms. *Nat. Neurosci*. 2018, 21, 1300–1309.

GAROFULIĆ, I. E. *et al*. Phenolic Profile, Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity of Nettle Leaves Extracts Obtained by Advanced Extraction Techniques. *Molecules*, 2021, v. 26. Doi: 10.3390/molecules26206153.

GERTSCH, Jürg *et al*. Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 105, n. 26, p. 9099-9104, 2008.

GHAREEB, M.; SOBEH, M.; REZQ, S.; EL-SHAZLY, A.; MAHMOUD, M.; WINK, M. HPLC-ESI-MS/MS Profiling of Polyphenolics of a Leaf Extract from *Alpinia zerumbet* (Zingiberaceae) and Its Anti-Inflammatory, Anti-Nociceptive, and Antipyretic Activities *In Vivo*. *Molecules*, 2018, v. 23.

GHELARDINI, Carla *et al*. Local anaesthetic activity of the essential oil of *Lavandula angustifolia*. *Planta medica*, v. 65, n. 08, p. 700-703, 1999.

GHOSH, S. *et al*. Chemical composition and bioactivity studies of *Alpinia nigra* essential oils. *Ind. Crops Prod.*, 2014, v. 53, p. 111–119. Doi: 10.1016/j.indcrop.2013.12.026.

GONÇALVES, A. A. *Cinética de secagem das folhas de amora preta (Morus nigra L.)*. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD, Dourados, 2017.

GONÇALVES, Á. P. *et al*. 1,8-Cineole blocks voltage-gated L-type calcium channels in tracheal smooth muscle. *Pflügers*, 2018, v. 470, n. 12, p. 1803-1813. Doi: 10.1007/s00424-018-2201-5.

GOTTLIEB, O. R. MAGALHÃES, M. T. Isolation of piperonylic acid from *Ocotea pretiosa* Mez. *Nature*, [s. l.], 1958, v. 182, n. 4637, p. 742-743.

GUENTHER, E. The Essential Oils: vol 1: history - origin in plants - production - analysis. New York: *Nostrand Company*, 1948. p. 427.

GULCIN, I. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, 2020, v. 94, n. 3, p. 651-715. Doi: 10.1007/s00204-020-02689-3.

GUO, Kexin *et al.* Trans-caryophyllene suppresses hypoxia-induced neuroinflammatory responses by inhibiting NF- κ B activation in microglia. *Journal of molecular neuroscience*, v. 54, n. 1, p. 41-48, 2014.

HAHS, A. A. H. L.; ABBAS, Z. K.; SABRA, A. S.; TKACHENKO, K. G. Essential Oil Composition of Hyssopus Of cinalis L. Cultivated in Serbia. *Int J Plant Res*, 2015, p. 49–53.

HARVEY, A. L. *et al.* What can toxins tell us for drug discovery?. *Toxicon*, 1998, v. 36, n. 11, p. 1635-1640.

HASSANIN, O.; ABDALLAH, F.; A. A. GALAL A. In vitro and in vivo experimental trials to assess the modulatory influence of β -caryophyllene on NDV replication and immunopathogenesis. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/J.CIMID.2020.101547>.

He, W. *et al.* Antiviral Activity of Germacrone against Pseudorabies Virus in Vitro. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 8(4), 258, 2019. Doi: <https://doi.org/10.3390/pathogens8040258>

HII, C. L; JANGAM, S. V.; ONGAND, S. P.; MUJUMDAR, A. S. Solar drying: Fundamentals, applications and innovations. *TPR Group Publication*, Singapore, 2012.

HO, C. L. *et al.* Composition and antifungal activities of the leaf essential oil of *Neolitsea parvigemma* from Taiwan. *Natural Product Communications*, v. 6, n. 9, p. 1357-1360, 2011.

HOKAMA, K. On the essential oil in the leaves of *Alpinia speciosa* K. Schum. *Bulletin of Arts & Science Division, University of the Ryukyus*, v. 8, p. 65-76, 1965.

HOPP, R.; LAWRENCE, B. M. *In: LAWRENCE, B. M. The Genus Mentha. Boca Raton: CRC Press*, 2007. p. 371-397.

HOUGHTON, P. J.; RAMAN, A. Laboratory handbook for the fractionation of natural extracts, *Chapman & Hall*, London, 1998.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R. L. Óleos essenciais na preservação de alimentos: modo de ação, sinergias e interações com componentes da matriz alimentar. *Fronteiras em microbiologia*, 2012, v. 3, p. 12.

INDRAYAN, A. K.; TYAGI, P. K.; AGRAWAL, N. K. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Alpinia speciosa* K. Schum. Rhizome From India: *J. Essent. Oil Res*, 2010, v. 22, p.179–182. Doi: 10.1080/10412905.2010.9700297.

IRRERA N., D'ASCOLA A., PALLIO G., BITTO A., MANNINO F., ARCORACI V., ROTTURA M., IENI A., MINUTOLI L., METRO D., *et al.* β -Caryophyllene Inhibits Cell Proliferation through a Direct Modulation of CB2 Receptors in Glioblastoma Cells. *Cancers*. 2020;12:1038. doi: 10.3390/cancers12041038.

ITC - INTERNATIONAL TRADE CENTRE. *Trade Map - Trade Statistics for International Business Development*. [acessado em 25 out 2023]. Disponível em: <<https://www.trademap.org/Index.aspx>>.

IVANOVIĆ, M.; MAKOTER, K.; RAZBORŠEK, M. I. Comparative Study of Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils and Crude Extracts of Four Characteristic Zingiberaceae Herbs. *Plants*, 2021. Doi: 10.3390/plants10030501.

JADUMONI SAIKIA et al. Effect of postharvest drying on physicochemical properties, volatile yield, composition, and sensory attributes of *Alpinia zerumbet* (shell ginger) rhizome. *Industrial Crops and Products*, v. 198, p. 116719–116719, 1 ago. 2023.

JARUNGLUMLERT, T., NAKAGAWA, K; ADACHI, S. Influence of aggregate structure of casein on the encapsulation efficiency of β -carotene entrapped via hydrophobic interaction. *Food Structure* 2015, v. 5, p. 42–50. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2015.05.001>.

JHA, N. K., et al. β -Caryophyllene, A Natural Dietary CB2 Receptor Selective Cannabinoid can be a Candidate to Target the Trinity of Infection, Immunity, and Inflammation in COVID-19. *Front Pharmacol*, 2021, v. 12. Doi: <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2021.590201>.

Jl, Y. et al. Essential oil from Fructus *Alpinia zerumbet* (fruit of *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burt. et Smith) protected against aortic endothelial cell injury and inflammation *in vitro* and *in vivo*. *J. Ethnopharmacol*, 2019, v. 237, p. 149–158. Doi: 10.1016/j.jep.2019.03.011.

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

JOLIVI. De A a Z: a enciclopédia das plantas medicinais. São Paulo: Jolivi Publicações, 2020. ISBN: 978-65-86323-02-3.

JOYCHARAT, N.; GREGER, H.; HOFER, O.; SAIFAH, E; Flavaglines and triterpenoids from the leaves of *Aglaia forbesii*. *Phytochemistry*, 2008, v. 69. Doi: <https://doi.org/10.1016/J.PHYTOCHEM.2007.06.016>.

JUERGENS, U. R. et al. Anti-inflammatory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. *Respiratory Medicine*, 2003, v. 97, n. 3, p. 250–256.

JÚNIOR, P. S. S. et al. Alterações físico-químicas e biológicas dos óleos essenciais das folhas *Alpinia zerumbet* a partir de diferentes temperaturas de secagem. *Brazilian Journal of Development*, 2020, v. 6, n. 4, p. 22392–22403.

JÚNIOR, P. S. S. et al. Atividade larvívora do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti*. *Society and Development*, 2020, v. 9, n. 8, e1945578. Doi: 10.33448/rsd-v9i8.5578.

JUNIOR, W. A. et al. Antiproliferative effects of pinostrobin and 5,6dehydrokavain isolated from leaves of *Alpinia zerumbet*. *Rev Bras Farmacogn*, 2017, v. 27, n. 5, p. 592.

KAWAI, H. et al. Improved yield and antioxidant activity of essential oil from *Alpinia zerumbet* (Zingiberaceae) leaves by underwater shockwave pretreatment. *Food and Bioprocess Processing*, 2020. Doi: 10.1016/j.fbp.2020.11.003.

Kinesiotherapy on Patient with Muscle Spasticity: Cases Series. *International Journal of Research Studies in Biosciences*, 2017, v. 5, p. 1-6. Doi: <http://dx.doi.org/10.20431/2349-0365.0510001>.

KITAOKA, N., Lu, X., YANG, B., PETERS, R. J. The Application of Synthetic Biology to Elucidation of Plant Mono-, Sesqui-, and Diterpenoid Metabolism. *Molecular Plant*, 2015, v. 8, n° 1, p. 6-16.

KOBAYASHI, Cristine *et al.* Pharmacological evaluation of *Copaifera multijuga* oil in rats. *Pharmaceutical biology*, v. 49, n. 3, p. 306-313, 2011.

KOVAČEVIĆ, Strahinja Z. *et al.* Prediction of in-silico ADME properties of 1, 2-O-isopropylidene aldohexose derivatives. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, v. 13, n. 3, p. 899, 2014.

KOZIOL, A. *et al.* An overview of the pharmacological properties and potential applications of natural monoterpenes. *Mini-Rev. Med. Chem*, 2014, v. 14.

KRISHNAIAH, D.; SARBATLY, R.; NITHYANANDAM, R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*, 2011, v. 89, n. 3, p. 217-233.

KURAYA, E.; MIYAFUJI, Y.; TAKEMOTO, A.; ITOH, S. The effect of underwater shock waves on steam distillation of *Alpinia zerumbet* leaves. *Trans. Mater. Res. Soc. Japan*, 2014, 39, 447–449. Doi: 10.14723/tmrj.39.447.

LAHLOU, S.; INTERAMINENSE, L. F. L.; CARDOSO, J. H. L.; DUARTE, G. P. Antihypertensive effects of the essential oil of *Alpinia zerumbet* and its main constituent, terpinen-4-ol, in DOCA-salt hypertensive conscious rats. *Fundamental and clinical pharmacology*, 2003, v. 17, n. 3, p. 323-330.

LARSEN, Kai *et al.* Zingiberaceae. In: *Flowering Plants· Monocotyledons: Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1998. p. 474-495.

LENCINA, P. C. de O.; VILAVERDE, A. G.; MEIRELES, A. L. F. Uso do óleo essencial derivado da *Alpinia zerumbet* na espasticidade decorrente de lesão nervosa central – Uma revisão sistemática. *Vittale – Revista de Ciências da Saúde*, 2020, v. 32, n. 3, 214-224.

LI, L., XIE, Q., BIAN, G., ZHANG, B., WANG, M., WANG, Y. & Li, Y. Anti-H1N1 viral activity of three main active ingredients from zedoary oil. *Fitoterapia*, 142, 104489, 2020.

LIAO, Q.; QIAN, Z.; LIU, R.; NA, L.; CHEN, X. Germacrone inhibits early stages of influenza virus infection. *Antiviral Res*, 2013, v. 100. Doi: <https://doi.org/10.1016/J.ANTIVIRAL.2013.09.021>.

LIMA, E. O.; GOMPERTZ, O. F.; GIESBRECHT, A. M.; PAULO, M. Q. *In vitro* antifungal activity of essential oils obtained from officinal plants against dermatophytes. *Mycoses*, 2019, v. 36, p. 333–336. Doi: 10.1111/j.1439-0507.1993.tb00777.x.

LIMA, R. A. B. *Análise da secagem convectiva das folhas de manjeriço (Ocimum basilicum L.)*. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2013.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings PII of original article: S0169-409 X (96)00423-1. *Advanced Drug Delivery Review*, 2001, v. 46. Doi: [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(00)00129-0).

LIU, Hao *et al.* Neuroprotective effects of trans-caryophyllene against kainic acid induced seizure activity and oxidative stress in mice. *Neurochemical research*, v. 40, n. 1, p. 118-123, 2015.

LIU, Y. *et al.* Terpinen-4-ol Protects against MPP⁺-Induced Neurotoxicity by Regulating the PI3K/Akt Pathway and BDNF Expression in SH-SY5Y Cells. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2020, v. 70, n. 9, p. 1412-1422.

LOIZZO, M. R. *et al.* Antiproliferative effects of essential oils and their major constituents in human renal adenocarcinoma and amelanotic melanoma cells. *Cell Proliferation*, v. 41, n. 6, p. 1002-1012, 2008.

LOIZZO, M. R., *et al.* Phytochemical analysis and in vitro evaluation of the biological activity against herpes simplex virus type 1 (HSV-1) of *Cedrus libani* A. Rich. *Phytomedicine*, 2008, v. 15, p. 79–83. Doi: <https://doi.org/10.1016/J.PHYMED.2007.03.013>.

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

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. *Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras*. 3a. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2001.

MA, K. *et al.* Terpinen-4-ol alleviates LPS-induced cognitive dysfunction by modulating NF-κB and Nrf2 signaling pathways. *Neuroscience Letters*, 2017, v. 661, p. 57-63.

MACEDO I. T. F. *et al.* Efeitos in vitro dos óleos essenciais *Coriandrum sativum*, *Tagetes minuta*, *Alpinia zerumbet* e *Lantana camara* em *Haemonchus contortus*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 2013, 22, p. 463-469.

MACHADO K.C., ISLAM M.T., ALI E.S., ROUF R., UDDIN S.J., DEV S., SHILPI J.A., SHILL M.C., REZA H.M., Das A.K., *et al.* A Systematic Review on the Neuroprotective Perspectives of Beta-Caryophyllene. *Phytother. Res.* 2018;32:2376–2388. doi: 10.1002/ptr.6199.

MAGALHÃES, M.; MANADAS, B.; EFFERTH, T.; CABRAL, C. Chemoprevention and therapeutic role of essential oils and phenolic compounds: Modeling tumor microenvironment in glioblastoma. *Pharmacological Research*, 2021. Doi: 10.1016/j.phrs.2021.105638.

MAIA, J. R. P. *et al.* Investigation of terpinen-4-ol effects on vascular smooth muscle relaxation. *Life Sci.* 2014 Oct 12;115(1-2):52-8. doi: 10.1016/j.lfs.2014.08.022. Epub 2014 Sep 16. PMID: 25219882.

MAIA, J.G.S. SILVA, M. L.; LUZ, A. I. R.; ZOGHBI, M. G. B.; RAMOS, L. S. Espécies de Piper da Amazônia ricas em safrol. *Química Nova*, 1987, v. 10, n. 3, p. 200-204.

MAIA, M. O. N.; DANTAS, C. G.; XAVIER FILHO, L.; CÂNDIDO, E. A. F.; GOMES, M. Z. The effect of *Alpinia zerumbet* essential oil on post-stroke muscle spasticity. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol*, 2016, v. 118, p. 58–62. Doi: 10.1111/bcpt.12439.

Mallmann, M. P.; Mello F. K.; Neuberger B.; Sobral K. G. da C.; Figuera M. R.; Royes L. F. F.; Furian A. F.; Oliveira M. S. Beta-caryophyllene attenuates short-term recurrent seizure activity and blood-brain-barrier breakdown after pilocarpine-induced status epilepticus in rats, *Brain Research*, Volume 1784, 2022, 147883, ISSN 0006-8993, <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2022.147883>.

MARINHO, M. L.; ALVES, M. S.; RONDONDANO, T. E. F.; VIDAL, I. F.; SILVA, W. W.; ATHAÍDE, A. C. R. A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária: um resgate do saber popular. *Revista Brasileira de Plantas Médicas*, 2007, v. 9, n. 3, p. 64-69.

MARMITT, D. J. *et al.* Revisión sistemática de las plantas de interés para el Sistema de Salud con potencial terapéutico cardiovascular. *Plantas Medicinales*, v. 21, n. 1, p. 108-124, 2016.

MARRAS, C.; BECK, J. C.; BOWER, J. H. Parkinson's Foundation P4 Group. Prevalence of Parkinson's disease across North America. *NPJ Parkinsons Dis*, 2018; 4:21. Doi: 10.1038/s41531-018-0058-0.

MARTIN, Y. C. A bioavailability score. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2005, v. 48. Doi: <https://doi.org/10.1021/JM0492002>.

MARTINS, A. G. L. A. *Atividade antimicrobiana nos óleos essenciais do manjeriço (Ocimum basilicum Linnaeus) e do gengibre (Zingiber officinale Roscoe) frente a linhagens de Escherichia coli enteropatogênicas isoladas de hortaliças*. Tese (Doutorado Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de João Pessoa, João Pessoa, 2010.

MASHKANIA, M. R. D.; LARIJANIB, K.; MEHRA FARINC, A.; BADIC, H. N. Changes in the essential oil and content and composition of *Thymus daenensis* Celak under different drying methods. *Industrial Crops and Products*, 2018, v. 112, p. 389-395.

MATSUCHITA, Hugo Leonardo Pereira; MATSUCHITA, Ana Silvia Pereira. A Contextualização da Fitoterapia na Saúde Pública. *UNICIÊNCIAS*, 2015, v.19, n.1, p.86-92.

MCMURRY, J. *Química Orgânica - Combo*. São Paulo: Cengage Learning, 2011, 7° Ed. 1344 p.

MEHTA, D.; JACKSON, R.; PAUL, G.; SHI, J.; SABBAGH, M. Why do trials for Alzheimer's disease drugs keep failing? A discontinued drug perspective for 2010-2015. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2017, v. 26, p. 735–739.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; DE LIMA, V. L. A. G.; DO NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* 2008, 2 ed, v. 44. Doi: 10.1590/S1516-93322008000200005.

MELO, E. C.; RADUNZ, L. L.; MELO, R. C. A. Influência do processo de secagem na qualidade de plantas medicinais - Revisão. *Engenharia na Agricultura*, 2004, v. 12, n. 4, p. 307-315.

MENDES, F. R. S. *et al.* Essential oil of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt. & R.M. Sm. (Zingiberaceae): chemical composition and modulation of the activity of aminoglycoside antibiotics. *J. Essent. Oil Res.*, 2015, v. 27, p. 259–263. Doi: 10.1080/10412905.2015.1014935.

MENDONÇA, V. L. M.; OLIVEIRA, C. L. C.; CRAVEIRO, A. A.; RAO, V. S.; FONTELES, M. L. Pharmacological and toxicological evaluation of *Alpinia speciosa*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1991, v. 86, p. 93-97.

MENG-ZHEN, S.; JU, L. *et al.* Potential therapeutic use of plant flavonoids in AD and PD. *Heliyon*, 2022, v. 8, e11440. Doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e11440.

MENG, X.Y.; ZHANG, H.X.; MEZEI, M.; CUI, M. Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7, 146- 157., 2011.

MERINO, F. J. Z *et al.* Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente a artemia salina. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 2015, v. 17, n. 4, p. 1031-1040.

MEYER, B. N. *et al.* Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta médica*, 1982, v. 45, n. 5, p. 31-34.

MICHILES, E. Diagnóstico situacional dos serviços de fitoterapia no estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira Farmacognosia*, 2004, v. 14, n. 1, p. 16-19.

MIRJALILI, M.H., SALEHI, P., VALA, M.M. GHORBANPOUR, M. The effect of drying methods on yield and chemical constituents of the essential oil in *Lavandula angustifolia* Mill. (Lamiaceae). *Plant Physiol.* 2019, v. 24, p. 96–103. Doi: 10.1007/s40502-019-0438-4.

MOHAPATRA, D. D.; PATTNAIK, S.; PANDA, S. In Vitro Detected hly II Cytotoxin in a Strain of *Staphylococcus aureus* (BM S-2) and Plant-Derived Aromatic Components: a Molecular Docking Study. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2021. Doi: 10.1007/s12010-021-03510-2.

MOKHTARIKHAH, G.; EBADI, M.-T.; AYYARI, M.; Qualitative changes of spearmint essential oil as affected by drying Methods. *Industrial Crops and Products*, 2020, V. 153, 112492, ISSN 0926-6690. Doi: 10.1016/j.indcrop.2020.112492.

MORAES, L. G.; ALONSO, A. M.; OLIVEIRA-FILHO, E. C.. Plantas medicinais no tratamento do câncer: uma breve revisão de literatura. *Universitas: Ciências da Saúde*, v. 9, n. 1, p. 77-99, 2011.

MORGON, N. H.; COUTINHO, K. Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular. São Paulo: Livraria da Física, 2007.

MORSHEDLOO, M. R. *et al.* Comparison of drying methods for the extraction of essential oil from dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L., Lamiaceae). *Journal of Essential Oil Research*, 2021, v. 33, n. 2, p. 162-170.

MOURA, M. C. L de; ARAÚJO, V. L. L de; SOUSA, J. A. de. Pharmacokinetic, toxicological and pharmacodynamic analysis of flavonoid quercetin isolated seeds of *Bixa orellana* L. Research, *Society and Development*, 2020. Doi: <https://doi.org/10.33448/RSD-V9I3.2242>.

MUNTEANU, I. G.; APETREI, C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, v. 22. Doi: 10.3390/ijms22073380.

MURAKAMI S., W. *et al.* Composição e variação sazonal do óleo essencial em *Alpinia zerumbet* da Ilha de Okinawa. *J. Nat. Med.*, 2009, v. 63, p. 204-208.

NAJAR, B. *et al.* Volatiles and Antifungal-Antibacterial-Antiviral Activity of South African *Salvia* spp. Essential Oils Cultivated in Uniform Conditions. *Molecules*, 2021, v. 26. Doi: <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26092826>.

NASCIMENTO, K. F. *et al.* Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. And spathulenol. *Journal of Ethnopharmacology*, 2018, p. 351-358. Doi: 10.1016/j.jep.2017.08.030.

NAVAKKODE, S.; LIU, C.; SOONG, T. W. Função alterada dos canais de cálcio neuronais do tipo L no envelhecimento e neuroinflamação: Implicações na disfunção sináptica relacionada à idade e no declínio cognitivo. *Envelhecimento Res Rev.*, 2018, 42:86-99. Doi: 10.1016/j.arr.2018.01.001.

NEIS, A. *Introdução ao Docking Molecular*. MEDIUM: 25 set. 2019.

NISHA, C. M. *et al.* Docking and ADMET prediction of few GSK-3 inhibitors divulges 6-bromindirubin-3-oxime as a potential inhibitor. *J Mol Graph Model*, 2016, 65: 100–7. Doi: <https://doi.org/10.1016/J.JMGM.2016.03.001>.

NISHIYAMA, Y.; YAMAMOTO, H. Método para medir a distribuição granulométrica de fitoterápicos em pó usando analisador de tamanho de partícula de difração/dispersão a laser. *Jornal de análise farmacêutica e biomédica*, 2007, v. 43, n. 5, p. 1718-1724.

NOUR, A. H.; OLUWASEUN, A. R.; NOUR, A. H.; OMER, M. S.; AHMED, N. Microwave-Assisted Extraction of Bioactive Compounds (Review). *IntechOpen*, 2021. Doi: 10.5772/intechopen.96092.

NY, V. *et al.* Potential benefits of incorporating *Astragalus membranaceus* into the diet of people undergoing disease treatment: An overview. *Journal of Functional Foods*, v. 77, p. 104339, 1 fev. 2021.

OKAZAKI, K. *et al.* Mode of Antifungal Action of Daito-Gettou (*Alpinia zerumbet* var. *exelsa*) Essential Oil against *Aspergillus brasiliensis*. *Foods*, 2023, v. 12, n. 6, p. 1298.

OKOH, O. O.; SADIMENKO, A. P.; AFOLAYAN, A. J. Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Food chemistry*, v. 120, n. 1, p. 308-312, 2010.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão. *Rev. bras. plantas med.* 2015, v. 17, n. 1. Doi: 10.1590/1983-084X/12_165.

OLIVEIRA, J. F.; CARNEIRO, R. L.; OLIVEIRA, C. R. Granulometria de materiais orgânicos e inorgânicos utilizados na produção de substratos agrícolas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 2011, v. 15, n. 3, p. 267-273.

OLIVEIRA, L. E. M. de. Terpenos. Temas em Fisiologia Vegetal. Lavras, MG: Universidade Federal de Lavras. *Departamento de Biologia – DBI / UFLA*. Setor de Fisiologia Vegetal, 2021.

OLIVEIRA, R. A. *et al.* Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2006, v. 16, n. 1, p. 77-82.

ORTNER, N. J. *et al.* Lower Affinity of Isradipine for L-Type Ca^{2+} Channels during Substantia Nigra Dopamine Neuron-Like Activity: Implications for Neuroprotection in Parkinson's Disease. *J Neurosci*. 2017 Jul 12;37(28):6761-6777. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2946-16.2017. Epub 2017 Jun 7. PMID: 28592699; PMCID: PMC6596555.

ORTNER NJ, STRIESSNIG J. L-type calcium channels as drug targets in CNS disorders. *Channels (Austin)*. 2016;10(1):7-13. doi: 10.1080/19336950.2015.1048936. Epub 2015 Jun 3. PMID: 26039257; PMCID: PMC4802752.

OU, B.; HUANG, D.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J. A.; DEEMER, E. K. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *J Agric Food Chem*, 2002; v. 50, n. 11. Doi: 10.1021/jf0116606.

PADALIA, R. C.; CHANOTIYA, C. S.; SUNDARESAN, V. Variabilidade composicional em óleo essencial de diferentes partes da *Alpinia speciosa* da Índia. *Nat. Prod. Commun*, 2010, v. 5, p. 279-282.

PAGADALA NS, SYED K, TUSZYNSKI J. Software for molecular docking: a review. *Biophysical Ver*, 2017, v. 9, n. 2, p. 91-102. Doi: 10.1007/s12551-016-0247-1.

PARK, K. J.; YADO, M. K. M.; BROD, F. P. R. Estudo de secagem de pêra bartlett (*Pyrus* sp.) em fatias. *Ciências e Tecnologia de Alimentos*, 2001, v. 21, n. 3, p. 288-292.

PCHITSKAYA, E.; POUPUGAEVA, E.; BEZPROZVANY, I. Sinalização de cálcio e mecanismos moleculares subjacentes doenças neurodegenerativas. *Cálcio celular*, 2018, v. 70, p. 87-94.

PEREIRA, Á. G. *et al.* 1,8-Cineole blocks voltage-gated L-type calcium channels in tracheal smooth muscle. *Pflugers Arch*. 2018 Dec;470(12):1803-1813. doi: 10.1007/s00424-018-2201-5. Epub 2018 Sep 11. PMID: 30206706. *perspectives in biology* 2011, v. 3. Doi:10.1101/cshperspect.a003947.

PIMENTEL, R. B. de Q. *Produção, composição química e atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies arbóreas da família Lauraceae*. (tese de doutorado). Instituto Nacional de Pesquisas Da Amazônia – INPA. Programa de Pós-Graduação em Ciências de Florestas Tropicais – CFT, 2014.

PINTO, A. C. *et al.* Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectiva. *Química Nova*, [s. l], 2002, v. 25, p. 45-61.

PIRES, T.; RIBEIRO, M. G. T.; MACHADO, A. A. Extração do R-(+)-limoneno a partir das cascas de laranja: avaliação e otimização da verduza dos processos de extração tradicionais. *Química Nova*, 2018, v. 41, n. 3, p. 355-365.

POLACHINI, T. C., MULET, A., CARCEL, J. A., TELIS-ROMERO, J. Rheology of acid suspensions containing cassava bagasse: Effect of biomass loading, acid content and temperature. *Powder Technology*, 2019, v. 354, p. 271-280.

PRASEDYA, E.S. *et al.* Effect of particle size on phytochemical composition and antioxidant properties of *Sargassum cristaeifolium* ethanol extract. *Scientific Reports*, 2021, v. 11.

PRATES, M. O.; PIZZIOLO, T. A.; TÖRRES, A. G.; MELO, E. C. Modelagem matemática de plantas medicinais e aromáticas. *Engenharia na Agricultura*, 2007, v. 15, n. 2, p. 96-108.

PROENÇA DA CUNHA, A.; CAVALEIRO, C.; SALGUEIRO, L. Fármacos Aromáticos (Plantas aromáticas e Óleos Essenciais)'. Gulbenkian (ed.), Farmacognosia e Fitoquímica, 2010.

QUEIROZ, F. Utilização de plantas medicinais e fitoterápicos como emagrecedores por mulheres de um projeto social em Sete Lagoas/MG. *Revista Brasileira de Ciências da Vida*, 2017, v. 5, n. 1.

RADÜNZ, L. L., MELO, E. C., BARBOSA, L. C. A., SANTOS, R. H. S., BARBOSA, F. F.; MARTINAZZO, A. P. (2006). Influência da temperatura do ar de secagem no rendimento do óleo essencial de hortelã-comum (*mentha x villosa* Huds). *Engenharia na Agricultura*, 2006, v. 14, n. 4, p. 250-257.

RADUNZ, L. L.; MELO, E. C.; ROCHA, P. P.; BERBERT, P. A.; GRACIA, L. M. N. Study of essential oil from guaco leaves submitted to different drying air temperature. *Engenharia na Agricultura*, 2010, v. 18, p. 241-247.

RADWAN, M. N., MORAD, M. M., ALI, M. M., & WASFY, K. I. Extraction of peppermint volatile oil using a simple constructed steam distillation system. *Supplement*, 2020, Vol. 20, n. 2, p. 1487-1491.

RAMME, A. L. *et al.* *Produção de óleo essencial: Reaproveitamento de cascas de frutas cítricas - Seus benefícios e aplicações em alimentos*. Xanrerê: Instituto Federal De Santa Catarina (IFSC), 2020.

RANSOHOFF, R. M. How neuroinflammation contributes to neurodegeneration. *Science*, 2016. Doi: 10.1126/science.aag2590.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, v. 26.

REIS, F. S.; MARTINS, A.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. Propriedades Antioxidantes e Perfil Fenólico dos Cogumelos Cultivados Mais Apreciados: Um Estudo Comparativo entre Amostras in Vivo e in Vitro. *Química Alimentar. Toxicol.* 2012, v. 50, n. 5, p. 1201–1207. Doi: 10.1016/j.fct.2012.02.013.

REZVANI-KAMRAN, A. *et al.* The Neuroprotective Effects of Terpinen-4-ol against β -Amyloid-induced Cell Death via the Akt/GSK-3 β Pathway in SH-SY5Y Cells. *Neurochemical Research*, 2018, v. 43, n. 3, p. 594-602.

RIBEIRO, P. H. S. *Óleos Essenciais de espécies de Eugenia do Cerrado: Composições químicas sazonais, modificações químicas no β -Cariofileno e avaliação da atividade*

Acaricida. Brasília, DF: Universidade de Brasília, 2015. Tese de Doutorado, Instituto de Química, Programa de Pós-Graduação em Química.

ROCHA, D. G. *et al.* Vasorelaxant effect of *Alpinia zerumbet*'s essential oil on rat resistance artery involves blocking of calcium mobilization. *Fitoterapia*. 2023 Sep;169:105623. doi: 10.1016/j.fitote.2023.105623. Epub 2023 Jul 25. PMID: 37500018.

RODRIGUES, A. C. D. C. *Propagação in vitro e aclimatização de espécies medicinais: Alpinia zerumbet (Pers.) BL Burt & RM Sm (Zingiberaceae) e Solidago chilensis Meyen (Asteraceae)*. Tese (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais) Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2016.

ROLEIRA, F. M. F. *et al.* Plant derived and dietary phenolic antioxidants: anticancer properties. *Food Chemistry*, 2015. Doi: 10.1016/j.foodchem.2015.03.039.

ROSA, C. D. A.; CÂMARA, S. G.; BÉRIA, J. U. Representações e intenção de uso da Fitoterapia na atenção básica à saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*, 2011, v. 16, n. 1, p. 311-318.

SÁ, R.C.S.; ANDRADE, L.N.; DE SOUSA, D.P. A review on anti-inflammatory activity of monoterpenes. *Molecules*, 2013, v. 18, p. 1227–1254.

SAAD, G. A.; LÉDA, P. H. O.; SÁ, I. M.; SEIXLACK, A. C. *Fitoterapia Contemporânea Tradição e Ciência na Prática Clínica*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009, 1 ed.

SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, J. D.; BUENO, M.; ALVAREZ RIVERA, G.; TUDELA, J.; IBAÑEZ, E.; CIFUENTES, A. *In vitro* neuroprotective potential of terpenes from industrial orange juice by-products. *Food & Function*, 2021, v. 12, n. 1, p. 302-314. Doi: 10.1039/D0FO02809F.

SANTANA, L. E. G. de S.; MIRANDA, I. K. I.; SOUSA, J. A. *In silico* analysis of the pharmacokinetics, pharmacodynamics and toxicity of two compounds isolated from *Moringa oleífera*. *Research, Society and Development*, 2020. Doi: <https://doi.org/10.33448/RSD-V9I11.10469>.

SANTOS B.; ROMAN-CAMPOS D.; CARVALHO A M.; MIRANDA F.M.F.; CARNEIRO D.C.; CAVALCANTE P.H.; CÂNDIDO E.A.F., XAVIER FILHO L.; CRUZ J.S.; GONDIM A.N.S. Cardiodepressive effect elicited by the essential oil of *Alpinia speciosa* is related to L-type Ca²⁺ current blockade. *Phytomedicine*, Volume 18, Issue 7, 15 May 2011, Pages 539-543.

SANTOS, C. M. M.; SILVA, A. M. S. The Antioxidant Activity of Prenylflavonoids. *Molecules*, 2020, v. 25. Doi: 10.3390/molecules25030696.

SANTOS, G. K. N. *et al.* Essential oils from *Alpinia purpurata* (Zingiberaceae): Chemical composition, oviposition deterrence, larvicidal and antibacterial activity. *Ind. Crops Prod.*, 2012, v. 40, p. 254–260. Doi: 10.1016/j.indcrop.2012.03.020.

SANTOS, L. S. N.; SALLES, M. G. F.; PINTO, C. M.; RODRIGUES, C. S. O sabor da etnobotânica sobre plantas medicinais na comunidade da brenha Redenção, CE. Goiânia: *Agrarian academy*, Centro Científico Conhecer, 2018, v. 5, n. 9, p. 409.

SARAIVA, S. R. G L. Antioxidant activity and acute toxicity of *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae). *African Journal Of Biotechnology*, 2012, v. 11. Doi: <https://doi.org/10.5897/ajb12.1913>.

SCHAICH, K. M.; TIAN, X.; XIE, J. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of Functional Foods*, 2015, v. 14, p. 111-125. Doi: 10.1016/j.jff.2015.01.043.

SCHMITT, D.; LEVY, R.; CARROLL, B. Toxicological evaluation of β -caryophyllene oil: subchronic toxicity in rats. *International journal of toxicology*, v. 35, n. 5, p. 558-567, 2016.

SCHNEIDER, G., & BÖHM, H. J. Virtual screening and fast automated docking methods. *Drug discovery today*, 2002, v. 7, n. 1, p. 64–70. Doi: [https://doi.org/10.1016/s1359-6446\(01\)02091-8](https://doi.org/10.1016/s1359-6446(01)02091-8).

SCHNITZLER, P.; ASTANI, A.; REICHLING, J. Screening for antiviral activities of isolated compounds from essential oils. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011. Doi: <https://doi.org/10.1093/ECAM/NEP187>.

SENSCH O, VIERLING W, BRANDT W, REITER M. Effects of inhibition of calcium and potassium currents in guinea-pig cardiac contraction: comparison of beta-caryophyllene oxide, eugenol, and nifedipine. *Br J Pharmacol*. 2000 Nov;131(6):1089-96. doi: 10.1038/sj.bjp.0703673. PMID: 11082115; PMCID: PMC1572431.

SENSCH O; VIERLING W; BRANDT W; REITER M. Effects of inhibition of calcium and potassium currents in guinea-pig cardiac contraction: comparison of beta-caryophyllene oxide, eugenol, and nifedipine. *British Journal of Pharmacology*. 2000 Nov;131(6):1089-1096. DOI: 10.1038/sj.bjp.0703673.

SHABANA SM, GAD NS, OTHMAN AI, MOHAMED AF, EL-MISSIRY MA. β -caryophyllene oxide induces apoptosis and inhibits proliferation of A549 lung cancer cells. *Med Oncol*. 2023 May 26;40(7):189. doi: 10.1007/s12032-023-02022-9. PMID: 37233859; PMCID: PMC10220129.

SHAFAGHAT, Ali. Antibacterial activity and GC/MS analysis of the essential oils from flower, leaf and stem of *Origanum vulgare* ssp. *viride* growing wild in northwest Iran. *Natural product communications*, v. 6, n. 9, p. 1934578X1100600933, 2011.

SHAHRAJABIAN, R.; GHAFARI-MOGHADDAM, M.; TEIMOURI, M.; HOSSEINI, H.; AMINI, M. Antibacterial Activity and Chemical Composition of Essential Oil of *Artemisia annua* L. under Different Fertilizer Regimes. *Chemistry & Biodiversity*, 2017, v.14, n.11. Doi: 10.1002/cbdv.201700247.

SHARIFI-RAD, J.; SUREDA, A.; TENORE, G.C.; DAGLIA, M.; SHARIFI-RAD, M.; VALUSSI, M.; TUNDIS, R.; SHARIFI-RAD, M.; LOIZZO, M.R.; OLUWASEUN ADEMILUYI, A.; *et al* Biological activities of essential oils: From plant chemoecology to traditional healing systems. *Molecules* 2017, 22, 70.

SHARMA, V.; ANANDHAKUMAR, S.; SASIDHARAN, M. Self-degrading noisome for encapsulation of hydrophilic and hydrophobic drugs: An efficient carrier for cancer multi-drug delivery. *Materials Science and Engineering*: 2015, v. 56, p. 393–400. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.06.049>.

SHEN, N.; WANG, T.; GAN, Q.; LIU, S.; WANG, L.; JIN, B. Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 2022. Doi: 10.1016/j.foodchem.2022.132531.

SHI, Y.; CHEN, G.; CHEN, K.; CHEN, X.; HONG, Q.; KAN, J. Assessment of fresh star anise (*Illicium verum* Hook.f.) drying methods for influencing drying characteristics, color, flavor, volatile oil and shikimic acid. *Food Chemistry*, 2021, v. 342. Doi: 10.1016/j.foodchem.2020.128359.

SILAKARI, O.; Singh, P. K. *In Concepts and Experimental Protocols of Modelling and Informatics in Drug Design*. Academic Press: Cambridge, 2021, cap 6.

SILANO, M. *et al.* The new European legislation on traditional herbal medicines: main features and perspectives. *Fitoterapia*, v. 75, n. 2, p. 107-116, 2004.

SILVA, F.; CASALI, V.W.D. Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleos essenciais. Viçosa: *Arte e Livros*, 2000.

SILVA, Filipe Rodrigues de Oliveira. *Planejamento de inibidores da enzima tripanotona redutase utilizando ferramentas in silico*. Campos Bernardes: Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2022.

SILVA, J.; ABEBE, W.; SOUSA, S. M.; DUARTE, V. G.; MACAHDO, M. I.; MATOS, F. J. Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of eucalyptus. *Journal of Ethnopharmacology*, 2003, v. 89, n. 23, p. 277-283.

SILVA, L. *et al.* Terpinen-4-ol reduces inflammatory response and oxidative stress in cerebral cortex of rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *Neurochemical Research*, 2017, v. 42, n. 7, p. 1969-1978.

SILVA, W. W. A.. Colônia (*Alpinia zerumbet*): um novo nicho para o agronegócio?. *Business Journal*, 2020, v. 2, n. 2, p. 13-21. Doi: <http://doi.org/10.6008/CBPC2674-6433.2020.002.0002>.

SILVEIRA, J. C. *et al.* Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. *Enciclopédia biosfera*, Goiânia, 2012, v. 8, n. 15, p. 2038-2052.

SOUSA, R. A.; COSTA, R. S.; FIGUEIREDO, F. A. Granulometria da casca de coco verde em diferentes estádios de açúcar. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 2013, v. 17, n. 3, p. 243-249.

SOUZA, J. D. *et al.* Desenvolvimento da espinheira-santa sob diferentes intensidades luminosas e níveis de poda. *Horticultura Brasileira*, 2008, v. 26, n. 1, p. 40-44.

SOUZA, S. A.; MEIRA, M. R.; FIGUEIREDO, L. S.; MARTINS, E. R. Óleos essenciais: aspectos econômicos e sustentáveis. *Enciclopédia Biosfera*, 2010, v. 6, n. 10.

SOYSAL, Y.; ÖZTEKIN, S. Equilibrium moisture content equations for some medicinal and aromatic plants. *Journal of agricultural Engineering Research*, 1999, v. 74, n. 3, p. 317-324.

STEMPEL A.V., STUMPF A., ZHANG H.Y., ÖZDOĞAN T., PANNASCH U., THEIS A.K., OTTE D.M., WOJTALLA A., RÁCZ I., PONOMARENKO A., *et al.* Cannabinoid Type 2

Receptors Mediate a Cell Type-Specific Plasticity in the Hippocampus. *Neuron*. 2016; 90:795–809. doi: 10.1016/j.neuron.2016.03.034.

SUBHAN, N.; ALAM, M. A.; AHMED, F.; SHAHID, I. J.; NAHAR, L.; SARKER, S. D. Bioactivity of *Excoecaria agallocha*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2008, v. 18, n. 4, p. 521-526.

SUCUPIRA, N. R.; DA SILVA, A. B.; PEREIRA G.; DA COSTA, J. N. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. UNOPAR. *Cient Ciênc Biol Saúde* 2012, v. 14, n. 4.

SURMEIER, D. J.; OBESO, J. A.; HALLIDAY, G. M. Selective neuronal vulnerability in Parkinson disease. *Nat Rev Neurosci*, 2017, v. 18, p. 101-113.

SUYONO, H.; JONG, F.X.H.; WIJAYA, S. Lavender, cedarwood, and vetiver balms. work as an antistress treatment b reducing plasma cortisol levels. *American Journal of Essential Oil and Natural Products*, 2020, v. 8, n. 1, p. 1012.

TABAN, A.; SAHARKHIZ, M. J.; NIAKOUSARI, M. Sweet bay (*Laurus nobilis* L.) essential oil and its chemical composition, antioxidant activity and leaf micromorphology under different extraction methods. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. 2018, v. 9, p. 12-18. Doi: 10.1016/j.scp.2018.05.001.

TANABE T, MIKAMI A, NIIDOME T, NUMA S, ADAMS BA, BEAM KG. Structure and function of voltage-dependent calcium channels from muscle. *Ann NY Acad Sci*, 1993.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S. Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *J Food Sci.*, 2014, v. 79, n. 7. Doi: 10.1111/1750-3841.12492.

TORKY, Z. A. *et al.* Chemical profiling, antiviral and antiproliferative activities of the essential oil of *Phlomis aurea* Decne grown in Egypt. *Food Funct*, 2021, v. 12. Doi: <https://doi.org/10.1039/D0FO03417G>.

TORRES, P. H. M.; SODERO, A. C. R.; JOFILY, P.; SILVA, F. P. J. Key topics in molecular docking for drug design. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, v. 20. Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms20184574>.

TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J Comput Chem*, 2010, v. 31. Doi: <https://doi.org/10.1002/JCC.21334>.

TU, P., TAWATA, S. Anti-Oxidant, Anti-Aging, and Anti-Melanogenic Properties of the Essential Oils from Two Varieties of *Alpinia zerumbet*. *Molecules*, 2015, v. 20, p. 16723–16740. Doi: 10.3390/molecules200916723.

TUNNISA, F. *et al.* Antioxidant and antidiabetic compounds identification in several Indonesian underutilized Zingiberaceae spices using SPME-GC/MS-based volatilomics and *in silico* methods. *Food Chemistry*, 2022, v. 14. Doi: 10.1016/j.fochx.2022.100285.

UPADHYAY, A.; CHOMPOO, J.; TAIRA, N.; FUKUTA, M.; TAWATA, S. Significant Longevity-Extending Effects of *Alpinia zerumbet* Leaf Extract on the Life Span of *Caenorhabditis elegans*. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 2013, V. 77, p. 217–223. Doi: 10.1271/bbb.120351.

VAN HT, THANG TD, LUU TN, DOAN VD. An overview of the chemical composition and biological activities of essential oils from *Alpinia* genus (Zingiberaceae). RSC Adv. 2021 Nov 23;11(60):37767-37783. doi: 10.1039/d1ra07370b. PMID: 35498079; PMCID: PMC9044187.

VANDERLINDE, F. A.; SOUCAR, C.; LAPA, J. A. Atividade farmacológica de extrato de *Alpinia speciosa* Schum. *Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil*, 1986, v. 9.

VARGA, Zoltan V. *et al.* β -Caryophyllene protects against alcoholic steatohepatitis by attenuating inflammation and metabolic dysregulation in mice. *British journal of pharmacology*, v. 175, n. 2, p. 320-334, 2018.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O Gênero *Copaifera* L. *Química nova*, 2002, v. 25, n. 2, p.273-86.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? *Química nova*, 2005, v. 28, n. 3, p. 519-528.

VELOSO, R. A. *et al.* Teor e composição do óleo essencial de quatro acessos e duas cultivares de manjerição (*Ocimum basilicum* L.). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 2014, v. 16, n. 2, p. 364–371.

VENSKUTONIS, P. R. Effect of drying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.). *Food Chemistry*, 1997, v. 59, p. 219-227.

VENTURI, C. R. *et al.* Chemical analysis and in vitro antiviral and antifungal activities of essential oils from *Glechon spathulata* and *Glechon marifolia*. *Pharm Biol*, 2015, v. 53 n. 8, p. 682. Doi: <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.936944>.

VERLET, N. Comercial aspects. In: HAY, R. K. M.; WATERMAN, P. G. Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production. *Essex: Longman Group*, 1993, p. 137-174.

VICTÓRIO, C. P.; ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C.S; LAGE, C. L. S. Chemical composition of the fractions of leaf oil of *Alpinia zerumbet* (Pers.) BL Burt & RM Sm. and antimicrobial activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2009, v. 19, n. 3, p. 697-701.

VICTÓRIO, C.P. Therapeutic value of the genus *Alpinia*. Zingiberaceae. *Rev. Bras. Farmacogn*, 2011, v. 21, p. 194–201. Doi: 10.1590/S0102-695X2011005000025.

VIDAL, F.; GADELHA, A. P. R.; LOPES, C. S.; COELHO, M. G. P.; MONTEIRO-LEAL, L. H. Giardia lamblia: the effects of extracts and fractions from *Mentha x piperita* Lin. (Lamiaceae) on trophozoites. *Experimental Parasitology*, 2007, v. 115, n. 1, p. 25-31.

VIGANÓ, J. *et al.* Sequential high pressure extractions applied to recover piceatannol and scirpusin B from passion fruit bagasse. *Food Research International*, 2016, v. 85, p. 51-58, Doi: 10.1016/j.foodres.2016.04.015.

VIVEROS-PAREDES J.M., GONZÁLEZ-CASTAÑEDA R.E., GERTSCH J., CHAPARRO-HUERTA V., LÓPEZ-ROA R.I., VÁZQUEZ-VALLS E., BEAS-ZARATE C., CAMINS-ESPUNY A., FLORES-SOTO M.E. Neuroprotective Effects of β -Caryophyllene against Dopaminergic Neuron Injury in a Murine Model of Parkinson's Disease Induced by MPTP. *Pharmaceuticals*. 2017;10:60. doi: 10.3390/ph10030060.

WATANABE C. H.; NOSSE, T. M.; GARCIA, C. A.; PINHEIRO, POVH, N. Extração do óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L.) por destilação por arraste a vapor e extração com etanol. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 2006, v. 8, n. 4, p. 76-86.

WESTENBROEK, R.E.; AHLIJANIAN, M. K.; CATTERAL, W. A. Clustering of L-type Ca^{2+} channels at the base of major dendrites in hippocampal pyramidal neurons. *Nature* 1990, v. 347, p. 281–284.

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

WOLFFENBÜTTEL, A. N. *Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia: abordagem técnica e científica*. Editora: Roca. São Paulo, 2011.

WOLFFENBUTTEL. A. N. *Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia: abordagem técnica e científica*. São Paulo: Editora Laszlo, 2010.

WU H. *et al.* In vitro antiviral effect of germacrone on feline calicivirus. *Arch Virol*, 2016, v. 161, n. 67, p. 1559. Doi: <https://doi.org/10.1007/S00705-016-2825-8>.

WU, D., CHEN, Q., CHEN, X. *et al.* The blood–brain barrier: structure, regulation, and drug delivery. *Sig Transduct Target Ther* 8, 217, 2023. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01481-w>

XIANGZHEN GE, QIUHONG LIANG, YAO LONG, HUIZHAN SHEN, QIAN ZHANG, ZHUANGZHUANG SUN, WENHAO LI, Assessment of fresh *Alpinia galanga* (A. galanga) drying techniques for the chemical composition of essential oil and its antioxidant and biological activity, *Food Chemistry*, Volume 392, 2022, 133314, ISSN 0308-8146.

XIU Z, ZHU Y, HAN J, LI Y, YANG X, YANG G, SONG G, LI S, LI Y, CHENG C, LI Y, FANG J, LI X, JIN N. Caryophyllene Oxide Induces Ferritinophagy by Regulating the NCOA4/FTH1/LC3 Pathway in Hepatocellular Carcinoma. *Front Pharmacol*. 2022 Jul 11;13:930958. doi: 10.3389/fphar.2022.930958. PMID: 35899120; PMCID: PMC9313605.

XUAN, T. D.; KHANH, T. D.; KHANG, D.; QUAN, N. T.; ELZAAWELY, A. A. Changes in chemical composition, total phenolics and antioxidant activity of *Alpinia* (*Alpinia zerumbet*) leaves exposed to UV. *Int Lett Nat Sci*. 2016, v. 55, p. 25–34.

YAMAGUCHI, Tsuyoshi *et al.* Mesocorticolimbic glutamatergic pathway. *Journal of Neuroscience*, v. 31, n. 23, p. 8476-8490, 2011.

YAMAGUCHI, Y.; WADA, T.; HANDA, H. Interplay between positive and negative elongation factors: drawing a new view of DRB. *Genes Cells*. 1998, v. 3, n. 1, p. 9-15. Doi: 10.1046/j.1365-2443.1998.00162.x. PMID: 9581978.

YANG, S. N.; BERGGREN, P. O. The role of voltage-gated calcium channels in pancreatic β -cell physiology and pathophysiology. *Endocr Rev*, 2006, v. 27, p. 621–676.

YOO, S., CHOI, Y., & KIM, Y. Desenvolvimento de um método rápido e preciso para a determinação da distribuição de tamanho de partícula de ervas medicinais coreanas usando análise dinâmica de imagens. *Journal of Analytical Science and Technology*, 2016, v. 7, n. 1, p. 1-8.

ZAHRA, M. H. *et al.* *Alpinia zerumbet* (Pers.): food and medicinal plant with potential in vitro and in vivo anti-cancer activities. *Molecules*, 2019, v. 24, n. 13.

ZELLAGUI, S. *et al.* Effect of particle size on the yield and chemical composition of essential oil from *Lavandula stoechas* L. growing in Algeria *Journal of Essential Oil Research*, 2019.

ZHANG H.Y., GAO M., LIU Q.R., BI G.H., LI X., YANG H.J., GARDNER E.L., WU J., XI Z.X. Cannabinoid CB2 Receptors Modulate Midbrain Dopamine Neuronal Activity and Dopamine-Related Behavior in Mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014;111:E5007–E5015. doi: 10.1073/pnas.1413210111.

ZHANG, M. *et al.* Quantification of Chemical Composition and Antioxidant Activity of Two Essential Oils from *Lonicera japonica* Thunb. Using GC-MS and Chemometric Tools. *Molecules*, 2019.

ZHANG, X. *et al.* Terpinen-4-ol attenuates cognitive deficits and neuroinflammation via Nrf2-dependent antioxidant pathway in D-galactose-induced aging mice. *International Immunopharmacology*, 2019, v. 75.

ZHANG, X. Y. *et al.* Antiphytoviral toxins of *Actinidia chinensis* root bark (ACRB) extract: laboratory and semi-field trials. *Pest Manag Sci*, 2018, v. 74. Doi: <https://doi.org/10.1002/PS.4854>.