



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
NÚCLEO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

ANTONIO MEDEIROS VENANCIO

**TOXICIDADE AGUDA E ATIVIDADE
ANTINOCICEPTIVA DO ÓLEO ESSENCIAL DO
Ocimum basilicum L. (MANJERICÃO), EM *Mus
musculus* (CAMUNDONGOS)**

**ARACAJU – SE
2006**

ANTONIO MEDEIROS VENANCIO

**TOXICIDADE AGUDA E ATIVIDADE
ANTINOCICEPTIVA DO ÓLEO ESSENCIAL DO
Ocimum basilicum L. (MANJERICÃO), EM *Mus
musculus* (CAMUNDONGOS)**

Dissertação apresentada ao Núcleo de Pós-Graduação em Medicina da Universidade Federal de Sergipe para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde

Área de Concentração: Estudos Clínicos e Laboratoriais em Saúde

ORIENTADOR: PROF. DR. ÂNGELO ROBERTO ANTONIOLLI

**ARACAJU – SE
2006**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da Saúde/UFS

-
- V446t Venâncio, Antonio Medeiros
Toxicidade aguda e atividade antinociceptiva do óleo essencial do *Ocimum basilicum* L. (manjerição), em *Mus musculus* (camundongos) / Antonio Medeiros Venâncio.-- Aracaju, 2006
108 f.
Orientador: Prof. Dr.  ngelo Roberto Antonioli
Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Sergipe, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, Núcleo de Pós-Graduação em Medicina.
1. *Ocimum basilicum* L.(manjerição) 2.  leo Essencial 3. Toxicidade Aguda 4. Farmacologia 5. Plantas medicinais 6. Pesquisa com camundongos (*Mus musculus*) I. Título

CDU 518.949.28: 633.88

ANTONIO MEDEIROS VENANCIO

**TOXICIDADE AGUDA E ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO ÓLEO
ESSENCIAL DO *Ocimum basilicum* L. (MANJERICÃO), EM *Mus
musculus* (CAMUNDONGOS)**

Dissertação apresentada ao Núcleo de Pós-
Graduação em Medicina da Universidade
Federal de Sergipe, para obtenção do grau de
Mestre em Ciências da Saúde

Área de Concentração: Estudos Clínicos e
Laboratoriais em Saúde

Aprovada em: 07/04/2006

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. ÂNGELO ROBERTO ANTONIOLLI

1º Examinador: Prof. Dr. ANTONIO EUZÉBIO GOULART SANT'ANA

2º Examinador: Prof. Dr. MURILO MARCHIORO

Dedico este trabalho a Edna Venancio, minha mãe, Davino Venancio,
meu pai (*in memoriam*), razão de minha existência.

A minha querida esposa, Fátima, dedicada companheira.

A Alisson, Márcio e Mirela, meus filhos queridos.

A Alice, a minha primeira netinha.

Ao prof. Dr. Antonio Garcia Filho (*in memoriam*), o primeiro mestre a
me incentivar a lutar por esse ideal e que certamente estaria feliz pelo
meu êxito.

AGRADECIMENTOS

A Deus e à minha família que permitiram o alcance dessa meta.

À Universidade Federal de Sergipe por esta grande oportunidade.

Ao orientador Prof. Dr. Ângelo Roberto Antonioli a valiosa contribuição científica e didática.

Ao prof. Murilo Marchioro o incentivo e contribuição nas horas difíceis.

À Prof^a. Dr. Vera e ao prof. Gileno (Departamento de Morfologia) a colaboração do uso das dependências para continuidade dos testes.

Aos professores Márcio, Josemar, Humberto, Rogéria, Arie Blank, Fátima Blank, Cleonice, Flávia, e Rosilene a liberação de seus laboratórios e a ajuda para a realização dos testes. E ao Prof. Dr. Eduardo Garcia a consideração e as palavras de incentivo.

Ao Prof. Péricles Alves, do Departamento de Química, a valiosa contribuição na análise química do Óleo Essencial.

À Banca Qualificadora, composta pelos professores Dra. Rosana Cipolotti, Dr. Murilo Marchioro e Dr. Alexandre Luna a grande contribuição para que este trabalho fosse melhor qualificado, com suas pertinentes observações e críticas construtivas.

Aos alunos Kelly e Priscila, do curso de Farmácia-UFS, e Thomas, do curso de Medicina-UFS a importante colaboração durante a realização dos testes farmacológicos.

A amiga Marcly e ao Sr. Osvaldo, responsável pela manutenção e limpeza do biotério, o zelo e atenção com que tratam os animais.

Aos colegas do curso de Mestrado em Ciências da Saúde: Aminthas, Silvan, Edna, Silvia e Carol, e a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para o êxito deste trabalho.

*O Senhor fez a terra produzir os medicamentos:
O homem sensato não os despreza.
Uma espécie de madeira não adoçou o amargor da água?
Essa virtude chegou ao conhecimento dos homens.
O Altíssimo deu-lhes a ciência da medicina
Para ser honrado em suas maravilhas;
E dela se serve para acalmar as dores e curá-las;
O farmacêutico faz misturas agradáveis,
Compõe ungüentos úteis à saúde,
E seu trabalho não terminará,
Até que a paz divina se estenda sobre a face da terra.*

(Eclesiástico 38, 4-8)

RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar a toxicidade aguda e a ação antinociceptiva do Óleo Essencial (OE) obtido das folhas do *Ocimum basilicum* L. (LAMIACEAE), PI-197442, manjerição “maria bonita”. O gênero *Ocimum* apresenta várias espécies usadas na medicina popular como antiespasmódico, sedativo e carminativo, e na agricultura, como repelente de insetos. A DL₅₀ obtida pelo método dos probitos foi 0,532g/kg de peso de animal. O efeito antinociceptivo foi estudado usando três modelos de nocicepção: Contorções abdominais, induzidas pelo ácido acético 0,6% (i.p.); Placa quente e o Teste da formalina. O OE reduziu o efeito nociceptivo de maneira dose-dependente nas concentrações 50, 100 e 200mg/kg em 48,02%, 64,48% e 77,49%, respectivamente, no Teste das Contorções. Na Placa Quente, o OE-50 aumentou o tempo de permanência sob o estímulo térmico nos tempos 0, 15, 30 e 60 min. A morfina 10mg/kg foi usada como padrão de antinocicepção. O antagonista opióide, Naloxona, reverteu o efeito do OE-50 em todos os tempos testados. No Teste da Formalina, o OE apresentou efeito significativo apenas na 2ª fase. O OE 200mg/kg reduziu o tempo de lambida da pata traseira em 74,66%. Estes resultados mostraram que o OE do *Ocimum basilicum* L. tem alta toxicidade (i.p.) e apresenta atividade antinociceptiva periférica e central.

Palavras-chave: *Ocimum basilicum* L.; toxicidade aguda; antinocicepção; dose letal.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the acute toxicity and the antinociceptive action, of the Essential Oil obtained from leaves of *Ocimum basilicum* L. (LAMIACEAE), PI-197442, manjerição “maria bonita”. The *Ocimum* presents various species, used in the folk medicine, like antispasmodic, sedative and carminative, in agriculture as repellent of insects. The acute toxicity was determined by probit method using 5 groups (N=6) of mice, both genders. The LD₅₀ was 0,532g/kg from the animals. The antinociceptive effect was studied by three models of nociception: The abdominal writhes induced by acetic acid 0,6% (i.p.), Hot Plate and the Test of Formalin. The OE increased the nociceptive effect dependent-dose in the concentrations 50, 100 and 200mg/kg in 48,02%, 64,48% and 77,49%, respectively, in the Test of Wrighting. In the Hot Plate, the OE increased the time of staying under the thermal stimulus in the times of 0, 15, 30 and 60 minutes. In the time of 15 min, was obtained the most significant effect. The morphine 10mg/kg was used as antinociception pattern. The antagonist Nalaxone opiod, reverted the effect of OE-50 in all tested times. In the Test of Formalin, the OE presented significant effect just in the second phase. The OE-200, in this phase, reduced the licking times of hind paw in 74,66%. These results showed that the OE of *Ocimum basilicum* L. presented high toxicity (i.p.) and showed peripheral and central antinociception activities.

Keywords: *Ocimum basilicum* L.; acute toxicity; antinociception; LD (lethal dose); “maria bonita”.

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	Adenosina Trifosfato
S.G.	Substância gelatinosa
i.p.	Intraperitonal
s.c.	Subcutânea
CPME	Corno posterior da medula espinhal
OE	Óleo Essencial
sP	Substância P
GABA	Ácido gama-amino-butírico
SCPA	Substância cinzenta periaquedutal
PGE	Prostaglandina
TBX ou TX	Tromboxano
COX	Cicloxygenase
LOX	Lipoxigenase
VIP	Peptídeo intestinal vaso-ativo
HETE	Ácido hidroxieicosatetraenóico
HPETE	Ácido hidroperoxieicosatetraenóico
AINES	Antiinflamatórios não-esteróidais
PMN	Polimorfonucleares
EPM	Erro padrão da média
LT	leucotrieno
DL ₅₀	Dose letal cinquenta
OMS	Organização Mundial da Saúde

SNC	Sistema Nervoso Central
[s.d.]	Sem data
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
MS	Ministério da Saúde
CNS	Conselho Nacional de Saúde
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
REBLAS	Rede Brasileira de Laboratórios em Saúde
BPFC	Boas Práticas de Fabricação e Controle
IASP	<i>Internacional Association for the Study of Pain</i>
ME	Medula Espinhal
CG/MS	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectometria de Massa
CEPA	Comitê de Ética para Experimentação com Animais
ANOVA	Análise de Variância
CGRP	Peptídeo relacionado com o gen da Calcitonina
TNF α	Fator de Necrose Tumoral
SNVS	Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária
IP	Identificação de planta
CAS	<i>Chemical Abstract Service</i>
IRR	Índice de Retenção Relativa

LISTAS DE FIGURAS

Figura 01 – Estrutura química do 2-metil,1,3-butadieno	26
Figura 02 – Estruturas isoprênicas	27
Figura 03 – Estrutura do 1,8 cineol	28
Figura 04 – Estrutura do Linalol	29
Figura 05 – Estrutura do Geraniol	30
Figura 06 – Estrutura do Acetato de Nerila	30
Figura 07 – Estrutura do α - <i>Trans bergamopteno</i>	31
Figura 08 – Lâminas de Rexed.....	46
Figura 09 – Vias ascendentes da dor.....	49
Figura 10 – Inflamação neurogênica	52
Figura 11 – Via da Cicloxigenase	53
Figura 12 – Biossíntese dos Leucotrienos, a partir do ácido araquidônico	54
Figura 13a – Vias descendentes do controle da dor – Analgesia – Sistema periférico.....	58
Figura 13b – Vias descendentes do controle da dor – Analgesia – Sistema endógeno central.....	59
Figura 13b – Vias descendentes do controle da dor – Analgesia – Sistema endógeno central.....	60
Figura 14a – Foto da espécie <i>Ocimum basilicum</i> L.	69
Figura 14b – Foto da espécie <i>Ocimum basilicum</i> L.	69
Figura 15a – Aparelho de Clevenger montado em série	70
Figura 15b – Aparelho de Clevenger, em detalhe	70
Figura 16 – Foto do CG/MS Shimadzu	72

Figura 17a – Camundongo <i>Swis Mus musculus</i>	73
Figura 17b – Camundongos <i>Swis Mus musculus</i> na gaiola	73
Figura 18a – Via intraperitoneal	77
Figura 18b – Contorção abdominal típica	77
Figura 19a – Placa quente	78
Figura 19b – Placa quente com camundongo em teste	78
Figura 20a – Aplicação subcutânea	79
Figura 20b – Aplicação subcutânea	79
Figura 20c – Aplicação intraplantar	80
Figura 20d – Lamber da pata	80

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01 - Cromatograma da corrente iônica total – OE *Ocimum basilicum* L.

(CG/MS) 81

Gráfico 02 – Representação gráfica da DL₅₀ 83

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Plantas mais estudadas no território brasileiro	22
Tabela 02 – Correlação entre o uso popular e a atividade farmacológica confirmada para as principais categorias terapêuticas	23
Tabela 03 – Principais plantas medicinais	36
Tabela 04 - Condições de análise do sistema CG/MS do óleo de <i>O. basilicum</i> L. (Maria Bonita)	72
Tabela 05 - Constituintes químicos do OE de <i>Ocimum basilicum</i> L.	82
Tabela 06 – Efeito do Óleo Essencial do <i>Ocimum basilicum</i> L. (Maria Bonita) e da indometacina no Teste das Contorções Abdominais, induzidas por ácido acético 0,6% e percentual de inibição das contorções	84
Tabela 07 – Efeito antinociceptivo do OE do <i>O. basilicum</i> e Morfina 10 na dor induzida pelo calor em camundongos (Teste da Placa Quente)	86
Tabela 08 – Efeito antinociceptivo do Óleo Essencial do <i>Ocimum basilicum</i> L. e Morfina 10, no Teste da Formalina	87

SUMÁRIO

1 Introdução	18
1.1 Correlação entre o uso popular e a atividade farmacológica	22
1.2 Óleos Essenciais.....	24
1.3 Fitoterapia	31
1.4 Regulamentação dos Fitoterápicos	33
1.5 Plantas Medicinais	35
2 Revisão Bibliográfica.....	37
2.1 Toxicidade Aguda	37
2.2 Dor	38
2.2.1 Teorias sobre a dor: um breve comentário	39
2.2.2 Bases anátomo-fisiológicas-bioquímicas da dor	42
2.2.2.1 Receptores sensoriais	43
2.2.2.2 Classificação das fibras nervosas	44
2.2.2.3 Estrutura do corno dorsal da medula espinhal	45
2.2.2.4 A condução do impulso nervoso	46
2.2.2.5 Vias ascendentes da condução da dor.....	47
2.2.2.6 Mecanismos periféricos da dor.....	49
2.2.2.7 Vias descendentes – controle da dor - analgesia.....	54
2.2.2.8 Receptores opióides	57
2.3 Drogas analgésicas	60
2.4 Plantas analgésicas conhecidas	64
2.5 O gênero <i>Ocimum</i> – Efeitos Farmacológicos	66

2.6 A espécie <i>Ocimum basilicum</i> L.	66
3 Objetivos	68
3.1 Geral	68
3.2 Específicos	68
4 Metodologia	69
4.1 Material botânico	69
4.2 Obtenção do Óleo Essencial	69
4.2.1 Determinação da Densidade do Óleo	70
4.2.1.1 Cálculos da Densidade	71
4.2.2 Constituição química do Óleo Essencial	71
4.3 Animais	73
4.4 Toxicidade Aguda	74
4.4.1 Método dos Probitos	74
4.4.2 DL ₅₀	75
4.6 Modelos de Antinocicepção	76
4.6.1 Teste das Contorções Abdominais	76
4.6.2 Teste da Placa quente a 55º C	77
4.6.3 Teste da Formalina	79
4.7 Análise Estatística	80
5 Resultados	81
5.1 Constituição química do Óleo Essencial.....	81
5.1.2 Dose letal média (DL ₅₀) do Óleo Essencial do <i>Ocimum basilicum</i> L.....	82
5.2 Efeitos observados no Teste das Contorções abdominais.....	84
5.3 Efeitos observados no Teste da Placa Quente	85
5.4 Efeitos observados no Teste da Formalina	86

6 Discussão.....	88
7 Conclusões	94
Referências	95
Apêndices	100

1 INTRODUÇÃO

Ainda não foi possível estabelecer exatamente quando o homem, na necessidade de diminuir ou curar seus males, usou pela primeira vez as drogas de origem natural. Há relatos de que desde a Era Cristã, Padanius Dioscórides levantou e cadastrou mais de 500 drogas de origem vegetal, animal e mineral, no seu tratado intitulado *De Materia Medica*. Antigamente, as plantas eram usadas na forma de pó. Foi nessa época que Claudius Galeno (130-200 d.C.), médico grego, preparou as primeiras drogas vegetais, usando-se de solventes como a água, o álcool e o vinagre. Sendo assim, criou a conhecida *Farmácia Galênica*, cujo nome é uma homenagem a este grande cientista.

Foi durante o Renascimento que veio a valorização da observação e do conhecimento, em consequência das Grandes Viagens às Índias e à América. O pioneiro a tentar relacionar as propriedades curativas das plantas às suas características morfológicas, como a forma, a cor, etc., foi Paracelso no início do século XVI, com a teoria dos sinais ou também chamada a Teoria da Similitude. Paracelso defendia a hipótese de que a doença podia ser curada com aquilo que lhe tivesse semelhança e, coincidentemente, este pensamento era também defendido pelos índios da América do Sul.

A evolução da “arte de curar” se realizou de forma empírica, em processos descobertos por tentativa, ora errando, ora acertando. Nestes processos, os povos primitivos contribuíram para a identificação de espécies e de gêneros, o *habitat* e a melhor época de colheita desses vegetais, além de fornecerem informações valiosas sobre quais as partes das plantas continham agentes

medicamentosos e seus efeitos (LEVI-STRAUSS, 1989; LOZOYA, 1994; SCENKEL, 1985 *apud* GARCIA *et al.* [s.d.]).

A partir do século XV, houve uma grande preocupação em identificar os vegetais de acordo com sua procedência, sua característica morfológica e seus princípios ativos. Coube a Lineu a primeira classificação sistemática no ano de 1735, em sua publicação *Systema Naturae* (TESKE; TRENTINI, 2001).

Os produtos de origem natural desempenham um importante papel na pesquisa de novos fármacos, tendo em vista que vários princípios ativos de plantas medicinais, descobertos há dezenas de anos, são até hoje utilizados na terapêutica. Como exemplo de tal afirmação, é cabível citar a *Papaver somniferum*, planta usada para eliminar a dor visceral. Essa espécie produz, dentre várias substâncias ativas, a morfina, a qual foi isolada pela primeira vez em 1803 pelo farmacêutico químico Setürner. Posteriormente, em 1925, a fórmula estrutural da morfina foi proposta por Robinson. Sete anos depois, outra substância da *Papaver* foi isolada, a codeína, pelo cientista Robiquet. Um outro alcalóide foi identificado, desta vez por Merck, em 1948, recebendo a denominação de papaverina.

Além da *Papaver*, podemos citar outras duas espécies também relevantes no campo da Etnofarmacologia: a *Atropa belladonna* e a *Hyoscyamus niger*, as quais são caracterizadas por apresentarem alcalóides com atividade anticolinérgica. O princípio ativo da *Atropa belladonna* é o alcalóide denominado atropina, isolada em 1883 por Mein. Essa espécie foi estudada por muitos farmacologistas, porém, sua síntese só foi realizada por Willstaetter, em 1903. Hoje em dia, tal substância tem amplo uso em exames oftalmológicos, devido às suas propriedades midríaticas e ciclopérgicas, além de possuir atividade antiespasmódica. Já a *Hyoscyamus niger*

possui o alcalóide hiosciamina, isômero levógiro da atropina, usada por sua ação antiespasmódica e sedativa.

Ainda exemplificando, temos a espécie *Ephedra sinica*, planta conhecida e utilizada pelos chineses há 2000 a.C., da qual foi isolada a substância efedrina por Nagai, em 1887. Atualmente é usada como um potente broncodilatador (YUNES; CALIXTO, 2001). Todas essas citações servem para demonstrar a importância e a utilização dos produtos de origem vegetal que perduram ao longo da história.

Com o reconhecimento dos benefícios da milenar medicina chinesa e os importantes avanços da pesquisa, da preparação e da fabricação de produtos vegetais com ação terapêutica, a Organização Mundial da Saúde (OMS) passou a interessar-se pelo assunto. Hoje este mesmo órgão internacional recomenda o uso de plantas medicinais e seus ativos pelos Sistemas Públicos de Saúde, como forma de reduzir os custos dos programas de Saúde Pública, além de ampliar o número de beneficiários destes programas, em especial, nos países em desenvolvimento onde persiste a pobreza, conforme relatos de sanitaristas renomados.

A OMS estima que 80% da população deste planeta, de algum modo, utiliza plantas medicinais como medicamentos. Estima-se, também, que 25.000 espécies de plantas sejam usadas nas preparações da medicina tradicional. É conveniente lembrar que mais de 365.000 espécies de plantas já foram catalogadas, o que corresponde a cerca de 60% das existentes. Estes valores tornam-se mais significantes na demonstração da importância das plantas medicinais e como estímulo a sua investigação se os considerarmos frente às estimativas de que somente cerca dos 8% das espécies existentes de plantas têm sido sistematicamente estudadas em termos de compostos bioativos e que apenas 1.100

espécies, das 365.000 espécies de plantas conhecidas, foram estudadas em suas propriedades medicinais (GARCIA *et al.* [s.d.]).

Os vegetais se apresentam como fonte de princípios ativos com ação farmacológica. Há também que se destacar o importante papel dos vegetais e frutas na nutrição humana e na Saúde Pública, como fornecedores naturais de vitaminas e sais minerais – elementos indispensáveis para a higidez do organismo. Nesse sentido, os vegetais e as frutas contêm em abundância substâncias fenólicas, terpenóides e outros antioxidantes naturais que, associados ou não com medicamentos, previnem as doenças crônicas do coração e o câncer (WAGNER, 2003).

Todas as cinco regiões brasileiras são ricas em plantas nativas, com destaques para a região Amazônica e a região Nordeste, por suas ricas biodiversidades. O Brasil é reconhecido como um dos países que possui a mais diversificada flora, possuindo um grande potencial a ser desvendado na produção de fármacos. Infelizmente, nos tempos atuais, a rica flora e a fauna brasileira têm sido progressivamente destruídas, comprometendo a pesquisa etnofarmacológica nesses últimos 40 anos.

Na área da farmacobotânica, pelo menos 402 diferentes espécies de plantas têm sido estudadas no território brasileiro, entre elas as famílias: *Piperaceae*, *Solanaceae*, *Phytolacaceae*, *Lauraceae*, *Liliaceae*, *Crassulaceae*, *Gramineae*, *Zingiberaceae*, *Moraceae*, *Cucurbitaceae*, *Rubiaceae*, *Verbenaceae*, *Anacardiaceae*, *Labiatae*, *Apocynaceae*, *Euphorbiaceae*, *Compositae* e *Leguminosae*, vistas na Tabela 1 (BRITO, A.R.; BRITO, A.S., 1993).

TABELA 01 – Plantas mais estudadas no território brasileiro

Família	Espécie	Nome popular	Partes usadas
ANACARDIACEAE	<i>Astronium urudeuva</i> Engl.	Aroeira	Cascas do tronco
APOCYNACEAE	<i>Mandevilla velutina</i> (Mart.) Wood.	Jalapa	Rizomas
COMPOSITAE	<i>Achyrocline satureoides</i> A. DC.	Marcela	Flores
	<i>Stevia rebaudiana</i> Bert.	Estevia	Folhas
CRASSULACEAE	<i>Kalanchoe brasiliensis</i> Camb.	Coirama	Folhas
CUCURBITACEAE	<i>Luffa operculata</i> Cogn.	Cabacinha	Frutos
EUPHOBIAEAE	<i>Cróton zenhthneri</i> Pax & Hoffm.	Cunha	Folhas
LEGUMISOSAE	<i>Canavalia ensiformis</i> A. DC.	Feijão	Sementes
	<i>Pterodon polygalaeflorus</i> Benth.	Sucupira	
MORACEAE	<i>Dorstenia bryoniaeflora</i> Mart.	Caiaipiá	Rizomas
PHTOLACCACEAE	<i>Petiveria alliacea</i> L.	Tipi	Raízes
ZINGIBERACEAE	<i>Alpinia speciosa</i> Dietr.	Colônia	Rizomas

Fonte: adaptado de Brito, A.R; Brito, A.S.,1993.

Desse rol de plantas, diversas são as atividades farmacológicas investigadas, podendo ser agrupadas em 13 classes terapêuticas: Diurética, Antiulcerosa, Bloqueadora neuromuscular, Antitumoral, Colinomimética, Hipoglicemiante, Depressora do SNC, Espasmolítica, Hipotensoras, Analgésicas, Tóxicas, Antimicrobiana e Antiinflamatória.

1.1 Correlação entre o Uso Popular e a Atividade Farmacológica

O uso de plantas na medicina popular guarda uma estreita relação com os efeitos produzidos que são comprovados pela recuperação dos pacientes que usam esses medicamentos. A Tabela 02 mostra a percentagem de sucesso das citações do uso popular, comparando-se com o número de investigações positivas (BRITO, A.R.; BRITO, A.S., 1993).

TABELA 02 – Correlação entre o uso popular e a atividade farmacológica confirmada para as principais categorias terapêuticas

Atividade	Número de citações de uso popular	Número de investigações confirmadas	Percentagem de sucesso
Analgésica	59	54	91,5
Antiinflamatória	93	63	67,7
Antimicrobiana	116	64	55,2
Antitumoral ^a	12	09	75,0
Antiulcerosa	29	15	51,7
Depressora do SNC	28	26	92,8
Diurética	26	08	30,8
Hipoglicemiante	54	39	72,2
Hipotensora	56	54	96,4
Espasmogênica ^b	5	5	100,0
Espasmolítica	55	24	43,6
Tóxica	34	34	100,0

Fonte: BRITO, A.R.; BRITO, A.S. (1993). ^a também se refere a câncer; ^b também se refere como abortivo.

Dentre os gêneros estudados na Medicina popular, encontra-se o *Ocimum*, cujas espécies são largamente usadas na medicina tradicional iraniana. O estudo químico desse gênero, tão rico em flavorizantes, revelou a presença de várias substâncias químicas de importância comercial. No tocante às substâncias encontradas no *Ocimum*, podemos fazer referência ao ácido rosmarínico, o qual é um ácido fenólico predominante na flor e nos tecidos das folhas (JAVANMARDI *et al.*, 2002), constituindo-se um excelente antioxidante.

O gênero *Ocimum* está representado por mais de 150 espécies e tem uma distribuição geográfica por todas as regiões de clima tropical e subtropical. É um importante grupo de plantas aromáticas que produzem óleo essencial rico em constituintes como: ácidos fenólicos, linalol, geraniol, citral, alcanfor, eugenol, timol,

1,8-cineol, acetato de nerila, e outros compostos (GOVIN *et al.*, 2000). Estes compostos, por sua vez, apresentam as mais variadas atividades farmacológicas, tais como: bactericida, fungicida, antiparasitária e, até mesmo, como repelente de insetos. Sua eficácia como bioinseticida fumigante foi demonstrada por K ita *et al.* (2001).

Várias espécies desse importante g nero têm sido largamente estudadas em vários países. O trabalho de Khanna e Bhatia (2003) demonstrou que o extrato alcoólico obtido das folhas do *Ocimum sanctum* (Tulsi) possui propriedades antinociceptivas e antiinflamatórias, esta última, possivelmente por ação inibitória sobre a Cicloxigenase. As espécies *Ocimum suave* e *Ocimum lamiifolium* foram estudadas quanto as suas possíveis propriedades antipiréticas, e os extratos aquosos e etan icos reduziram a febre em camundongos induzida por leveduras em todas as concentrações testadas (MAKONNEN *et al.*, 2003)

No Brasil, o *Ocimum basilicum* L., popularmente chamado de manjeriço, assim como em outros países do mundo, vem sendo utilizado para os mais diferentes fins: erva culinária, inseticida, antiparasitário, repelente de insetos, e como insumo de alto valor para a indústria de perfumaria, cosméticos e na indústria farmacêutica.

1.2  leos Essenciais

São misturas de natureza complexa, compostas por substâncias líquidas, voláteis e lipofílicas geralmente odoríferas. São também denominadas de óleos et reos ou essências. Existem em abundância nos angiospermas dicotiledonios e, dependendo da família, os óleos essenciais são encontrados nas várias estruturas

secretoras especializadas, tais como: pelos glandulares (*LAMIACEAE*), células parenquimáticas diferenciadas (*LAURACEAE*, *PIPERACEAE*, *POACEAE*) ou canais oliíferos (*APIACEAE*) (SIMÕES; SPLITZER, 2004 *apud* BLANK et al., 2005).

Conforme a ISO (*International Standard Organization*), os Óleos Essências são produtos obtidos de partes de plantas através da destilação por arraste de vapor d'água e constituídos por misturas complexas de substâncias voláteis lipofílicas e geralmente odoríferas (SIMÕES et al., 2001).

Os Óleos Essenciais são produzidos pelo metabolismo secundário dos vegetais e têm como principal característica a volatilidade. Apresentam também a função de proteção, principalmente como repelente de insetos.

A constituição química dos óleos essenciais varia desde a existência de hidrocarbonetos terpênicos, terpenóides, álcoois terpênicos simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos e cumarinas.

a) *Terpenos e Terpenóides*: são lipídios de origem vegetal que possuem em suas estruturas mais de uma unidade isoprênica e são obtidos por hidrodestilação, compondo os óleos essenciais. Esses compostos têm seu isolamento e uso desde a Antigüidade, apresentando diversas aplicações, principalmente na produção de perfumes, cosméticos e medicamentos. Com o progresso da química farmacêutica, hoje é possível conhecer as propriedades físico-químicas, farmacológica e cosmética desses compostos.

Os Terpenos apresentam somente átomos de carbono e hidrogênio na sua estrutura, sendo chamados Terpenóides quando contém o oxigênio como heteroátomo. Mas ambos apresentam em comum o isopreno, que é o 2-metil,1,3-butadieno. (Figura 01)

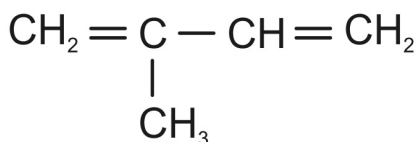


Figura 01 – Estrutura química do 2-metil,1,3-butadieno.

A maioria dos terpenos possui esqueleto carbônico de 10 a 30 unidades.

São classificados quanto ao número de carbonos em:

- Monoterpenos – 10 átomos de carbono;
- Sesquiterpenos – 15 átomos de carbono;
- Diterpenos – 20 átomos de carbono,
- Sesterpenos – 25 átomos de carbono, e;
- Triterpenos – 30 átomos de carbono.

Com o avanço da Bioquímica, hoje sabemos que os vegetais não sintetizam os terpenos a partir do isopreno, mas o fato de que a unidade isoprênica faz parte da estrutura dos terpenos foi de grande valia para a elucidação de suas estruturas.

Na biossíntese dos terpenos e dos terpenóides, a estrutura química básica para sua formação é o Pirofosfato de 3-metil-3-butenila, que sofre o processo de isomerização enzimática, formando o Pirofosfato de 3-metil-2-butenila.

A união de duas moléculas do precursor dos terpenos e terpenóides: o Pirofosfato de 3-metil-2-butenila, formam o primeiro terpenóide que é o Pirofosfato de geranila, com 10 carbonos, o qual se constitui o precursor dos monoterpenos. Estes, por sua vez, formam os sesquiterpenos, os diterpenos e os triterpenos (SOLOMONS; FRYHLE, 2002).

Como exemplos de compostos isoprênicos e isoprenóides largamente estudados, cuja ação preventiva e curativa já é bastante conhecida, podemos citar o licopeno, o β -Caroteno, a vitamina A e o geraniol; além de outros compostos

recentemente descobertos, a partir do vegetal *Taxus sp*, cujo princípio ativo é um diterpenóide, o taxol. Os estudos fitoquímicos e farmacológicos do taxol demonstraram ser um potente anti-tumoral. Essa substância natural age por mecanismo de estabilização dos microtúbulos e inibe a despolimerização da tubulina livre (VANHAELEN, 1992).

Estruturas terpênicas de importância biológica (Figura 02):

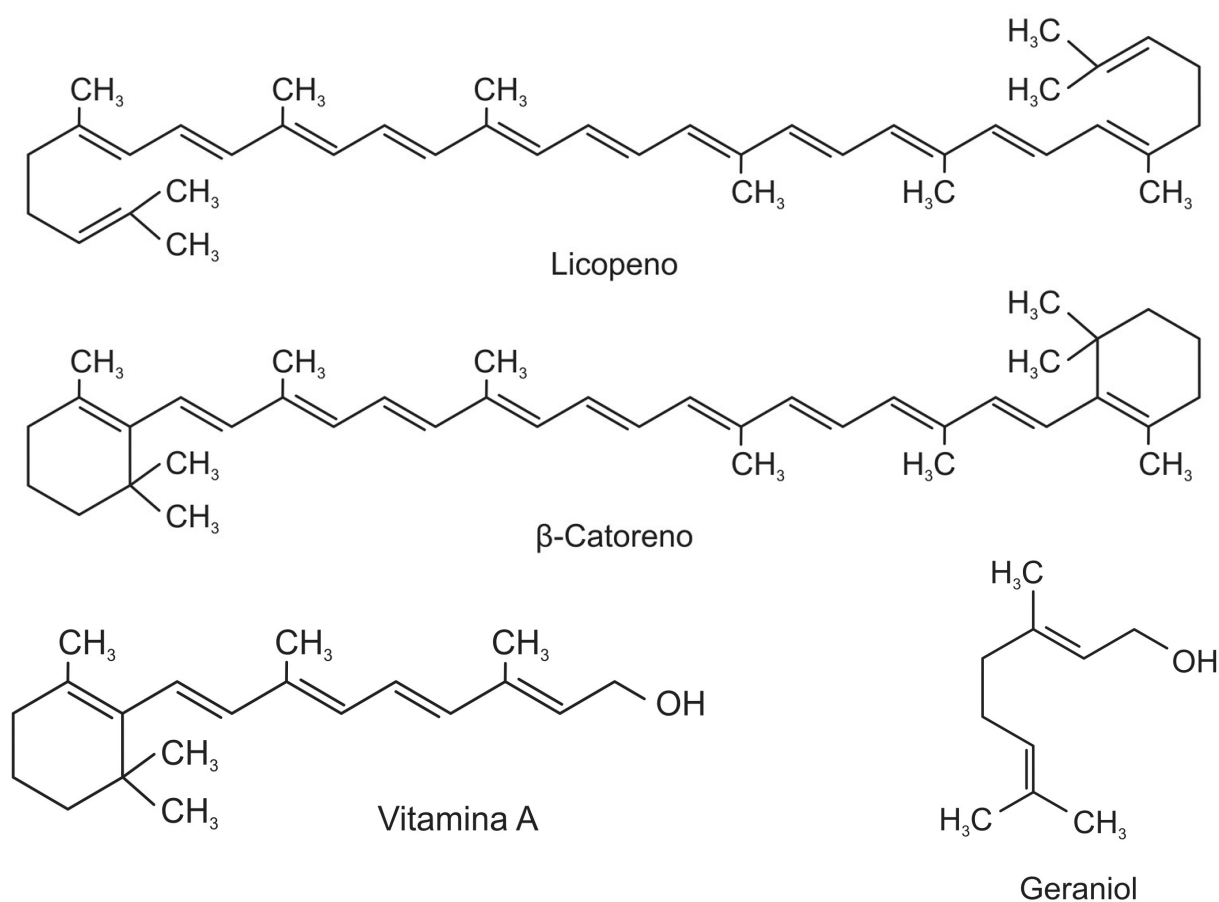


Figura 02 – Estruturas terpênicas.

1.2.1 Os 5 compostos mais abundantes no O.E. do *Ocimum basilicum* L. (1,8 Cineol, Linalol, Geraniol, Acetato de Nerila e α -trans bergamopteno.).

Os cinco compostos mais abundantes presentes no OE do *Ocimum basilicum* L. que apresentam abundância relativa maior que 1% e possuem estruturas terpênicas são:

a) 1,8-Cineol (7,47%): é um óxido terpênico, sendo o principal constituinte do Óleo Essencial do Eucalipto (*Eucalyptus globulus habill*) (Figura 03). É empregado na indústria farmacêutica nas formulações medicamentosas, como rubefaciante, descongestionante, anti-tussígeno, empregado também na aromoterapia (SANTOS; RAO, 2000). Foi recentemente mostrado que 1,8-Cineol apresenta propriedades irritantes, induz edema local quando injetado de forma subplantar na pata traseira do rato e desempenha um papel-chave para os mastócitos no efeito edematogênico (SANTOS; RAO, 2000). Também é usualmente aplicado para o tratamento de bronquites, sinusites e reumatismos (McGILVERY; RIDE, 1993 *apud* SANTOS; RAO, 2000).

CAS (Chemical Abstract Service) # 470-82-6

Nome químico: 2-oxabicyclo [2,2,2] octano, 1,3,3-trimetil

Fórmula molecular: $C_{10}H_{18}O$

Peso Molecular: 154,24

Sinônimos: cajupol, eucaliptol, terpan

Usos: rubefaciante, analgésico, antitussígeno e antiinflamatório

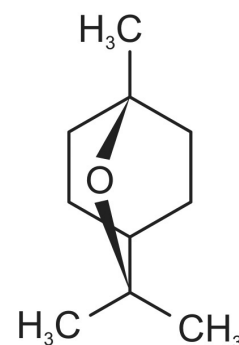


Figura 03 – Estrutura do 1,8-Cineol.

b) *Linalol* (69,54%): é um álcool monoterpênico, comumente encontrado como o maior componente dos Óleos Essenciais de várias espécies de plantas aromáticas, algumas das quais são freqüentemente utilizadas na Medicina

tradicional, como analgésico e antiinflamatório (Figura 04). É o enantiômero (-) linalol que ocorre naturalmente (PEANNA *et al.*, 2003).

CAS # 78-70-6

Nome químico: 1,6 octadieno 3-ol, 3,7-dimetil

Fórmula molecular: C₁₀H₁₈O

Peso Molecular: 154,24

Sinônimos: álcool linólico

Usos: analgésico, antiinflamatório e cosmético (perfume)

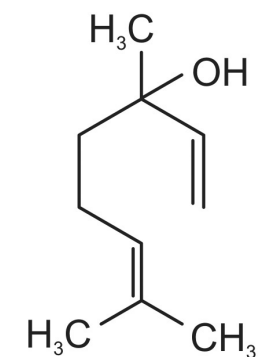


Figura 04 – Estrutura do Linalol.

c) *Geraniol* (12,55%): é um álcool monoterpênico, sendo o principal componente da rosa e da palma-rosa; ocorre também em pequena quantidade no gerânio, no limão e na citronela (Figura 05). É utilizado como flavorizante, e tem aplicação alternativa como repelente. Em solução ácida, o Geraniol se converte em terpeno cíclico: o α -terpeniol. Recentes estudos mostraram que os monoterpenos exercem atividade antitumoral, e sugerem serem estes compostos uma nova classe de agentes químicos preventivos para o câncer (CROWELL, 1999; ELSON; YU, 1994; KELLOFF *et al.*, 1996 *apud* CARNESECCHI *et al.*, 2001).

Mais recentemente, o Geraniol, que é encontrado em limões e óleos de ervas aromáticas, mostrou exercer atividade antitumoral *in vitro* e *in vivo*, contra leucemia murina, hepatoma e células de melanoma (BURKE *et al.*, 1997; SHOFF *et al.*, 1991; YU *et al.*, 1995 *apud* CARNESECCHI *et al.*, 2001).

No estudo dos efeitos do geraniol (400 μ M) durante o crescimento das células (Caco2) do câncer do cólon humano, houve uma inibição de 70% do crescimento celular e ao mesmo tempo a inibição da síntese de DNA. Não foram detectados sinais de citotoxicidade ou apoptose. O geraniol provocou a diminuição

em 50% da atividade da ornitindexacarboxilase, enzima chave na biosíntese de poliaminas, a qual a enzima é aumentada no crescimento do câncer (CARNESECCHI *et al.*, 2001).

CAS # 106-24-1

Nome químico: 2,6-octadieno 1ol, 3,7-dimetil

Fórmula molecular: $C_{10}H_{18}O$

Peso Molecular: 154,24

Sinônimos: rodinol, álcool gerânico, guaniol, lemonal

Usos: na cosmética, como perfume, antioxidante e antitumoral.

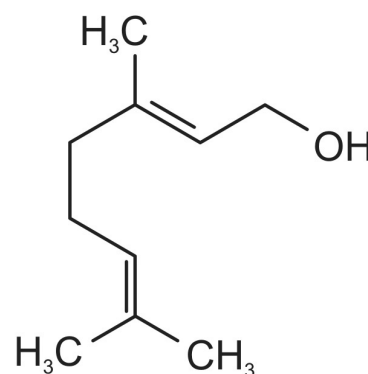


Figura 05 – Estrutura do Geraniol.

d) *Acetato de Nerila* (3,58%): é um éster terpênico muito abundante no neroli e na casca da laranja (Figura 06). É empregado na indústria de cosméticos e em perfumaria. Na literatura pesquisada não foram encontrados estudos farmacológicos.

CAS # 141-12-8

Nome químico: 2,6-octadieno, 1ol 3,7-dimetil-acetato

Fórmula molecular: $C_{12}H_{20}O_2$

Peso Molecular: 196

Sinônimos: nerol acetato

Usos: cosmético, como perfume

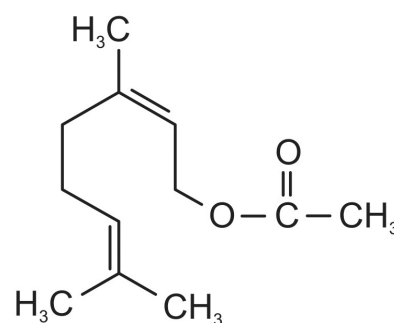


Figura 06 – Estrutura do Acetato de Nerila.

e) α -*Trans bergamopteno* (1,17%): é um hidrocarboneto terpênico de uso não-determinado (Figura 07).

CAS # 13474-59-4

Nome químico: *biciclo [3,1,1] hept-2-eno 2,6-dimetil*

Fórmula molecular: $C_{15}H_{24}$

Peso Molecular: 204

Sinônimos: *2-norpireno*

Usos: *não-determinados*

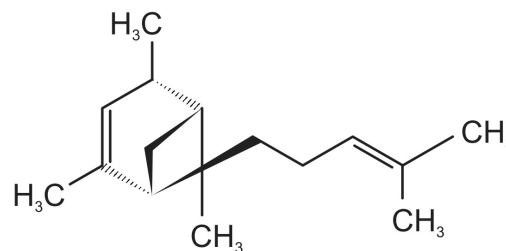


Figura 07 – Estrutura do α -Trans bergamopteno.

1.3 Fitoterapia

O conceito de Fitoterapia deriva de duas palavras de origem grega: $\varphi\upsilon\tau\acute{o}\nu$ (*phiton*), que significa planta, e $\theta\epsilon\rho\alpha\pi\acute{\epsilon}\iota\alpha$ (*terapeía*), significando tratamento. Portanto, é a “terapia com plantas”. O termo Fitoterapia foi utilizado pela primeira vez pelo médico francês Henri Leclerc (1870-1955), que viveu e trabalhou em Paris. Sendo assim, o conceito de Leclerc diz: “fitoterapia é a ciência que se ocupa do emprego do medicamento vegetal para a cura das doenças humanas e dos animais” (WEISS, 1991). As experiências de Henri Leclerc estão registradas no seu livro *Lineamento di Fitoterapia*, Edições Aporie, que se tornou um clássico. A sua vida e a sua obra foram ressaltadas na dedicatória de *Presse médicale*, de 14 de maio de 1955 (WEISS, 1991).

O uso de plantas para a cura dos males é tão antigo quanto à própria humanidade. Também era utilizada em cerimônias religiosas para causar um efeito “místico”. Mais tarde foi descoberto que este efeito era devido a plantas que tinham propriedades ansiolíticas, e por isso deixavam os adeptos tranquilos e com ares de

contentamento. Um exemplo a ser citado é o de que os povos das Ilhas Oceânicas usavam o *kava kava* (*Piper methysticum*) como calmante e relaxante durante determinados ritos. Hoje a utilização das plantas medicinais já se constitui em uma alternativa para o tratamento de várias doenças, podendo ser considerada, portanto, um ramo da Medicina. Apesar do Conselho Federal de Medicina não a considerar ainda, há uma corrente muito forte de médicos naturalistas lutando para que a Fitoterapia seja oficialmente reconhecida como uma especialidade médica.

É sempre prudente alertar a população e os profissionais que lidam com a Fitoterapia, sobre a crença popular que propaga “o que vem das plantas não faz mal”. Este não é um conceito absolutamente correto, lembra Carlini (1973).

Os produtos que são originados de plantas são chamados genericamente de fitoterápicos, considerados como um importante instrumento na terapêutica, pois contêm princípios biologicamente ativos, e muitos desses são utilizados como modelo para síntese de vários fármacos. Cerca de 200 espécies de plantas encontradas no Brasil são empregadas na Medicina popular para o tratamento de doenças renais, infecções intestinais e urinárias, diabetes, hepatite, entre outras. Vários constituintes desses vegetais, quando isolados ou em sinergismo com outros compostos, têm ação analgésica, antiinflamatória, antiviral, hipoglicemiante, antiespasmódica e antialérgica (GUERRA; NODARI, 2001 *apud* CALIXTO *et al.*, 1997). Essas ações parecem ser exercidas por determinados grupos químicos: os flavanóides, os taninos, os alcalóides, as cumarinas, as lignanas, os terpenos e outros presentes nos produtos fitoterápicos.

1.4 Regulamentação dos Fitoterápicos

Os primeiros atos normativos referentes às plantas medicinais do Brasil vieram dos regimentos portugueses, por volta dos anos 1520 a 1631. Como não havia uma legislação nacional, era utilizado o *Codex Medicamentarius Gallicus*, regulamento de origem francesa, até aproximadamente 1929. Este era o Código adotado como o documento oficial brasileiro.

Porém, com o crescimento do uso indiscriminado dos fitoterápicos no Brasil, houve a necessidade de uma regulamentação mais específica e atualizada sobre o assunto. Para tal, foi editada a Portaria nº22 de 30/10/1967, elaborada pelo Ministério da Saúde, pelo já extinto Serviço Nacional da Fiscalização, da Medicina e da Farmácia, que estabeleceu normas para empregos de preparações fitoterápicas.

A Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, na Portaria nº 6/MS/SNVS, de 31 de janeiro de 1995, instituía e normatizava o Registro de Produtos Fitoterápicos junto ao Sistema de Vigilância Sanitária. Esta Portaria legalizava, assim, a definição de produto fitoterápico: “é todo medicamento tecnicamente obtido e elaborado, empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais com finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnósticos, com benefício para o usuário, e caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. É o produto final acabado, embalado e rotulado” (BRASIL, 1995).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), órgão regulador das ações de Saúde Pública editou a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC nº 17), de 24 de fevereiro de 2000, que aprovou o Regulamento técnico, visando normatizar o Registro de Medicamentos Fitoterápicos, remodelando o conceito anterior e

ganhando o *status* de “medicamento fitoterápico”. A mesma revoga a Portaria anterior, trazendo o avanço de não mais considerar um fitoterápico aquele produto que, na sua composição, contenha substâncias ativas isoladas de qualquer origem, nem mesmo as associações destas com extratos vegetais. A nova redação passa a ser a seguinte: medicamento farmacêutico obtido por processos tecnologicamente adequados, empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Não se considera medicamento fitoterápico aquele que, na sua composição, inclua substâncias ativas isoladas, de qualquer origem, nem as associações destas com extratos vegetais (BRASIL, 2000).

A Portaria supracitada exige, ainda, que sejam apresentados estudos científicos de Toxicologia Pré-Clínica (submetida à Resolução RE n° 90 de 16 de março de 2004, que publica o Guia para realização de estudos pré-clínica de fitoterápicos) e Toxicologia Clínica, que comprovem a segurança do medicamento e a eficácia terapêutica, de acordo com as exigências estipuladas pelo Conselho Nacional de Saúde (Resolução n° 196/96).

Anos após, em 2004, a ANVISA, avaliando a necessidade de aprimorar a legislação específica, editou uma nova resolução que aprova o Regulamento Técnico, a fim de atualizar a normatização do registro de medicamentos fitoterápicos. Insere também avanços, reconhecendo a importância da Etnofarmacologia e incluindo a obrigatoriedade dos ensaios clínicos de fase III.

Nesta norma, são regulados ainda os serviços de controle de qualidade (quando terceirizados), submetendo-os às exigências da Rede Brasileira de Laboratórios em Saúde (REBLAS), ou ainda, a instituições que tenham certificado de

Boas Práticas de Fabricação e Controle (BPFC) satisfatório, atualizado e expedido pela ANVISA.

É louvável que nestes 10 últimos anos, o Ministério da Saúde, através do seu órgão máximo de fiscalização e controle, a ANVISA, tenha se preocupado e promovido avanços na legislação sanitária geral, em especial concernente à Fitoterapia. No entanto, esses avanços na legislação não ocorreriam sem a realização dos pressupostos éticos e preceitos técnico-científicos sobre os medicamentos fitoterápicos, a exemplo do trabalho que aqui é proposto.

1.5 Plantas Medicinais

As plantas medicinais utilizadas na conhecida “Medicina popular brasileira” têm a sua manipulação realizada de forma artesanal e empírica, sem estudo científico adequado. Tais produtos eram antigamente manipulados por pajés e feiticeiros; hoje em dia ainda pode ser encontrado seu uso por benzedadeiras e curandeiros, que preparam as chamadas “garrafadas” em suas próprias casas. São os chás, as infusões, as inalações, os ungüentos e os banhos “de assento”, que se constituem como práticas populares, notadamente nas pequenas cidades do Norte e do Nordeste brasileiro.

A ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, percebendo a necessidade de normatizar o uso das plantas medicinais, publicou uma relação, constante na Resolução RDC Nº. 17, das principais plantas da flora brasileira mais comumente utilizadas (TABELA 03).

TABELA 03 – Principais plantas medicinais utilizadas no Brasil

Nome popular	Nome científico	Parte usada	Formas de uso	Indicação terapêutica
ALCACHOFRA	<i>Cynara scolymus</i>	Folhas	Infusão, decocção, tintura (1:5)	Colerético, hepatoprotetor, colagogo
ALHO	<i>Allium sativum</i>	Bulbo	Bulbo fresco ou seco, tintura, óleo, extrato seco	Coadjuvante no tratamento de hiperlipidemia e hipertensão arterial leve, prevenção da aterosclerose
BABOSA	<i>Aloe vera</i>	Gel mucilagem das folhas	Creme, gel	Tratamento de queimaduras térmicas (1° e 2° graus) e radiação
BOLDO-DO-CHILE	<i>Peumus boldus</i>	Folhas	Infusão	Colagogo e colerético
CALÊNDULA	<i>Calendula officinalis</i>	Flores	Infusão, tintura	Cicatrizante, antiinflamatório e antisséptico
CAMOMILA	<i>Matricaria recutita</i>	Capítulos florais	Infusão, tintura	Antiespasmódico, antiinflamatório
CONFREI	<i>Symphytum officinale</i>	Folhas e raízes	Infusão, decocção	cicatrizante
ERVA-DOCE	<i>Pimpinella anisum</i>	Frutos	Infusão	Antiespasmódico, carminativo e expectorante
GENGIBRE	<i>Zingiber officinale</i>	Raízes	Infusão, decocção	Profilaxia de náuseas causadas pelo movimento (cinetose), e pós-cirurgias
HORTELÃ	<i>Mentha piperita</i>	Folhas	Infusão, tintura (1:5)	Carminativo, expectorante
MELISSA	<i>Melissa officinalis</i>	Folhas	Infusão, tintura (1:10)	Carminativo, antiespasmódico, sedativo
MARACUJÁ	<i>Passiflora incarnata</i>	Folhas	Infusão, tintura (1:8)	Sedativo
SENE	<i>Cássia senna</i>	Folhas e frutos	Infusão	Laxante suave

Fonte: RDC-17, ANVISA, 2000.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Toxicidade Aguda

Embasado nos princípios da Toxicologia toda, a substância pode ser considerada um agente toxicante, dependendo das condições da exposição como dose, tempo, frequência da exposição e as mais variadas vias de administração. Por estas razões, é imprescindível conhecer as condições de uso seguro das diversas substâncias químicas que podem ser de origem vegetal, animal ou mineral, para que não ocorram danos à saúde humana ou animal, ou mesmo levando à ocorrência de agravos ao meio ambiente e de óbitos.

A Toxicidade de uma substância a ser testada para fins farmacológicos e terapêuticos deve ser o primeiro passo que um investigador toxicologista ou farmacologista precisa determinar, a fim de que, durante os experimentos, não venha a ter surpresas desagradáveis com os efeitos nocivos aos animais de experimento ou até mesmo a morte deles. Uma substância altamente tóxica promoverá um efeito danoso ao organismo vivo e/ou ao ambiente, ainda quando empregado em mínimas quantidades, enquanto que as substâncias de baixa toxicidade precisam de altas doses para promover um efeito tóxico.

Define-se como dose a quantidade do xenobiótico, de origem química, biológica ou até mesmo física, administrada a um organismo vivo exposto.

Um dos fatores de grande importância a ser considerado nos experimentos farmacológicos ou toxicológicos é a relação dose-resposta (conhecida também como concentração-resposta), que é representada por uma curva gaussiana teórica, visto que na prática raramente é encontrada (OGA, 1996). Esta

curva é amplamente utilizada para calcular a dose letal cinquenta por cento, ou seja, a menor concentração que mata a metade da população dos animais submetidos ao experimento, tendo como sigla DL_{50} .

O estudo da toxicidade aguda (DL_{50}) deve ser previamente planejado, pois é sabido que inúmeros fatores podem influenciar os resultados, sendo eles inerentes às variações do próprio animal, às substâncias, às instalações e aos fatores periódicos (LARINI, 1999), a saber:

- 1) Variáveis relacionadas aos animais: espécie, idade, linhagem, sexo, estado nutricional, estado de higidez;
- 2) Variáveis relacionadas às substâncias: via de administração, veículo, volume, velocidade de administração, impurezas, estado físico, concentração molar, solubilidade, etc.;
- 3) Variáveis relacionadas às instalações e ao alojamento dos animais: tipo de gaiola, temperatura, umidade, aeração, duração do período de ambientação dos animais, ciclo dia-noite, ração, ruídos e outros fatores estressantes.

2.2 Dor

Desde os mais remotos tempos, sempre foi uma grande preocupação para o ser humano compreender a etiologia da dor e, ao mesmo tempo, tentar aliviar-se desse mal. Naqueles tempos, a dor era interpretada como sendo um castigo divino ou como uma influência de espíritos do mal que se apoderavam do corpo. Eram utilizadas as mais variadas práticas para a supressão da dor: sacrifício aos deuses, práticas de exorcismo ou até a sangria para eliminação dos maus fluidos. Eram também usados extratos ou sucos das mais diversas ervas, como a

papoula, maconha, e outras. Desta forma, já se delineava a importância das plantas, quando manipuladas para aliviar a dor.

Essa sensação desagradável e de complexa percepção, indo de um pequeno desconforto até um processo destrutivo, com graves danos aos tecidos, pode ser expressa por reação orgânica e emocional. Porém, a melhor definição é aquela proposta pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (*International Association for the Study of Pain – IASP*): “a Dor é uma experiência emocional com sensação desagradável, associada à lesão tecidual presente, potencial ou descrita como tal”.

Apesar de ser uma sensação desagradável aos animais, ela tem um importante papel biológico de denunciar quando algo não vai bem. Portanto, serve como sinal de alerta para a preservação da vida.

Existem casos raros de pessoas que por nascerem com deficiência congênita no mecanismo fisiológico da dor não chegam à fase adulta; pois, com a falta desse importante sistema de alerta, ficam vulneráveis a acidentes e, por conseguinte, a graves lesões teciduais. Portanto, a vida cotidiana torna-se um constante risco à integridade física (LENT, 2004).

2.2.1 Teorias sobre a dor: um breve comentário

Várias foram as tentativas de explicar o fenômeno da dor. Como ilustração são apresentadas, resumidamente, diversas teorias, desde a filosófica até a atual, de concepção anátomo-bioquímico-fisiológica. Na literatura sobre o assunto, um dos primeiros filósofos a se interessar pelo estudo da dor foi Aristóteles, na Grécia Antiga, o qual interpretava a dor como sendo uma experiência contrária ao

prazer e imputava ao coração como sendo o centro das sensações. Tal concepção perdurou ao longo da história por mais de 20 séculos. Todavia, foi Descartes que evidenciou, através de estudos anatômicos e fisiológicos, a existência de nervos que serviram para receber as informações sensoriais da periferia e transportá-las até o cérebro (PRADO, 2001).

Entre 1816 a 1826, Bell e Muller propuseram a Teoria da Especificidade, ou seja, “a dor seria originada da ativação de receptores e vias condutoras específicas periféricas e centrais, tal como nos casos da audição e visão” (MENEZES, 1999). Essa concepção não perdurou por causa de estudos posteriores que afirmavam serem a medula e o cérebro partes fundamentais, com suas influências inibidoras e emocionais para o fenômeno da dor.

Uma outra teoria que teve breve aceitação foi a Teoria da Inespecificidade. De acordo com essa idéia, a dor seria o produto da ativação de vários receptores inespecíficos tais como os receptores de tato, calor e frio que, quando estimulados acima de seus respectivos limiares, produziram a dor.

No ano de 1965, os autores Melzack e Wall uniram a Teoria da Especificidade à da Inespecificidade e propuseram a chamada Teoria da Comporta ou Teoria do Portão da Dor. Conforme esses estudiosos, haveria a inibição pré-sináptica em função do choque entre os potenciais dos aferentes primários e os potenciais antidrômicos negativos na raiz dorsal. Tais potenciais seriam originados nas células da Substância Gelatinosa (S.G.), no corno posterior da medula espinhal (CPME). Quando essas células são estimuladas, transmitem impulsos inibitórios, ou ainda, a ativação das fibras grossas bloquearia a transferência de informação dos aferentes primários para os neurônios do CPME, assim como as influências hiperpolarizantes dos aferentes de calibre fino. O mérito dessa teoria foi inserir o conceito

da interação sensorial e levantar a hipótese da participação de um sistema modulador específico no CPME (TEIXEIRA, 2003). Consoante à Teoria da Comporta, pode-se concluir que o primeiro local do controle dos impulsos nociceptivos é o CPME, no qual haveria um balanceamento entre os impulsos nódicos e não-nódicos para os centros superiores. Assim, os afarentes não-nociceptivos “desligam” (*OFF*) e os nociceptivos “ligam” (*ON*) a via para transmissão da dor até o córtex somestésico (PINTO, 2000).

É evidente que a dor produzida por estímulo lesivo funciona como um alerta, mas, quando ela permanece por um longo tempo, passa a produzir grande sofrimento ao organismo, muitas vezes desnecessário.

Do ponto de vista temporal, pode-se classificar a dor em aguda, que é aquela de duração curta, e que serve como alerta, e a crônica, demorada, que quase sempre denota um estado patológico.

Outros tipos de dor que possíveis de serem citadas são:

- 1) Dor por nocicepção – ocorre quando existe um traumatismo nos receptores nociceptivos, devido a alterações na sua estrutura anátomo-funcional com liberação de substâncias algogênicas nos tecidos.
- 2) Dor neurogênica – é aquela que ocorre com o dano diretamente sobre as inervações.
- 3) Dor inflamatória – caracterizada pela sensibilização dos neurônios produzida pela ativação da cascata de citocinas, as quais são substâncias de natureza peptídica, liberadas no tecido inflamatório e de células do sistema imunobiológico (RANG; DALE; RITTER, 2001).

- 4) Dor-fantasma ou dor do membro-fantasma – é aquela que ocorre quando os cotos nervosos irritados originam impulsos nervosos, interpretados pelo cérebro como se a dor ocorresse no membro amputado (MACHADO, 2002).
- 5) Dor por desaferentação – esta dor é caracterizada pela lesão das vias nervosas sensitivas periféricas e centrais por cirurgias ou traumas, podendo resultar na ocorrência de dor-fantasma.
- 6) Dor psicossomática – é a dor que ocorre influenciada por um estado psicológico alterado, produzindo uma repercussão somática.
- 7) Dor psicogênica – é aquela que não possui causa orgânica, mas se expressa em conseqüências de problemas psicológicos (MENEZES, 1999).
- 8) Dor visceral – dor proveniente da lesão em fibras viscerais.
- 9) Dor referida – manifesta-se quando a dor de uma estrutura somática ou visceral é sentida em local diferente da sua origem, porém innervada pelo mesmo nervo, isto é, quando há convergência dos neurônios das duas regiões para a mesma lâmina do corno dorsal (MENEZES, 1999). Como exemplo típico, os autores destacam a dor sentida no episódio de um infarto do miocárdio que pode se manifestar no ombro ou no braço esquerdo.

2.2.2 Bases anátomo-fisiológicas-bioquímicas da dor

Para a melhor compreensão do estudo das bases anátomo-fisiológicas-bioquímicas da dor, faz-se necessário o entendimento de algumas expressões importantes.

2.2.2.1 Receptores sensoriais

São células capazes de receber o estímulo externo (do ambiente) ou interno (em relação ao organismo). Nem sempre são neurônios, podendo ser exemplificados os receptores visuais, auditivos, gustativos, etc. Neurônios ou não, todos se conectam em sinapses com neurônios, estes são chamados de 2ª ordem (ou secundários), que se ligam aos de 3ª ordem (ou terciários), e assim sucessivamente. Os receptores sensoriais são classificados de acordo com a forma de energia que é captada, em: Mecanorreceptores (ou mecanoceptores), Quimiorreceptores (ou quimioceptores), Fotorreceptores (ou fotoceptores), Termorreceptores (ou termoceptores) e Nociceptores.

Os mecanorreceptores são sensíveis a estímulos mecânicos, contínuos ou vibratórios, exemplificando: os receptores auditivos. Os quimiorreceptores são receptores de estímulos químicos, isto é, respondem à ação de substâncias químicas. Exemplo: receptores olfatórios. Os fotorreceptores são aqueles sensíveis aos estímulos luminosos, sendo ligados diretamente à modalidade visual. Os termorreceptores são os sensíveis à diferença de temperatura e muitos estão situados na superfície da pele; outros estão dentro do cérebro, principalmente no hipotálamo. Enfim, os nociceptores são os receptores sensíveis a estímulos de grande intensidade das mais diversas formas de energia, estímulos estes que colocam em risco a integridade do organismo, causando lesões nos tecidos e células. Geralmente são terminações livres de fibras dos neurônios ganglionares da raiz dorsal da medula espinhal (M.E.) (LENT, 2004).

2.2.2.2 Classificação das Fibras Nervosas

As Fibras Nervosas podem ser classificadas em três tipos: Fibras A, B e C, conforme a categorização.

Fibras A – subdivididas em:

- a) Alfa (α) – são fibras mielinizadas relacionadas com a função motora;
- b) Beta (β) – fibras para o tato, pressão e vibrações;
- c) Gama (γ) – fibras para o tônus do fuso muscular; e,
- d) Delta (δ) – são fibras finamente mielinizadas.

Fibras B – são fibras pré-ganglionares simpáticas.

Fibras C – são fibras sem mielina, relacionadas com a dor.

Existem dois tipos de fibras nervosas para o estímulo doloroso: são as fibras A δ e as fibras C. Quanto à velocidade e à transmissão, a dor pode ser rápida (que é transmitida pelas fibras do tipo A δ , cuja velocidade varia de 12 a 30m/s). Exemplo: as fibras do trato neo-espinotalâmico.

Já a dor lenta, é transmitida pelas fibras do tipo C (com velocidade de 0,5 a 2m/s). Exemplo: as fibras dos feixes páleo-espinotalâmico e espino-reticular. Estes dois feixes são responsáveis pela dor surda e desagradável, correspondente a 80% das fibras que conduzem a dor. Estas fibras liberam peptídeos, dentre eles a substância P (sP), no CPME.

Assim como os feixes, as vísceras também apresentam nociceptores, os quais são responsáveis pela dor chamada dor visceral (MENEZES, 1999).

2.2.2.3 Estrutura do corno dorsal da Medula Espinhal

Foi Rexed que, em 1954, estudando a medula espinhal do gato, propôs a divisão da substância cinzenta em lâminas ou camadas, numeradas, em algarismo romano, de I (um) a X (dez) (Figura 08).

Segundo Menezes (1999), Roland descreveu a substância gelatinosa (S.G.) nas lâminas I e II. Porém, a maioria dos autores citam-na apenas na lâmina II.

A descoberta da SG no CPME é de grande importância no estudo no fenômeno da dor, pois é nessa lâmina que estão presentes os neurônios encefalinérgicos e GABAérgicos e os receptores opióides.

As lâminas III, IV e V são formadas por neurônios que fazem parte dos feixes espino-cervical e espino-reticular, que também são vias de condução do impulso doloroso. A lâmina V é aquela de determinação de fibras A δ e C, que recebem estímulos nocivos das lâminas I e II, e também os que provêm das vísceras. As lâminas VI, VII e VIII também conduzem os estímulos de nocicepção. A lâmina X fica em torno do canal central, possuindo neurônios encefalinérgicos e receptores opióides.

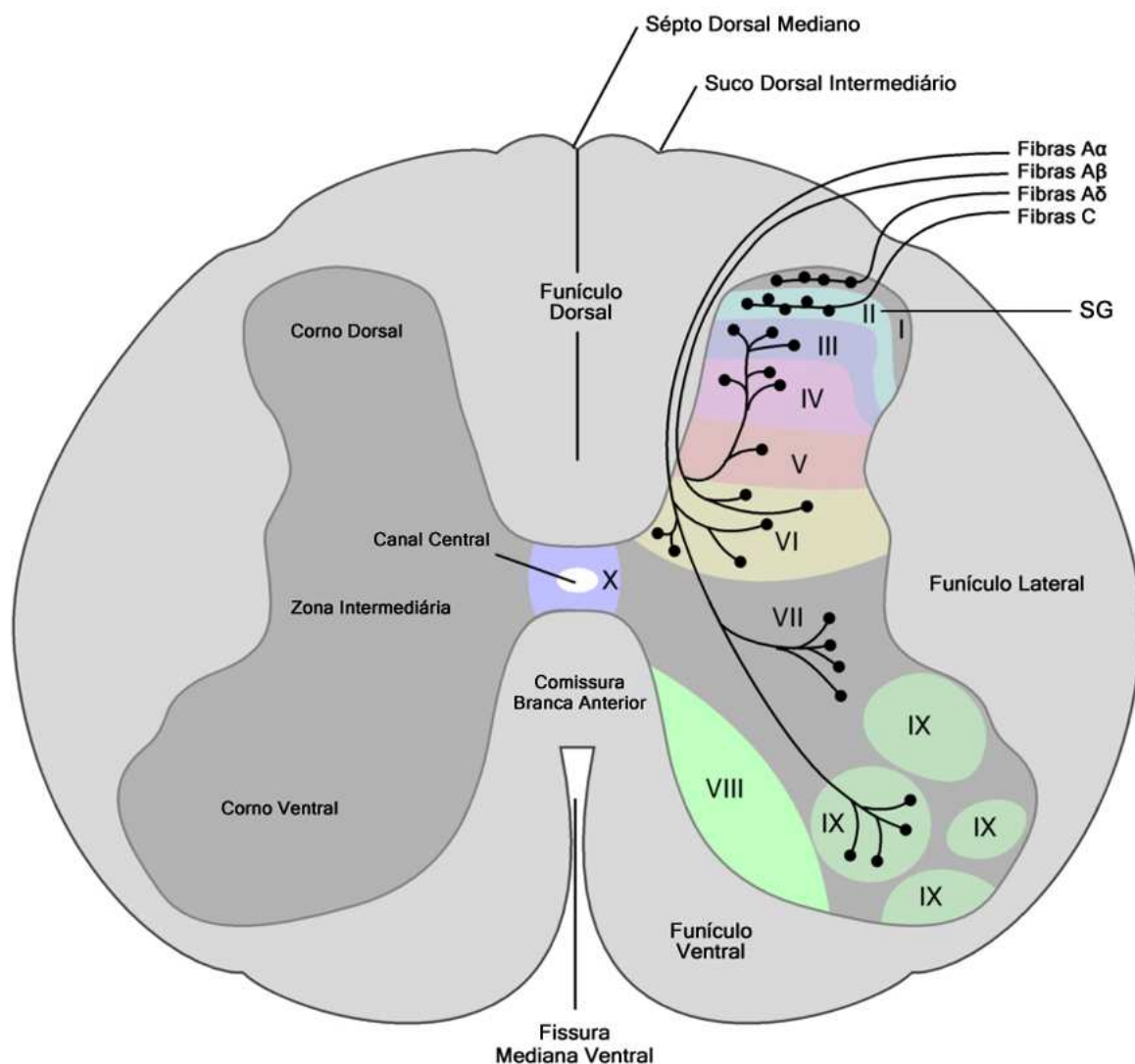


Figura 08 – Lâminas de Rexed (adaptado de ZIGMOND et al., 1999)

2.2.2.4 A condução do impulso nervoso

Os estímulos provenientes do meio externo geram potenciais de ação nos corpos celulares dos neurônios sensitivos que se propagam ao longo dos axônios que formam as sinapses com outros neurônios, modulando a informação até os centros superiores.

Os impulsos dolorosos saem dos nociceptores localizados nas mais diversas estruturas, tais como a pele, os músculos, as articulações, as vísceras, e vêm pelos axônios dos neurônios sensitivos primários, cujos corpos celulares

formam os gânglios da raiz dorsal, terminando no CPME e transmitindo a informação a neurônios secundários, terciários, até o córtex somestésico.

O estímulo doloroso proveniente dos receptores periféricos é conduzido pelas fibras que transmitem a dor até as lâminas I, II e V do CPME.

O corpo do neurônio de 1ª ordem está localizado no gânglio espinhal da raiz posterior dos nervos espinhais ou dos pares cranianos V, VI, VII, IX e X. O prolongamento central entra no CPME. Assim, o neurônio sensitivo primário faz sua primeira sinapse nas lâminas de Rexed.

O sinal neuronal “salta” de um neurônio para o outro através da fenda sináptica, por meio da liberação das substâncias que atuam nos receptores do axônio do neurônio subsequente (de 2ª ordem), e assim para o de 3ª ordem até o córtex cerebral.

2.2.2.5 Vias ascendentes da condução da dor

Os estímulos nociceptivos que chegam à medula espinhal são transferidos à estrutura superior cerebral: córtex somestésico, através de vários sistemas neurais compostos de fibras nervosas longas que são denominadas vias ascendentes da dor. Em relação ao número de vias que conduzem à dor, existem controvérsias entre os mais renomados neuroanatomistas. Alguns consideram classicamente duas vias: uma formada pelo tracto neoespinotalâmico (a mais nova filogeneticamente) e a outra pelo tracto paleoespinotalâmico.

Para melhor detalhamento e compreensão didática, adotamos a classificação que consta na literatura atual de Manoel Jacobson Teixeira *et al.* (2001), a seguir:

- 1) Tracto espinotalâmico – ainda existe controvérsia a respeito da origem das fibras desta via. Alguns estudos mostram que se originam nas lâminas I e V, outros se referem às lâminas I e IV, e ainda há estudiosos que conferem a origem desse tracto às lâminas I, IV, V, VI e VII do CPME. A maioria destas fibras veicula estímulos nódicos e não-nódicos, além de possuírem pequenas quantidades de fibras nociceptivas específicas. A maioria delas se distribui contra-lateralmente, ou seja, cruza a linha mediana da medula espinhal.
- 2) Tracto espinorreticular – a exata origem das fibras deste tracto ainda não foi definida com precisão. Existem evidências de que são originadas nas lâminas VII e VIII da substância cinzenta da medula espinhal. Há fibras espinorreticulares homolaterais e contralaterais. Este sistema parece não ser fundamental para o processo sensitivo e discriminativo da dor, mas há evidências que está envolvido com o fenômeno do despertar e contribui para manifestações emocionais, afetivas e neurovegetativas associadas à dor.
- 3) Tracto espinomesencefálico – também há indícios de que as fibras que compõem este tracto originam-se nas lâminas I e V. A maioria das fibras do tracto espinomesencefálico se distribui de forma contralateral.
- 4) Tracto espinocervical – as fibras deste tracto se originam nas lâminas I, III e IV do CPME e projetam-se no tálamo e na formação reticular.
- 5) Tracto pós-sináptico do funículo posterior e intracornual – A origem deste tracto não está definida, contudo as fibras deste tracto parecem originar-se nas lâminas IV, V e VI, ou ainda, III, IV e V do CPME (Figura 09).

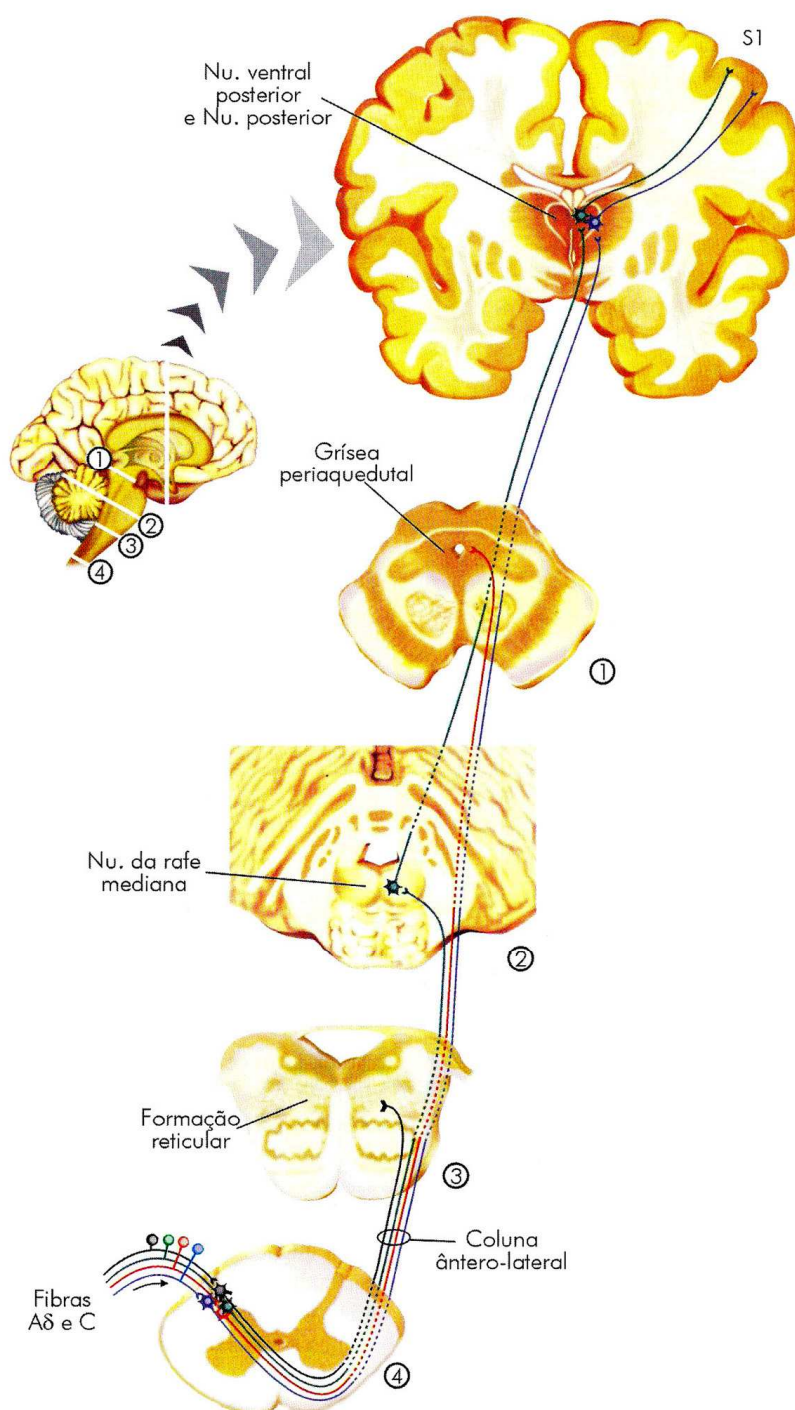


Figura 09 – Vias ascendentes da dor (LENT, 2004)

2.2.2.6 Mecanismos periféricos da dor

Como é sabido, os receptores da dor são distribuídos praticamente por todos os tecidos do organismo, exceção feita ao Sistema Nervoso Central que, por

mais paradoxal que seja, não há nociceptores neste nobre tecido; no entanto, eles estão presentes nos vasos sangüíneos cerebrais mais calibrosos e nas meninges. Existem nociceptores para os diferentes estímulos: mecânicos (ativados por intensa pressão), termo-receptores (ativados pelo calor), químicos e os receptores polimodais (aqueles que são ativados por estímulos químicos, térmicos ou mecânicos de elevada intensidade).

Quando um objeto perfurante pressiona a pele sem feri-la é possível sentir uma dor aguda e localizada, mas quando esse objeto a lesa, a sua retirada não impede que a pessoa sinta um segundo tipo de dor que dura algum tempo, tanto mais prolongada quanto maior for o ferimento. O primeiro tipo de dor que ocorreu se chama *dor rápida* ou *dor aguda*, enquanto que o segundo tipo é chamada de *dor lenta* ou *dor crônica*. O que distingue a dor crônica da dor aguda não é apenas a sua duração, mas a incapacidade do sistema nervoso em restabelecer a atividade neuronal em níveis homeostáticos (LOESER; MELZACK, 1999 *apud* VALE, 2000). A característica da dor rápida consiste na ativação de maior quantidade de terminações livres das fibras A δ , finas e amielínicas. A ação lesiva no tecido provocada por uma agulha, por exemplo, e por substâncias químicas liberadas após a lesão ativam ou sensibilizam os nociceptores constituídos por fibras livres do tipo C (que são também chamadas de receptores polimodais).

A simples sensibilização dos nociceptores provoca uma leve despolarização do seu potencial de repouso aproximando do limiar de disparo de potenciais de ação. Isto faz com que um leve estímulo que, normalmente, não produziria dor, passe a fazê-la. A este fenômeno dá-se o nome de *hiperalgia* (LENT, 2004). Quando um instrumento perfuro-cortante lesa a pele, naturalmente provoca sangramento, pois rompe vasos que irrigam o tecido, ocorrendo a anóxia nesta

região, conseqüentemente lesão celular e o aparecimento do processo inflamatório logo após. A inflamação costuma ser dividida em três fases: inflamação aguda, a resposta imune e a inflamação crônica. A inflamação aguda se refere à resposta inicial; a lesão tecidual é mediada pela liberação de autacóides também chamados de hormônios locais que são substâncias produzidas no próprio local da inflamação, que precede o desenvolvimento da resposta imune. São mediadores da inflamação aguda são: histamina, Serotonina, Bradicinina, Prostaglandinas e Leucotrienos. Mediadores da inflamação crônica: interleucina 1, 2 e 3, Fator de Necrose Tumoral (TNF α) e interferons (FURST; MUNSTER, 2003).

Durante a lesão, há a liberação de eritrócitos, plaquetas e leucócitos. Dentre estes, os leucócitos, encontram-se os mastócitos que são células produtoras e secretoras de substâncias algogênicas: a Serotonina, a Histamina, as células lesadas também produzem a Bradicinina (um peptídeo fortemente algogênico) e substâncias irritantes como os autacóides (Prostaglandinas, Prostaciclina e outros metabólitos produzidos na cascata do ácido araquidônico).

Com a despolarização dos nociceptores, há a produção, pelas próprias terminações nervosas, de prostaglandinas e de neuropeptídeos, a exemplo da substância P e do peptídeo relacionado com o gen da calcitonina (CGRP), os quais provocam vasodilatação local, eritema, com o prolongamento da dor e também causando edema. Essas ações provocam a reação inflamatória neurogênica (Figura 10).

Após a lesão e, conseqüentemente, o rompimento da membrana celular, ocorre a liberação de fosfolipídios.

A partir desses fosfolipídios liberados e através da ação catalítica da fosfolipase A, há a formação do ácido araquidônico, que é o precursor dos

mediadores da inflamação, os eicosanóides (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos), os quais não são pré-formados nos tecidos, mas produzidos após a ocorrência da lesão.

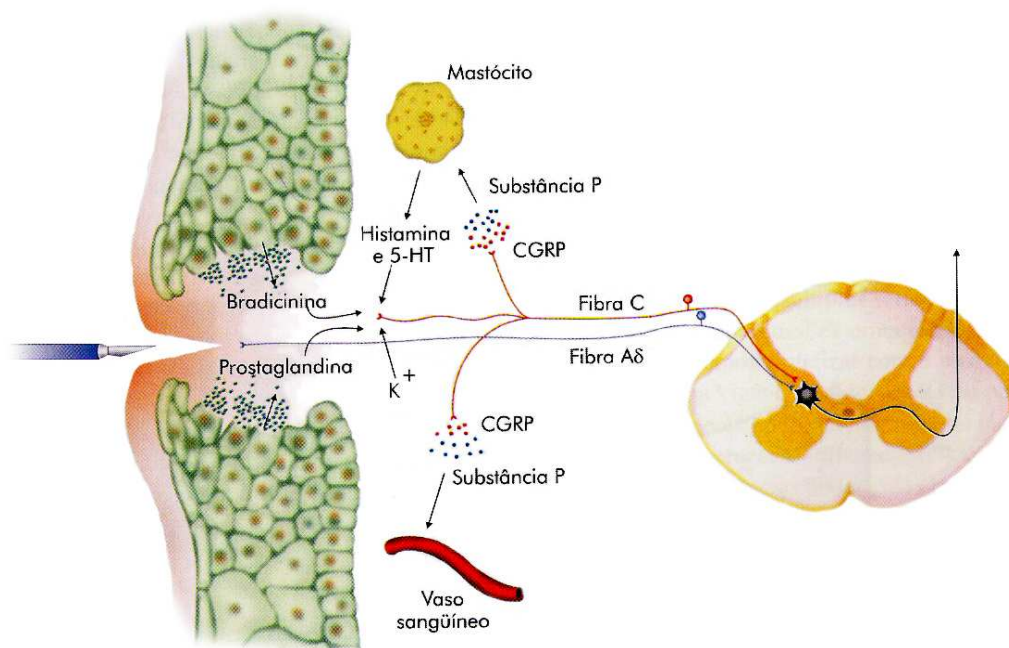


Figura 10 – Inflamação neurogênica (LENT, 2004).

A fosfolipase apresenta duas formas: uma encontrada no citossol e a outra, nos líquidos intracelulares. É a forma intracelular que está implicada na produção dos mediadores da inflamação.

Na reação em cadeia para a produção dos eicosanóides, o ácido araquidônico pode sofrer ação enzimática por duas vias diferentes: a via da ciclooxigenase (COX) e a via da lipooxigenase (LOX).

A Biossíntese das Prostaglandinas, Prostaciclina e Tromboxanos a partir do ácido araquidônico está resumida sob a forma de cascata de reações bioquímicas multienzimáticas, apresentada a seguir (Figura 11 e 12):

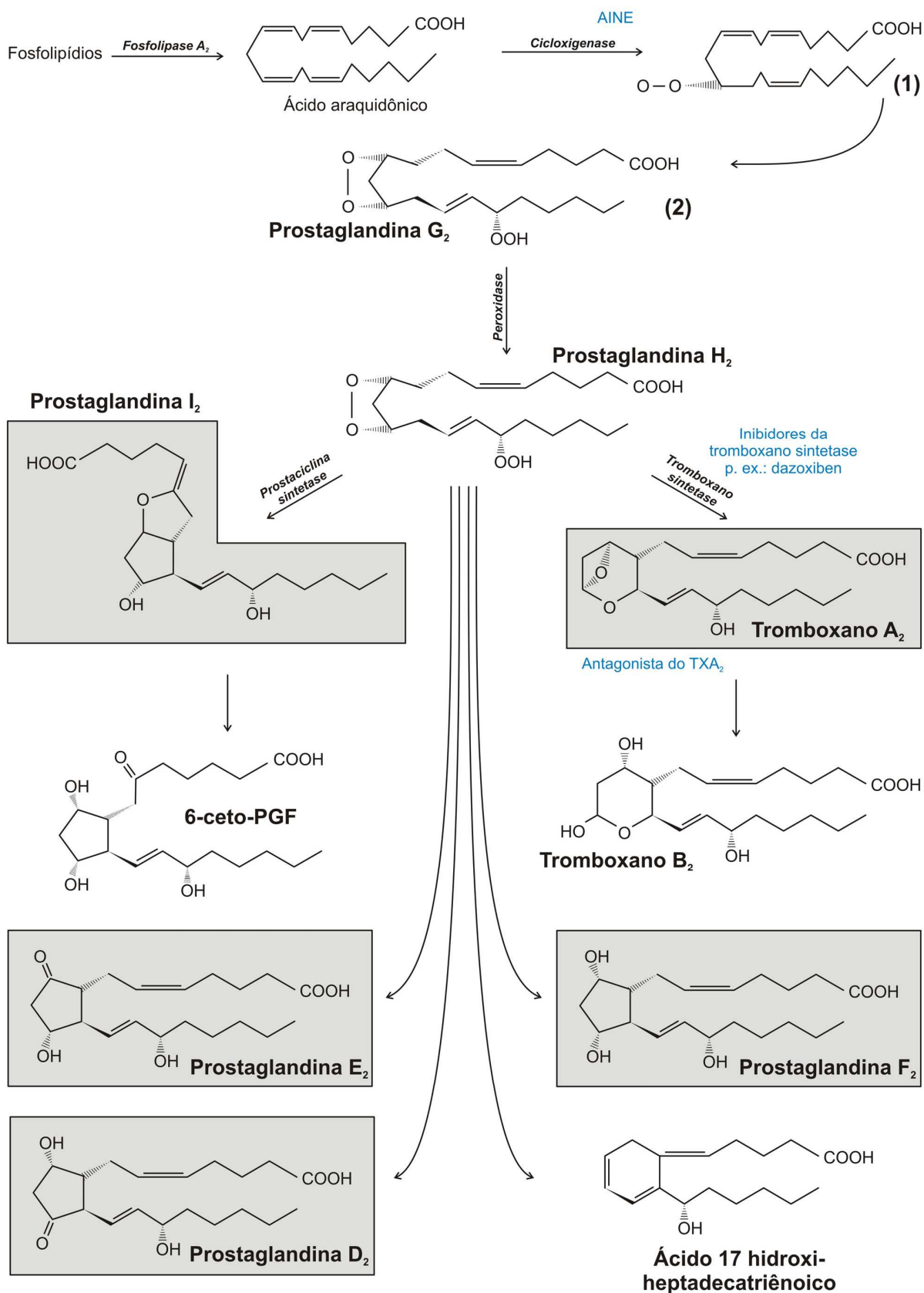
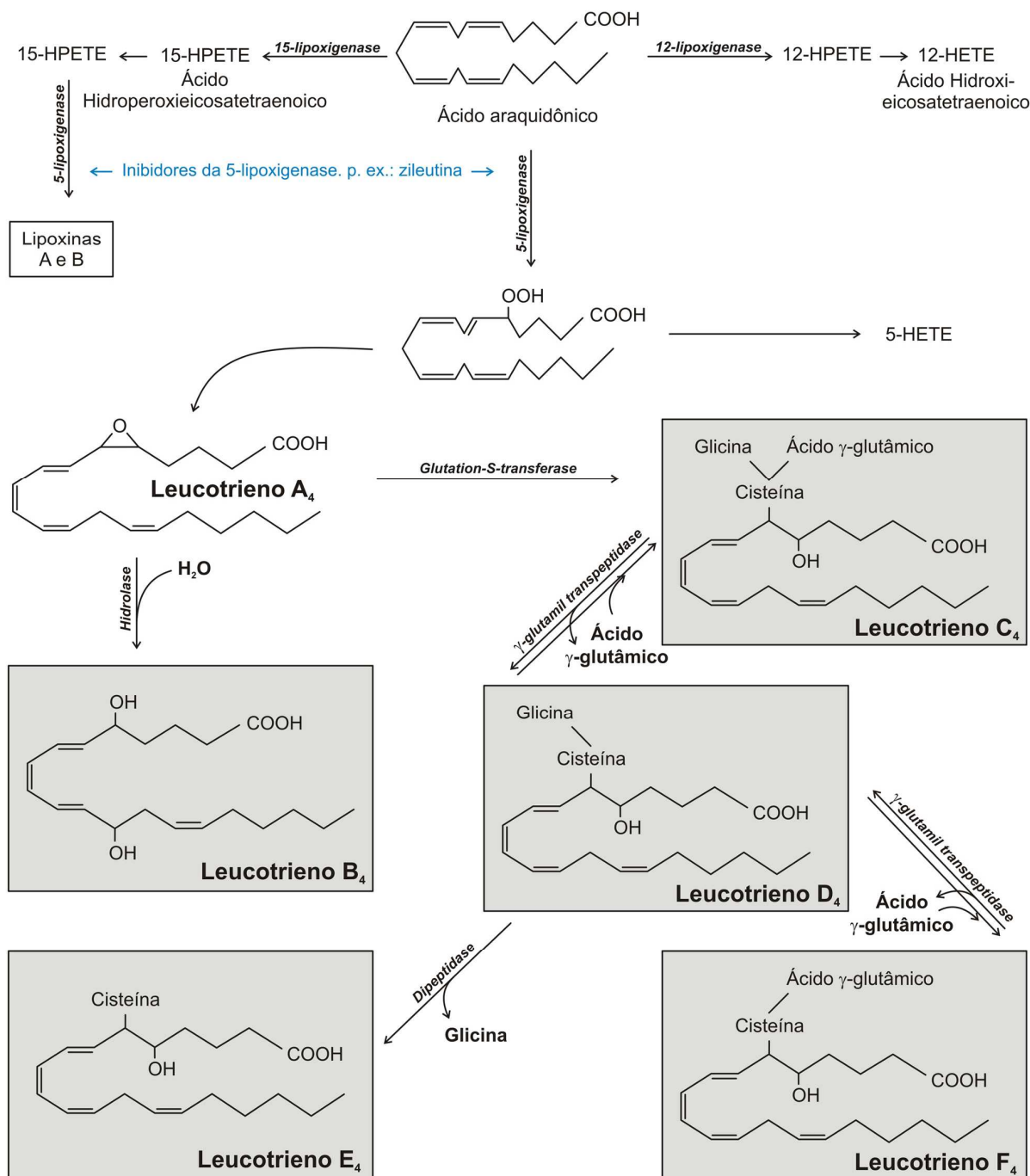


Figura 11 – Via da Cicloxigenase: em azul, estão sinalizados os locais de ação dos AINES (adaptado de RANG; DALE; RITTER, 2001).



2.2.2.7 Vias descendentes – controle da dor – analgesia

São os exemplos clássicos citados em quase toda a literatura que estudam a dor: o soldado ferido em uma batalha sente menos dor do que um indivíduo com ferimento semelhante, ocorrido em acidente doméstico (GUYTON,

1988; LENT, 2004), ou ainda, o exemplo do atleta que, em competição, sofre lesões graves e só as percebe posteriormente (PINTO, 2000). São evidências que comprovam a existência de vias antinociceptivas ou analgésicas de um controle autônomo da dor.

Estes sistemas endógenos de controle da dor podem ser ativados em diversas situações: estresse, doenças, comportamento cognitivo ou mesmo pela própria dor. O primeiro mecanismo de analgesia é simples e atua logo na entrada nas fibras nociceptivas da medula; essas fibras formam sinapses com os neurônios de 2ª ordem que estão no CPME. Esses neurônios recebem também sinapses inibitórias de interneurônios adjacentes que estão ativados pelas fibras A β , conduzindo as informações táteis. A consequência dessas ligações funcionais dentro da medula é que os impulsos táteis chegam à medula ao mesmo tempo que os impulsos dolorosos, por suas vias respectivas. E os impulsos táteis podem inibir a transmissão sináptica entre o neurônio primário nociceptivo e o neurônio de 2ª ordem, constituindo-se assim a 1ª via do controle da dor (Figura 13a).

A descoberta deste circuito neural serviu de base para a Teoria de Ronald Melzack e Patric Wall, conhecida como a Teoria da Comporta da Dor. Quem já não usou na prática essa teoria, que nada mais é do que aliviar a dor de um ferimento ou de um pequeno trauma por estimulação tátil, massageando ou comprimindo levemente a região afetada?

Um segundo mecanismo da dor (Figura 13b) descoberto logo após a Teoria da Comporta, mostra que as sinapses moduladoras da dor não estão presentes somente na medula, mas também em outros níveis das vias nociceptivas, e que os circuitos inibitórios não se constituem apenas em fibras A β . Hoje se sabe que existem vias descendentes moduladoras da dor que se originam no córtex

somestésico e no hipotálamo, projetando-se no mesencéfalo, mais precisamente na substância cinzenta periaquedutal (SCPA); e daí para os núcleos da rafe, que se interligam ao CPME.

Foi Reynolds que primeiramente demonstrou a participação dos mecanismos supra-espinhais, estimulando a SCPA do rato e obtendo uma analgesia profunda, fato que possibilitou a realização de cirurgias abdominais no animal sem precisar usar anestésicos químicos exógenos. Efeito semelhante pode ser obtido por estimulação do núcleo da rafe na formação reticular.

A estimulação elétrica ou farmacológica desses núcleos tem ação inibitória nociceptiva na medula, provocando o bloqueio da dor. Os sistemas inibitórios descendentes (cerebrais) caracterizam-se, principalmente, em duas vias descendentes: uma utiliza a β -endorfina, a Serotonina e a Encefalina como mediadoras; enquanto que a segunda via parece ter efeitos inibitórios medulares pela estimulação α -adrenérgica, que coincide com os efeitos analgésicos da clonidina, quando aplicada por via intratecal (BONNET *et al.*, 1990; HAYASHI; MAZE, 1993 *apud* VALE, 2000).

Os mecanismos inibitórios também podem ser segmentares, como ocorre no CPME. Neste nível, a estimulação das terminações aferentes primárias provoca a inibição da liberação dos neurotransmissores, principalmente da substância P. (REISINE; PASTERNAK, 1996 *apud* VALE, 2000). Nesses casos, a analgesia obtida depende de uma ligação entre a substância cinzenta periaquedutal ao núcleo magno da rafe, de onde saem fibras serotoninérgicas, indo pelo tracto espinhal do trigêmeo e fascículo dorso-espinhal da medula, terminando em neurônios internunciais encefalinérgicos situados no núcleo do tracto espinhal do trigêmeo e na substância gelatinosa.

Os neurônios internunciais encefalinérgicos inibem as sinapses entre os neurônios primários e secundários da via da dor, através do opióide endógeno, a Enkefalina (MACHADO, 2002).

2.2.2.8 Receptores Opióides

São substâncias protéicas transmembrânicas, nas quais os agentes agonistas opióides se acoplam. Pelo menos 4 receptores opióides foram descobertos e foram designados pelas letras gregas: μ (mi), κ (capa), δ (delta) e σ (sigma), sendo que este último foi recentemente descoberto. Estudos posteriores evidenciaram que os três primeiros receptores possuem subtítulos assim discriminados: μ_1 e μ_2 ; κ_1 , κ_2 e κ_3 ; δ_1 e δ_2 (MENEZES, 1999).

Quanto à localização, os receptores μ são encontrados principalmente nas lâminas I e II, também encontrados nas lâminas V e X, sendo concentrados nas proximidades da SCPA e do córtex cerebral.

Os receptores κ estão espalhados no CPME, em pequena quantidade, sem localização bem definida; também estão presentes no hipotálamo e SCPA mesencefálica. Os receptores δ estão localizados principalmente nas lâminas V e X, mas também podem ser encontrados nas lâminas I e II, estando em pequena quantidade na região cerebral. Os receptores σ estão localizados no cérebro e em pequena quantidade na medula espinhal.

O antagonista opióide clássico, a naloxona, age nos receptores μ e κ . Os analgésicos opiáceos, que se fixam nos respectivos receptores, recebem a denominação de receptores μ , κ e δ , respectivamente. Desses, o mais importante e o mais estudado foi a morfina.

Para melhor entendimento, faremos um resumo dos receptores com suas ações e conseqüências sobre o organismo:

Quando os receptores μ são estimulados produzem analgesia supra-espinhal, depressão respiratória, hipotermia, bradicardia, euforia, miose e dependência física. A estes receptores se ligam as encefalinas, as β -endorfinas e a morfina.

Os receptores κ , por sua vez, quando estimulados, produzem analgesia espinhal, miose e sedação. A estes receptores se ligam as dinorfinas.

Os receptores δ também quando estimulados, produzem analgesia, depressão cardíaca e respiratória e euforia. A eles se ligam as encefalinas, que estão presentes na substância gelatinosa (SG).

Uma vez sendo estimulados, os receptores σ produzem analgesia, disforia, psicose e efeitos psicomiméticos; ligam-se ainda a eles as substâncias psicomiméticas ou alucinógenas.

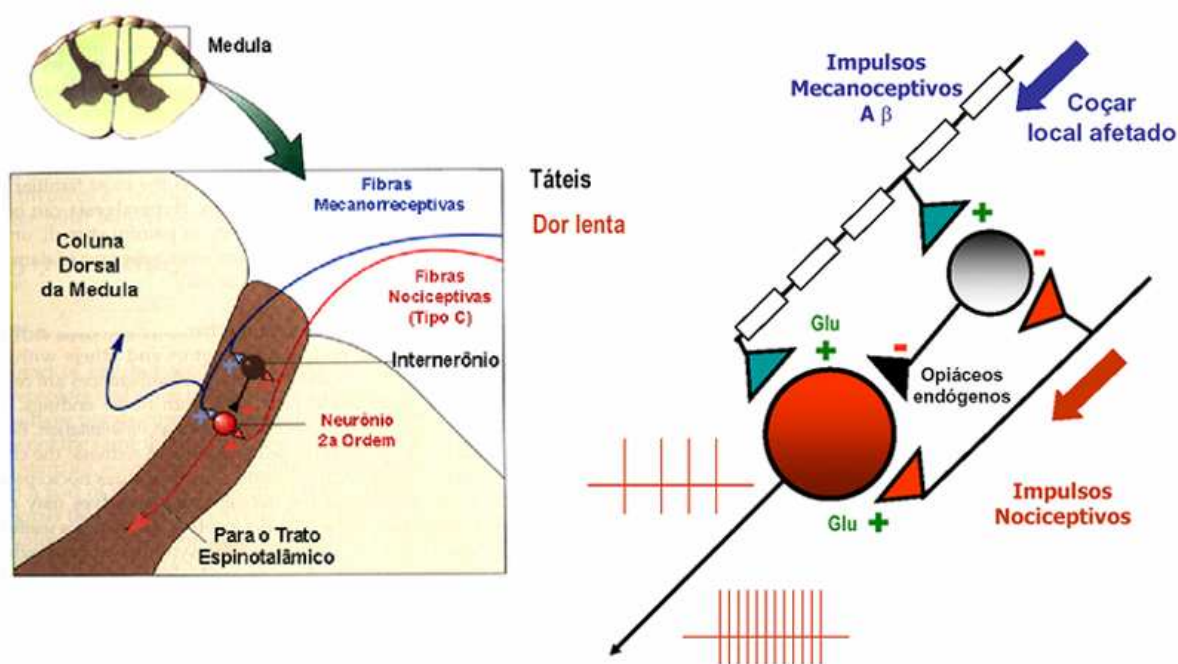


Figura 13a – Vias descendentes do controle da dor – Analgesia – Sistema periférico (adaptado de CRAVO, 2005).

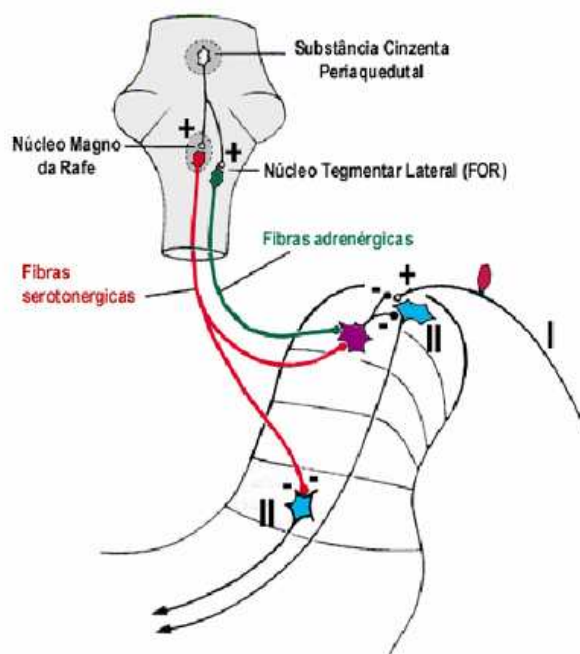
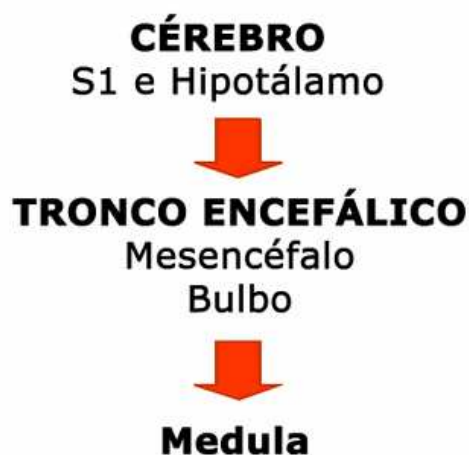


Figura 13b – Vias descendentes do controle da dor – Analgesia – Sistema endógeno central (adaptado de CRAVO, 2005).

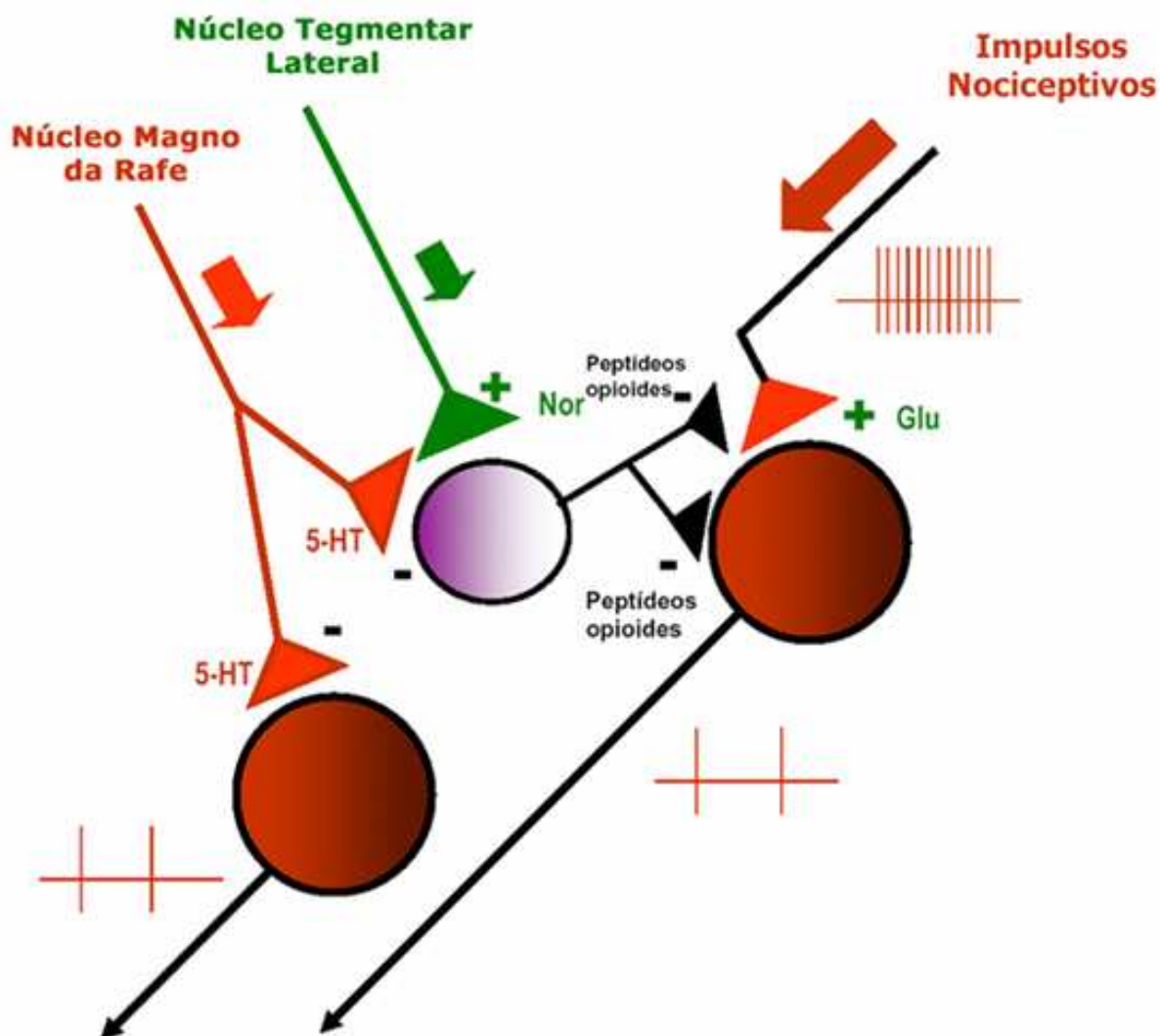


Figura 13b – Vias descendentes do controle da dor – Analgesia – Sistema endógeno central (adaptado de CRAVO, 2005).

2.3 Drogas Analgésicas

As drogas analgésicas podem ser classificadas em vários tipos, segundo os modos de ação:

- 1) Narcóticas – eliminam a dor e induz ao sono;
- 2) Antitérmicas – agem nos centros termorreguladores;
- 3) Béquicas – aquelas que agem no centro regulador da tosse;
- 4) Antirreumáticas – atuam nas articulações;
- 5) Antiinflamatórias – inibem os mediadores dos processos inflamatórios.

Quanto à origem, as drogas analgésicas podem ser naturais, semi-sintéticas ou sintéticas. As naturais têm como principal representante a morfina, o primeiro e mais importante alcalóide extraído do ópio, este sendo o extrato condensado da espécie *Papaver somniferum*, como já foi anteriormente abordado.

Dos 23 alcalóides dessa espécie, a morfina, a codeína, a papaverina, a narcotina e a heroína são os analgésicos naturais mais potentes. Desses alcalóides, a heroína, derivada acetilada da morfina, não é utilizada na terapêutica devida ao seu alto potencial de causar dependência física e psíquica.

Outras simples modificações na estrutura da morfina produziram analgésicos com ação semelhante à estrutura precursora, a exemplo da diidromorfina, diidromorfinona, 5-metil-diidroxi-morfinona e etc.

Considerando que os analgésicos morfínicos semi-sintéticos guardavam quase sempre propriedades entorpecentes caracterizadas pela presença do núcleo fenantrênico, acoplado ao núcleo isoquinolínico, os químicos da época sintetizaram compostos que tivessem atividade analgésica semelhante à morfina, sem apresentar o poder entorpecente que constituía os opióides.

Entre os mais variados analgésicos semi-sintéticos, citamos como exemplo a buprenorfina, a dionina, a oximorfona, a oxicodona e etc.

Já as drogas analgésicas opióides sintéticas exercem seus efeitos terapêuticos de forma semelhante à ação dos opióides endógenos, agindo diretamente sobre os neurônios locais e/ou nos circuitos neuronais da modulação da dor. Essas drogas sintéticas também podem apresentar efeitos colaterais indesejáveis, como a dependência física e a psíquica.

Exemplos de opióides sintéticos:

- 1) Metadona - é um agonista opióide sintético da classe das difenil-propilaminas, com poder analgésico semelhante à morfina. Tem sido utilizada com sucesso na desintoxicação dos dependentes químicos da heroína e de outros derivados opióides.
- 2) Meperidina - é um agonista opióide que atua sobre os receptores μ -específicos. O uso prolongado dessa substância produz grande risco de produzir dependência física e psíquica em seus usuários.
- 3) Fentanil - é um opióide sintético que foi produzido para proporcionar analgesia potente com menos reações adversas que a morfina e a meperidina. O fentanil é várias vezes mais potente que a morfina.
- 4) Alfetanil - opióide derivado da fenilpiperidina da mesma forma que o fetanil e o sulfetanil.
- 5) Remifestanil - é o mais recente dos opióides semi-sintéticos, estando intimamente relacionado com o fetanil e seus congêneres.

Outras substâncias com ação analgésica são os antiinflamatórios não-esteroidais (AINES), cujo principal representante é o ácido acetilsalicílico. Atuam na cascata de metabólito do ácido araquidônico, inibindo a enzima Cicloxigenase (COX). Vale ressaltar que os AINES não atuam sobre a enzima lipoxigenase, que é uma outra via da cascata do ácido araquidônico.

A Cicloxigenase apresenta duas isoformas: a COX1 e a COX2. Em virtude dos AINES, em sua grande maioria, não apresentarem a especificidade em relação à COX2, eles também interferem na COX1. É consenso na literatura que as propriedades terapêuticas dos AINES são devidas à sua ação sobre a COX2 e que seus efeitos se dão de maneira lenta e dependente do tempo. A exemplo de AINES, temos:

- 1) O ácido acetilsalicílico (AAS) – comumente chamado de aspirina, produz a inibição irreversível da COX2; quando utilizado em baixas doses, atua como agente tromboprolifático. Desse modo, bloqueia seletivamente a COX1 plaquetária;
- 2) A indometacina – é um derivado indometilado. Suas propriedades inflamatória e analgésica-antipirética proeminentes são semelhantes ao dos salicilatos. Além de ser um potente inibidor da COX2, também inibe a motilidade dos leucócitos polimorfonucleares (PMN) (GILMAN; GOODMAN, 2003). A indometacina é utilizada como um analgésico em diversos procedimentos pós-operatórios;
- 3) O tenoxicam – é um derivado tienotiazínico do grupo dos oxicams, com estrutura semelhante ao piroxicam; de modo semelhante aos AINES, o tenoxicam atua por inibição da via da ciclooxigenase. Não interfere na via da lipoxigenase e inibe algumas funções leucocitárias como a fagocitose, a quimiotaxia de polimorfonucleares (PMN) e a liberação de Histamina;
- 4) O diclofenaco – é um analgésico potente, provavelmente o mais utilizado no mundo. É bastante usado em analgesia pós-operatória;
- 5) O cetoprofen – é um antiinflamatório derivado do ácido arilpropiónico;
- 6) O meloxicam e o nimesulide – esses dois analgésicos são considerados os inibidores preferenciais da COX2;
- 7) O celecoxib, o rofecoxib e o etoricoxib – são derivados do ácido sulfonamídico, que apresentam atividades seletivas sobre a COX1 e a COX2;
- 8) A dipirona – é um derivado pirazolônico bastante utilizado, porém apresenta o risco de produzir agranulocitose, principalmente em crianças;
- 9) O paracetamol (acetaminofem) – é um derivado menos tóxico da fenacetina; apresenta propriedade analgésica e antitérmica, praticamente não apresenta propriedade antiinflamatória. Com a epidemia de dengue que se instalou no Brasil

nos últimos tempos, talvez seja o analgésico mais receitado e vendido livremente no mercado farmacêutico do país.

2.4 Plantas Analgésicas Conhecidas

As plantas são conhecidas como uma grande reserva de substâncias antinociceptivas naturais; suas flores e folhas são particularmente ricas em óleos essenciais. Estas partes dos vegetais são importantes para o preparo de chás, infusões e emplastros, com o fim de tratar as indisposições físicas e mentais (MATOS, 1998 *apud* RABELO, 2003).

Entre as mais variadas espécies de plantas que apresentam propriedades analgésicas (antinociceptivas), serão citadas algumas das mais conhecidas popularmente. A primeira delas é Papoula, também conhecida como ópio, cuja espécie *Papaver somniferum* possui como principal ativo o alcalóide morfina. O ópio contém 23 alcalóides, os quais têm aproximadamente as seguintes concentrações: morfina (10%), codeína (0,3%), papaverina (0,8%) e narcotina (5%).

No ser humano a morfina atua como depressora do Sistema Nervoso Central, promovendo analgesia por dois mecanismos: eleva o limiar da percepção da dor, e altera a reação psíquica, fazendo desaparecer a ansiedade e o medo. Como a morfina é um potente entorpecente, ou seja, “substância que pode determinar dependência física ou psíquica” (Portaria nº 344, de 12 de maio de 1998 / Ministério da Saúde), sua prescrição e venda são controladas pelos órgãos de Vigilância Sanitária.

Outra planta com propriedade analgésica, a *Erytroxylon coca*, mais conhecida como coca, teve seu uso proscrito devido ao seu alto poder de causar dependência física e psíquica e alto valor comercial pelos narcotraficantes.

Nesse rol de plantas, citamos o salgueiro branco (*Salix alba*), utilizado como analgésico por possuir a salicina, princípio ativo que, quando hidrolizado, produz o ácido salicílico – que por si só já é um eficaz analgésico, porém apresentando toxicidade. Suas propriedades analgésicas foram melhoradas pela acetila o, produzindo o ácido acetilsalicílico, diminuindo os efeitos tóxicos.

A ulm ria (*Filipendula ulmaria*) também apresenta propriedade analgésica, por conter compostos derivados do ácido salicílico, o salicilato de metila.

No vasto universo botânico, a arruda (*Ruta graveolens*) também apresenta atividade de analgesia; todavia, o seu uso   desaconselhável por tratar-se de planta de alto teor tóxico.

O hortelã (*Menta piperita*)   um outro vegetal da classifica o de plantas analgésicas e antiinflamatórias.

Devido à grande biodiversidade da flora brasileira e a outras espécies trazidas ao país, poderíamos incluir aqui muitos outros exemplos, tais como: a *Arnica montana* L. (arnica), o *Ocimum basilicum* (manjeriço), a *Lavandula officinalis* (alfazema), o *Harpagophytum procumbens* D. C. (garra-do-diabo), o *Mikania hirsutissima* DC. (cipó-cabeludo), a *Mimosa tenuiflora* (tepezcuite), o *Cymbopogon citratus* (capim-limão), o *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim), o *Sassafr s officinalis* (sassafrás), o *Allium sativum* L. (alho) e outros.

2.5 O Gênero *Ocimum* – Efeitos farmacológicos

O Gênero *Ocimum* é constituído por várias espécies de Manjerição com as mais diversas indicações farmacológicas, entre elas: a ação antiespasmódica, a carminativa, a galactógena, a anti-séptica intestinal, a diurética, a anti-heumíntica e a anti-microbiana. Todas essas funções são bastante aproveitadas nos mais diversos países, em especial no Irã e na Índia.

2.6 A Espécie *Ocimum basilicum* L.

O manjerição (*Ocimum basilicum* L.), pertencente à família *Lamiaceae*, é considerada uma planta anual ou perene, comercialmente cultivada para fins medicinais com indicações antiespasmódica, sedativa e recentemente há estudos que demonstram que o extrato aquoso e o extrato etanólico possuem substâncias como apigenina, linalol e ácido ursólico que exibem um largo espectro de atividade antiviral. Estes compostos apresentam forte atividade contra os vírus da hepatite B e o vírus do herpes (CHIANG *et al.*, 2005).

Na Universidade Federal de Sergipe (UFS) foi realizado um projeto de melhoramento do manjerição pelo Prof. Dr. Arie Fritgerald Blank e sua equipe do Departamento de Engenharia Agrônômica, com a finalidade de desenvolver um cultivar que fosse adaptado à região Nordeste e com alto rendimento do óleo essencial, rico em linalol. Este projeto de melhoramento genético foi desenvolvido no Horto de Plantas Medicinais da Estação Experimental “Campus Rural” da UFS, no município de São Cristóvão, Estado de Sergipe. O estudo começou com a caracterização morfológica, agrônômica e química de acessos de manjerição que

resultou na seleção do PI-197442, utilizando-se o m  todo da auto-fecundação, ap  s quatro ciclos e seleção para o alto rendimento do   leo essencial rico em linalol, recebendo o nome de Maria Bonita.

O PI-197442 foi obtido do Banco de Germoplasma North Central Regional PI Station, Iowa, State University, EUA (BLANK, 2005).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- Estudar a toxicidade e a ação analgésica do Óleo Essencial das folhas do *Ocimum basilicum* L.

3.2 Específicos

- Obter o Óleo Essencial do *Ocimum basilicum* L.;
- Determinar a constituição química do Óleo Essencial;
- Determinar a dose letal cinquenta por cento em camundongos suíços (*Mus musculus*);
- Testar o efeito analgésico do Óleo Essencial do *Ocimum basilicum* L. no Modelo Animal de Contorções Abdominais, Placa Quente (*Hot Plate*) e no Teste da Formalina.

4 METODOLOGIA

4.1 Material Botânico

A espécie de *Ocimum basilicum* PI 197442 foi melhorada geneticamente por projeto executado no Horto de Plantas Medicinais da Estação Experimental “Campus Rural da UFS”, município de São Cristóvão, conforme metodologia desenvolvida pelo Prof. Dr. Arie Fritgerald Blank, que consiste na caracterização morfológica, agrônômica e química de acesso do manjeriço por meio de autofecundação/melhoramento genético que recebeu o nome de “Maria bonita” (BLANK et al., 2005) (Figura 14a e 14b).

O *Ocimum basilicum* PI 197442 foi obtido do Banco de Germoplasma North Central Regional PI Station, Iowa, State University, EUA.



Figura 14a – Foto da espécie *Ocimum basilicum* L. (cortesia de BLANK et al., 2005).



Figura 14b – Foto da espécie *Ocimum basilicum* L. (cortesia de BLANK et al., 2005).

4.2 Obtenção do Óleo Essencial

Para obtermos o Óleo Essencial do *Ocimum basilicum* L., foi utilizado o Método de Clevenger, que tem como princípio a hidrodestilação pelo arraste de vapor (Figura 15a e 15b).

Foram utilizados 600g de folhas do *Ocimum basilicum* L. dessecadas em estufa, a 45°C. Obteve-se após a hidrodestilação, 28,5ml do Óleo Essencial, perfazendo um rendimento real de 4,75% v/g.

A separação do Óleo Essencial da água residual foi realizada pela técnica do congelamento em *freezer* com temperatura de -10°C.



Figura 15a – Aparelho de Clevenger montado em série (cortesia de BLANK et al., 2005).

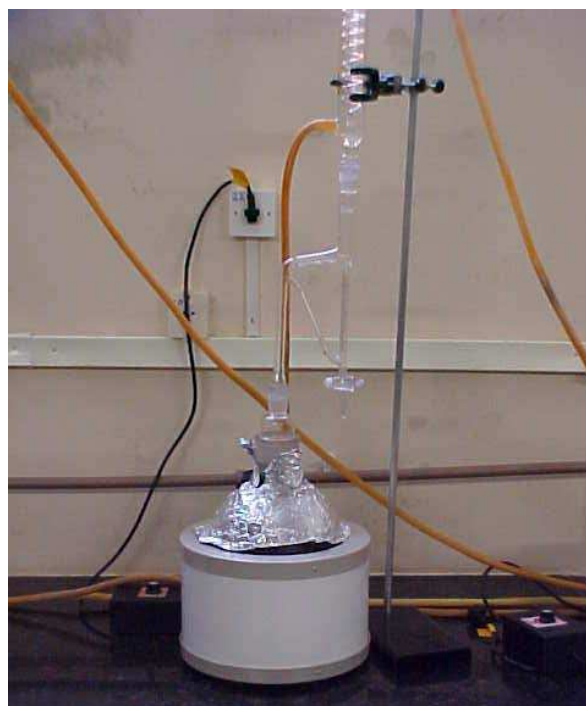


Figura 15b – Aparelho de Clevenger, em detalhe.

4.2.1 Determinação da densidade do Óleo – Método do Picnômetro

Foram utilizados picnômetros limpos, secos em atmosfera de gás nitrogênio e calibrados à temperatura de 25°C, para que fosse determinada a densidade do Óleo Essencial.

4.2.1.1 Cálculos da Densidade: $d = \frac{p'' - p}{p' - p}$

p = massa do picnômetro vazio

p' = massa do picnômetro cheio de água destilada, recentemente fervida

p'' = massa do picnômetro com amostra (Óleo Essencial)

As respectivas massas foram:

$p = 10,4415\text{g}$

$p' = 13,1201\text{g}$

$p'' = 12,7769\text{g}$

Portanto, $d_{25^\circ\text{C}} = \frac{12,7769 - 10,4415}{13,1201 - 10,4415}$

$d_{25^\circ\text{C}} = 0,8718\text{g/ml}$

4.2.2 Constituição química do Óleo Essencial

A Análise Química do Óleo Essencial do *Ocimum basilicum* L. foi realizada no laboratório de Cromatografia da Universidade Federal de Sergipe (UFS), utilizando-se de cromatografia gasosa em equipamento Shimadzu, modelo DC17A, acoplado à Espectroscopia de Massa (CG/MS), nas condições apresentadas na Tabela 4. A identificação dos constituintes foi realizada com base na comparação dos índices de Retenção da literatura (ADAMS, 1995), para o índice de retenção foi utilizada a equação de Van den Dool e Kratz (1963), em relação a uma série homóloga de *n*-alcano ($n\text{C}_8$ - $n\text{C}_{18}$). Também foram utilizadas duas

bibliotecas do equipamento NIST107 e NIST121, que permitem a comparação dos dados dos espectros com aqueles constantes das bibliotecas, utilizando um índice de similaridade de 80%.



Figura 16 – Foto do CG/MS Shimadzu (cortesia de ALVES, 2005)

TABELA 04 - Condições de análise do sistema CG/MS do óleo de *O. basilicum* L. (Maria Bonita).

Parâmetro	Condições
Temperatura do injetor	250° C
Temperatura da interface (detetor)	280° C
Temperatura inicial	80° C
Rampa e aquecimento	3° C/min
Temperatura inicial 1	180 ° C
Rampa de aquecimento 2	10 °C/min
Temperatura final 2	300 ° C
Fluxo do gás de arraste (He)	1mL/min
Coluna	DB-5; 30 m x 0,25mm x 0.25µm
Modo de análise	Scan (varredura de espectros)
Modo de ionização	Impacto de elétrons a 70 eV
Modo de injeção	Split (1:100)

4.3 Animais

Foram utilizados camundongos albinos *Swis* (*Mus musculus*), 20g a 30g, ambos os sexos, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe (UFS) (Figura 17a e 17b). Os animais mantidos em ciclo claro/escuro de 12h, a temperatura ambiente ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$), com água, dieta balanceada com ração Purina *ad libitum*, no Biotério do Laboratório de Farmacologia, pelo menos 24h para ambientação. A alimentação foi suspensa 12h antes do experimento, sendo mantida apenas água *ad libitum*. Os animais foram mantidos em gaiola de propileno de tamanho 30cm x 40cm x 17cm.

Os experimentos realizados com os camundongos estão de acordo com as regras propostas pelo Comitê de Ética para Experimentação com Animais (CEPA) da UFS – Protocolo n° 42/05, conforme Declaração CEPA/UFS (Apêndice D).



Figura 17a – Camundongo *Swis Mus musculus*.



Figura 17b – Camundongos *Swis Mus musculus* na gaiola.

4.4 Toxicidade Aguda

Foi definida como os efeitos nocivos que ocorreram no animal, dentro de um período curto, após a administração de uma dose única, ou doses múltiplas, administrada num período de 24h. Pode ser expressa pela quantidade em mg/kg de peso corporal de um animal capaz de provocar morte entre os animais em experimento, da dose que mata a metade da população em estudo. Para a determinação da Toxicidade Aguda (DL_{50}), pode ser utilizada várias espécies de animais, sendo que os mais freqüentes são os camundongos (*Mus musculus*) e os ratos (*Rattus norvegicus*), hígidos e de ambos os sexos. Neste ensaio, devem-se usar doses crescentes de modo que a menor dose não cause nenhuma morte na população de cobaias, e a maior dose cause 100% de óbitos na população estudada. As demais doses são intercaladas nestes dois extremos.

Os valores da DL_{50} são verificados a partir dos índices de mortalidade obtidos. Vários são os métodos estatísticos empregados para expressar estes resultados, entre eles destaca-se o Método dos Probitos: retificação da curva normal integrada.

4.4.1 Método dos Probitos

Se com os dados de uma distribuição normal (ao invés das freqüências em ordenada Y correspondentes a diferentes valores da abscissa X), projetarmos em ordenada os valores compreendidos sobre a curva à esquerda de cada valor de X, teremos uma curva de forma sigmoidal, também chamada curva de orgival de *Galton*, ou simplesmente, curva normal integrada.

Em vários fenômenos biológicos, quando se deseja determinar a proporção de indivíduos que morrem ou não, é considerada uma resposta “tudo ou nada” também chamada resposta quantal, quando submetido a um estímulo, por exemplo, aplicação de dose de fármacos, a curva dose-resposta assume uma forma sigmoideal, principalmente quando a dose é expressa em escala logarítmica. É o que acontece com as curvas de mortalidade, geralmente interpretadas como proveniente de uma distribuição normal, das resistências individuais dos animais frente ao experimento. A parte da curva próxima ao ponto correspondente a 50% é a melhor indicação para medir a resposta ou o evento, porque as porções extremas sofrem grandes variações de dose. Esta é a principal razão que a atividade letal das drogas é preferivelmente expressa em termos de unidade de 50% (BIER, 1984).

4.4.2 DL₅₀

Realizar estudo prévio utilizando dose de 1g, 3g e 5g/Kg de peso do OE.
E intercalar as demais doses para determinação da DL₅₀.

Usar 5 grupos (n=6) de animais nas doses 1,50g/Kg, 1,00g/Kg, 0,50g/Kg, 0,25g/Kg e 0,10g/Kg, via intraperitoneal e observar comportamento dos animais.

Anotar o número de óbitos e calcular efetuando as seguintes determinações:

Determinações: 1) Valores probícticos provisórios

2) Coeficiente de regressão provisório

3) Probite esperado

4) Probite operacional

5) Ponderação (ω) = coeficiente x n nº de animais

6) Solução (dose), $\log x$, ωx

7) Solução $\log x^2$, ωx^2 , y , ωxy

8) $\Sigma\omega$, $\Sigma\omega y$, $\Sigma\omega x$, $\Sigma\omega x^2$, $\Sigma\omega xy$

$$X = \Sigma(\omega x) / \Sigma\omega$$

$$A = \Sigma(\omega x^2) - X(\Sigma\omega x)$$

$$Y = \Sigma(\omega y) / \Sigma\omega$$

$$B = \Sigma(\omega xy) - X(\Sigma\omega y).$$

$$b = B / A$$

9) $Y = a + bx$ e calcular a Equação da Reta.

Os cálculos dos parâmetros supra-citados, vide Apêndice.

4.6 Modelos de Antinociceção

A atividade antinociceptiva do Óleo Essencial do *Ocimum basilicum* L. foi evidenciada pelos três modelos biológicos de indução da nociceção (dor) descritos:

4.6.1 Teste das Contorções Abdominais (KOSTER; ANDERSON; DE BEER, 1959).

O efeito antinociceptivo foi avaliado pelo Teste das Contorções Abdominais em camundongos, separados em 6 grupos ($n = 8$), assim classificados: Grupo Salina; Grupo Controle (veículo – propilenoglicol 50%); Grupo Indometacina 10mg/kg; Grupo O.E. 50mg/kg; Grupo O.E. 100mg/kg; e, Grupo O.E. 200mg/kg. Esses grupos foram tratados com as respectivas substâncias (s.c.), 30 minutos antes de receberem o ácido acético 0,6% (0,1ml/10g i.p.), (KOSTER; ANDERSON; DE BEER, 1959). Após 10 minutos da administração do ácido, o número de

contorções foi contado durante 20 minutos. Como padrão de analgesia nesse experimento, foi utilizada a indometacina (10mg/kg).

Para avaliar o efeito da nocicepção, causada pelo ácido acético 0,6% (i.p.) mostrado na figura 18a foi adotado o conceito de que uma contorção é entendida como a torção do corpo inteiro e/ou o alongamento dos membros posteriores, com o movimento do abdômen tocando a superfície da mesa, conforme mostra a figura 18b.



Figura 18a – Via intraperitoneal.



Figura 18b – Contorção abdominal típica

4.6.2 Teste da Placa Quente a 55° C (EDDY; LEIMBACH, 1953).

No Teste da Placa Quente (Figura 19a), o efeito avaliado foi a reação ao estímulo térmico, sob a temperatura de $55 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Para tanto, foram utilizados 8 grupos ($n = 8$), os quais foram assim classificados: Grupo Salina; Grupo Controle (veículo – propilenoglicol 50%); Grupo Morfina 10mg/kg; Grupo Morfina 10mg/kg + Naloxona 5mg/kg; Grupo O.E. 50mg/kg; Grupo O.E. 50mg/kg + Naloxona 5mg/kg; Grupo O.E. 100mg/kg; e, Grupo O.E. 200mg/kg. Os grupos citados foram previamente tratados 30 minutos antes de receberem o estímulo térmico. Porém, o Grupo OE + Naloxona recebeu primeiro o antagonista opióide, após 15 minutos foi

administrado o OE, com mais 15 minutos foi submetido à Placa Quente, resultando, assim, em um tempo total de 30 minutos.

Desses grupos, aquele que apresentou o melhor efeito antinociceptivo central foi o pré-tratado com um antagonista opióide: a Naloxona 5 mg/kg – utilização feita com a finalidade de analisar a possível participação dos receptores opióides na ação do O.E.

Ao receber o estímulo térmico, o animal responde ao efeito nociceptivo do calor, lambendo as patas traseiras, fato que foi inferido como uma resposta à dor.

Para medir a nocicepção causada pelo estímulo térmico, foi registrado o tempo de latência (em segundos), por um tempo máximo de 30s, nos intervalos de 0s, 15s, 30s e 60s (Figura 19b). Foi entendido, portanto, que a demora à resposta do estímulo térmico é inversamente proporcional à nocicepção.



Figura 19a – Placa quente.



Figura 19b – Placa quente com camundongo em teste.

4.6.3 Teste da Formalina (DUBUISSON; DENNIS, 1997; HUNSKAAR; BERGE; HOLE, 1987)

O efeito antinociceptivo também foi avaliado pelo Teste da Formalina, o qual consistiu na utilização de 6 grupos (n=8), assim formados: Grupo Controle (veículo – propilenoglicol); Grupo Morfina 10mg/kg; Grupo OE 50 mg/kg; Grupo 100 mg/kg; Grupo 100 mg/kg + Naloxona 5mg/kg; e, Grupo 200 mg/kg.

Para a realização deste teste, os animais foram previamente ambientados por um período não inferior a dez dias - para que não houvesse interferência de fatores externos (estresse). Durante a realização dos testes os animais foram tratados (s.c.) com as substâncias supracitadas (Figura 20a e 20b) e, após 30 minutos, cada um recebeu a injeção na pata esquerda (subplantar) de formalina 1% (20µl/animal) (Figura 20c). Logo depois da injeção da formalina, iniciou-se a observação da reação à dor, cronometrando o tempo em que os animais permaneceram mordendo ou lambendo a pata esquerda, durante a 1ª fase (0-5min). Foi dado um intervalo de 15min e, em seguida, foi medida a duração do comportamento de lambedura e/ou mordedura da pata já citada, constituindo-se a 2ª fase (20-25min) do procedimento (Figura 20d).

A aplicação subcutânea na área do dorso dos animais de experimento obedece aos princípios contidos na literatura específica (ANDERSEN *et al.*, 2004).

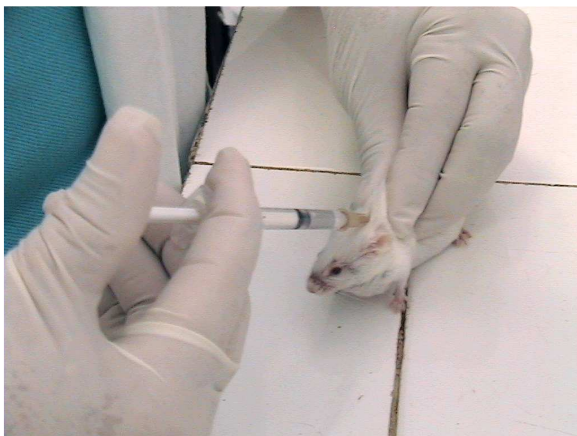


Figura 20a – Aplicação subcutânea.



Figura 20b – Aplicação subcutânea.



Figura 20c – Aplicação intraplantar.



Figura 20d – Lambedura da pata.

4.7 Análise Estatística

Os dados experimentais foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (E.P.M.) e utilizando a ANOVA, uma via e *post hoc* Tukey. Foi considerado o valor $p < 0,05$ como significativo.

Foi utilizada a estatística paramétrica, visto que o Teste de Kolmogorov-Sminov (ZAR, 1999) caracterizou os dados dos 3 modelos como normais (distribuição gaussiana). Para os testes estatísticos, teste da normalidade e ANOVA, foi utilizado programa GraphPad Prism 3.0 (cortesia do Laboratório de Farmacologia da Universidade Federal de Sergipe).

5 RESULTADOS

Foram obtidos 28,5ml do Óleo Essencial cujo rendimento real foi 4,75%.

A densidade a 25° C do Óleo foi de 0,8718g/ml.

5.1 Constituição química do Óleo Essencial

A abundância relativa dos constituintes foi calculada a partir da área de pico do CG/MS e arranjado em ordem de eluição, conforme o cromatograma (Gráfico 01).

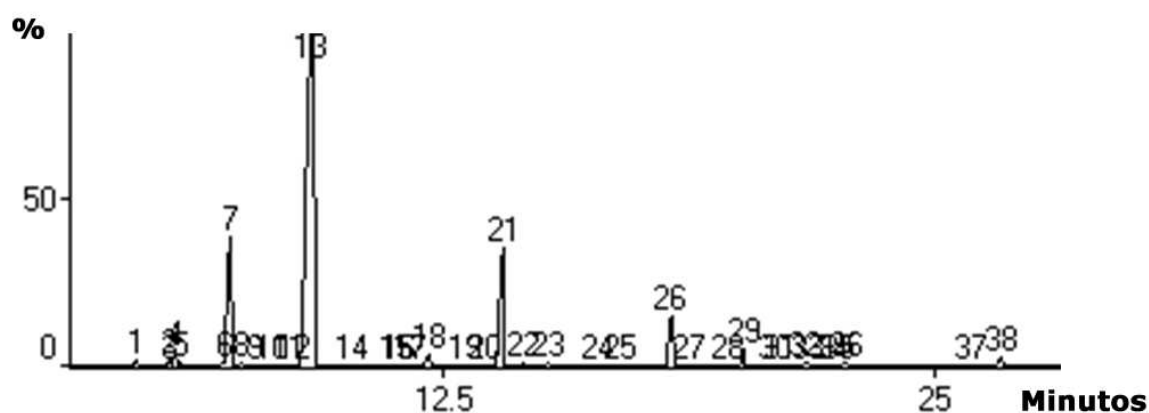


Gráfico 01 - Cromatograma da corrente iônica total – OE *Ocimum basilicum* L. (CG/MS)

A separação dos componentes se deu no cromatógrafo a gás (CG) enquanto que o espectrômetro de massa (MS) informou sobre estrutura de cada um dos componentes. Dados quantitativos também podem ser fornecidos pelo CG/MS quando usados padrões de concentração conhecida. (SOLOMONS, 2002).

Os constituintes químicos do Óleo Essencial do *Ocimum basilicum* L. estão listados na Tabela 05.

TABELA 05 - Constituintes químicos do Óleo Essencial de *Ocimum basilicum* L.

Pico	TR (min)	Composto	(%)	IRR exp.*	IRR lit.**
1	4.700	α -Pineno	0,19	933	939
2	5.533	Sabineno	0,28	972	976
3	5.592	1-Octen-3-ol	0,07	975	978
4	5.683	β Pineno	0,70	979	980
5	5.850	Mirceno	0,14	987	991
6	6.967	Limoneno	0,20	1029	1031
7	7.050	1,8-Cineol (Eucaliptol)	7,47	1035	1033
8	7.375	(Z) - β -Ocimeno	0,13	1043	1040
9	7.767	γ -Terpineno	0,04	1057	1062
10	8.125	Não identificado	0,04	1069	-
11	8.583	<i>iso</i> -Terpinoleno	0,06	1085	1086
12	8.708	Não identificado	0,05	1089	-
13	8.992	Linalol	69,54	1099	1098
14	10.233	(E)- Miroxide	0,13	1137	1142
15	11.292	Não identificado	0,12	1169	-
16	11.392	Não identificado	0,06	1172	-
17	11.650	Terpin-4-ol	0,10	1180	1177
18	12.117	α -Terpineol	0,76	1194	1189
19	13.075	Não identificado	0,08	1282	-
20	13.542	β -Cital (Neral)	0,11	1236	1240
21	13.933	Geraniol	12,55	1249	1255
22	14.542	Geraranial	0,18	1265	1270
23	15.158	Acetato de bornila	0,29	1283	1285
24	16.458	Não identificado	0,10	1321	-
25	16.983	Não identificado	0,04	1337	-
26	18.275	Acetato de nerila	3,58	1375	1365
27	18.725	β -Elemeno	0,07	1388	1391
28	19.725	β -Cariofileno	0,12	1418	1418
29	20.133	α - <i>trans</i> bergamopteno	1,17	1431	1436
30	20.917	α Humuleno	0,04	1455	1454
31	21.100	<i>cis</i> -Muurola-4(14)-5-dieno	0,06	1460	1460
32	21.717	Germacreno-D	0,29	1479	1480
33	21.800	Não identificado	0,07	1482	-
34	22.375	Não identificado	0,06	1499	-
35	22.567	Não identificado	0,06	1506	-
36	22.733	γ -Cadineno	0,33	1511	1513
37	25.892	Não identificado	0,07	1613	-
38	26.667	Epi- α -Cadinol	0,65	1639	1640

5.1.2 Dose Letal Média (DL₅₀) do Óleo Essencial do *Ocimum basilicum* L.

Foi realizado um ensaio prévio utilizando dose de 1,5g/kg de peso, ocorrendo 100% de óbitos, e com a dose de 0,10g/Kg, não ocorreram mortes. As demais doses foram intercaladas neste intervalo. Foi utilizada via intraperitoneal.

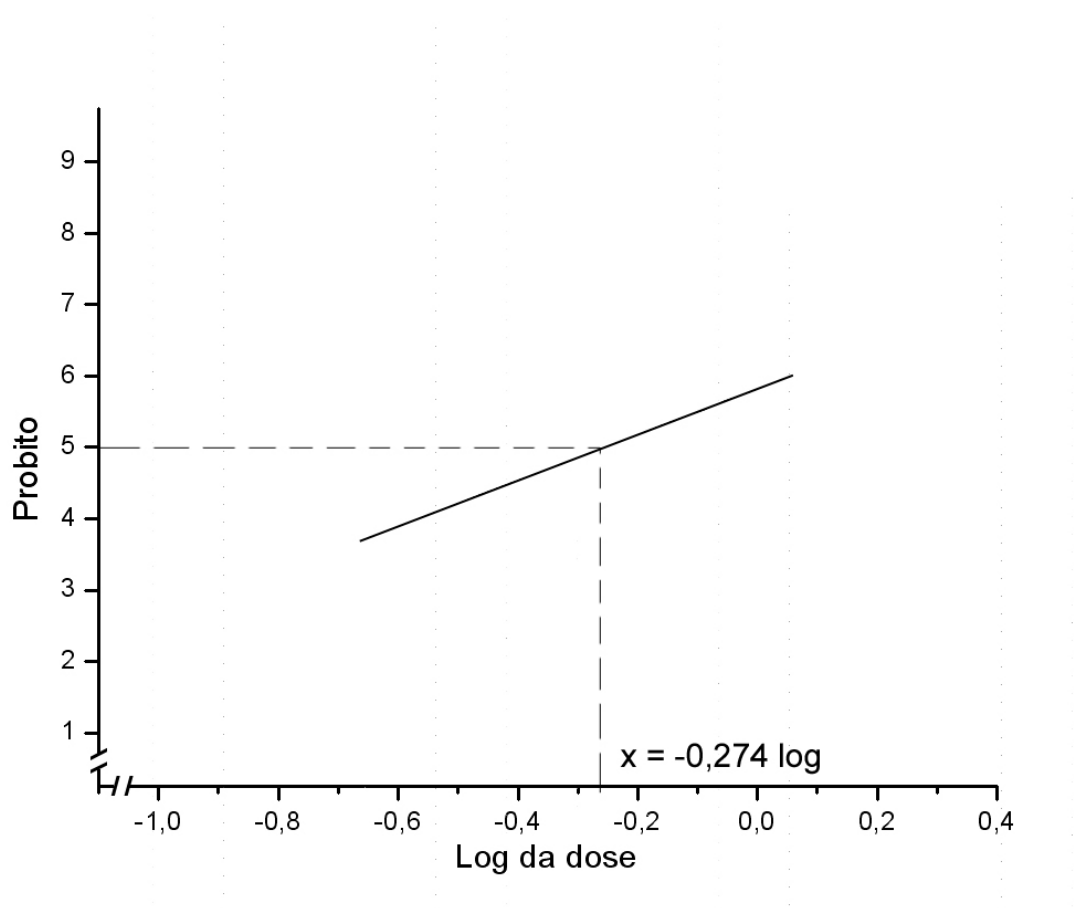
Usados 5 grupos com 6 animais

Doses (g/Kg)	1,5	1,0	0,50	0,25	0,10
Animais	6	6	6	6	6
Sobreviventes	0	1	4	5	6
Sobreviventes / injetados	0/6	1/6	4/6	5/6	6/6
Mortos	6	5	2	1	0

Ordem crescente das doses

Doses (g/Kg)	A	B	C	D	E
	0,10	0,25	0,50	1,0	1,5
Sobreviventes/injetados	A	B	C	E	F
	6/6	5/6	4/6	1/6	0/6

A determinação da toxicidade aguda do O.E. *Ocimum basilicum* L. foi 0,532g/kg, de animal (Gráfico 02).



Gráfico 02 – Representação gráfica da DL_{50} do  leo Essencial do *Ocimum basilicum*. Produzida com o Software Origin 6.0 (cortesia do Departamento de Física da Universidade Federal de Sergipe).

Portanto, a DL_{50}   0,5321 g/kg de peso do animal (anti-log de -0,274).

5.2 Efeitos observados no Teste das Contorções Abdominais

No experimento de contorções abdominais, os resultados demonstraram diferenças significativas nas médias dos números de contorções entre os camundongos dos grupos: controle, padrão e experimental.

ANOVA: $[F_{0,05(1); 5,47} = 18,52; p < 0,001]$

0,05 = nível de significância

(1) = ANOVA monocaudal

5 = graus de liberdade dos tratamentos

47 = graus de liberdade total do tratamento

O Óleo Essencial do *Ocimum basilicum* L. nas doses 50, 100, 200ml/kg inibiu o efeito do Ácido Acético 0,6%, indutor das contorções abdominais (Tukey: $q_{0,05(1);5,47} = 5,087$, $p < 0,05$; $q_{0,05(1);5,47} = 6,823$, $p < 0,001$; $q_{0,05(1);5,47} = 8,196$, $p < 0,001$), respectivamente. Indometacina 10mg/Kg: $q_{0,05(1);5,47} = 9,488$, $p < 0,001$.

Tabela 06 – Efeito do Óleo Essencial do *Ocimum basilicum* L. (Maria Bonita) e da indometacina no Teste das Contorções Abdominais, induzidas por ácido acético 0,6% e percentual de inibição das contorções.

Tratamento dose mg/kg	Média ± EPM	% inibição
Salina	35,38 ± 1,75	-
Controle (veículo)	32,75 ± 4,32	-
Indometacina 10	3,37 ± 0,37 ^a	89,70
OE 50	17,00 ± 4,75 ^b	48,02
OE 100	11,63 ± 3,47 ^a	64,48
OE 200	7,37 ± 0,88 ^a	77,49

^a $p < 0,001$; ^b $p < 0,05$; $n = 8$

O Óleo Essencial do *Ocimum basilicum* L., na concentração 50mg/kg, reduziu as contorções abdominais em 48,02%; na concentração 100mg/kg, reduziu

64,48%, e na concentração 200mg/kg, houve uma redução de 77,49%. Podemos concluir, assim, que a droga agiu de forma dose-dependente (Tabela 06).

5.3 Efeitos observados no Teste da Placa Quente

No Teste da Placa Quente, o  leo Essencial do *O. basilicum* (50, 100 e 200mg/kg) modificou significativamente as latências comparadas com as do grupo Controle nos tempos 0min, ANOVA [$F_{0,05(1); 7,63} = 24,07$; $p < 0,0001$], e na dose 50mg/kg aumentou a latência (TUKEY: $q_{0,05(1); 7,63} = 4,88$; $p < 0,05$); no tempo 15min ANOVA [$F_{0,05(1); 7,63} = 43,52$; $p < 0,001$]; na dose 50mg/kg aumentou a latência (TUKEY: $q_{0,05(1); 7,63} = 6,717$; $p < 0,001$); no tempo 30min ANOVA [$F_{0,05(1); 7,63} = 29,52$; $p < 0,001$], e na dose 50mg/kg aumentou a latência (TUKEY: $q_{0,05; 7,63} = 4,514$, $p < 0,05$); no tempo 60min ANOVA [$F_{0,05(1); 7,63} = 19,88$, $q < 0,001$], e na dose 50mg/kg aumentou a latência (TUKEY: $q_{0,05; 7,63} = 4,822$, $p < 0,05$); respectivamente. A morfina 10mg/Kg aumentou a latência (tempo) para as lambidas de pata comparada ao grupo controle em todos os tempos: 0min (TUKEY: $q_{0,05(1); 7,63} = 14,31$, $p < 0,001$), 15min (TUKEY: $q_{0,05(1); 7,63} = 19,57$, $p < 0,001$), 30min (TUKEY: $q_{0,05(1); 7,63} = 15,41$, $p < 0,001$) e 60min (TUKEY: $q_{0,05(1); 7,63} = 12,53$, $p < 0,001$).

Os valores foram observados nos tempos 0min, 15min, 30min e 60min após a administração do  leo (Tabela 07).

Tabela 07 – Efeito antinociceptivo do OE do *O. basilicum* (sc) e Morfina 10 (ip) na dor induzida pelo calor em camundongos (Teste da Placa Quente)

Tratamento (mg/kg)	Latência (s) – Média $\pm$ E.P.M.				Inibição (%)
	0 min	15 min	30 min	60 min	
Salina	9,40 $\pm$ 1,02	10,01 $\pm$ 0,47	9,70 $\pm$ 0,25	10,35 $\pm$ 1,21	-
Controle (veículo)	11,76 $\pm$ 1,49	11,90 $\pm$ 0,59	13,21 $\pm$ 0,80	12,66 $\pm$ 0,37	-
Morfina 10	29,34 $\pm$ 0,45 ^a	29,96 $\pm$ 0,02 ^a	29,81 $\pm$ 0,17 ^a	28,74 $\pm$ 0,64 ^a	137,89
Morfina 10 + Naloxona 5	15,56 $\pm$ 1,59	15,31 $\pm$ 1,26	16,56 $\pm$ 0,95	15,41 $\pm$ 2,22	26,87
OE 50	17,71 $\pm$ 1,31 ^b	18,10 $\pm$ 1,32 ^a	18,08 $\pm$ 1,89 ^b	18,85 $\pm$ 1,83 ^b	46,05
OE 50 + Naloxona 5	14,41 $\pm$ 1,84	15,16 $\pm$ 0,97	16,01 $\pm$ 1,11	16,65 $\pm$ 1,22	25,64
OE 100	13,71 $\pm$ 0,35	14,36 $\pm$ 0,78	15,41 $\pm$ 1,30	15,46 $\pm$ 0,77	18,99
OE 200	13,86 $\pm$ 0,87	14,06 $\pm$ 1,14	15,09 $\pm$ 1,05	12,09 $\pm$ 0,77	11,24

^a p<0,001; ^b p<0,05; n = 8

5.4 Efeitos observados no Teste da Formalina

O  leo Essencial do *O. basilicum*, na dose 50mg/kg, não mudou significativamente o tempo de lambida na 1^a e na 2^a fase. O OE 100mg/kg mudou o tempo de lambida na 1^a fase aproximadamente 50%, enquanto que na 2^a fase foi acentuada a queda no tempo de latência. O  leo Essencial 200mg/kg apresentou o melhor efeito nas duas fases. No Teste da Formalina (Tabela 8), a Morfina 10mg/kg diminuiu o tempo de lambida durante a 1^a e a 2^a fase. Este efeito foi antagonizado pela Naloxona 5mg/Kg.

Morfina 10mg/Kg, 1^a Fase: TUKEY: $q_{0,05(1)6;55} = 7,391$, p<0,001

Morfina 10mg/Kg, 2^a Fase: TUKEY: $q_{0,05(1)6;55} = 3,782$, p<0,001

Tabela 08 – Efeito antinociceptivo do Óleo Essencial do *Ocimum basilicum* L. (sc) e Morfina 10 (ip), no Teste da Formalina.

Tratamento (mg/kg)	1ª fase (0-5min)		2ª fase (20-25min)	
	Média ±EPM	Inibição (%)	Média ±EPM	Inibição (%)
Controle (veículo)	54,62 ± 7,12	-	36,04 ± 8,87	-
Morfina 10	15,67 ± 3,64 ^a	71,31	4,14 ± 1,59 ^a	88,51
Nal 5 + Morfina 10	41,29 ± 5,25	24,40	7,56 ± 3,25	79,02
OE 50	54,53 ± 3,46	0,16	29,25 ± 9,18	18,84
OE 100	43,42 ± 6,46	20,50	10,73 ± 3,16	70,22
OE 200	33,97 ± 4,38	37,80	9,13 ± 2,93 ^b	74,66
OE 100 + Nal 5	52,71 ± 5,44	3,49	16,55 ± 8,45	54,07

^a p<0,001, ^b p<0,05, n=8

Na 1ª fase do Teste da Formalina, as concentrações 50, 100 e 200mg/kg do OE não apresentaram efeito significativo. Porém, na 2ª fase, o OE 200mg/kg reduziu o tempo de lambida da pata traseira dos animais em 74,66%.

Na 2ª fase, o OE 200mg/kg ANOVA [$F_{0,05(1);6,55} = 3,782$; $p<0,001$] aumentou o tempo da lambida da pata traseira (TUKEY: $q_{0,05(1);6,55} = 4,362$, $p<0,05$).

Os cálculos percentuais de inibição foram obtidos através da fórmula de Kerharo & Adams (1974).

Percentual de Inibição = $A - B / A \times 100$, onde A é a média do controle e B é a média dos grupos tratados (FRANZOTTI et al., 2000).

6 DISCUSSÃO

Foram avaliados, neste estudo, a obtenção do Óleo Essencial extraído de folhas do *Ocimum basilicum* L., geneticamente melhorado por auto-fecundação (BLANK *et al.*, 2005), o cálculo do rendimento real, a densidade do Óleo Essencial, a composição química, a determinação da toxicidade aguda expressa em dose-letal média e o efeito antinociceptivo em camundongos.

A obtenção do Óleo Essencial foi realizada por hidrodestilação por arraste de vapor, seguindo o método de Clevenger. A extração do OE efetuada por Blank *et al.* (2004) antes do melhoramento genético demonstrou um rendimento de 2,536% para o OE bruto, e um teor de linalol de 61,57%. No presente trabalho, já utilizando a espécie melhorada, o rendimento na produção do OE foi de 4,75%, com o aumento significativo de 87,30%; enquanto que a concentração de linalol passou de 61,57% para 69,54%, com o incremento no rendimento de 12,94% deste terpeno.

A densidade do Óleo foi determinada pelo pesquisador utilizando o método do Picnômetro e seu valor foi 0,8718g/ml. A análise cromatográfica (CG/MS) do OE indicou a presença de 38 componentes, entre os quais 11 não foram identificados pelo equipamento. No cromatograma obtido destacam os picos de número 7, 13, 21, 26 e 29 por serem os de maior percentual que correspondem aos 5 compostos mais abundantes na composição do Óleo. Tais picos foram identificados como 1,8-cineol, linalol, geraniol, acetato de nerila e o α -transbergamopteno, respectivamente. Todos esses compostos apresentam estrutura química terpênica e concentrações superiores a 1%, sendo: linalol (69,54%); geraniol (12,55%), 1,8-cineol (7,47%); acetato de nerila (3,58%); e, o α -trans bergamopteno (1,17%).

Para se conhecer a toxicidade aguda do OE foi utilizado o método dos probitos e a DL₅₀ encontrada foi 0,5321g/kg, portanto, a toxicidade aguda menor que 1g/kg de peso de animal demonstra que o OE tem alta toxicidade (LORKE, 1983). Os Óleos Essenciais geralmente são tóxicos quando injetados por via intra-peritoneal, mesmo em pequenas doses, por ser esta via de rápida absorção.

O (-) linalol é geralmente o componente químico que está presente nos óleos essenciais em maior concentração e produz vários efeitos no Sistema Nervoso Central, suprimindo não-seletivamente a corrente gerada por voltagem nos neurônios sensoriais (NARUSUYE *et al.*, 2005). O linalol, por inalação, produz efeito sedativo nos vertebrados, inclusive no homem (BUCHBAUER *et al.*, 1991; SUGAWARA *et al.*, 1998 *apud* NARUSUYE *et al.*, 2005). O linalol afeta a onda β do cérebro humano (SUGAWARA *et al.*, 1998 *apud* NARUSUYE *et al.*, 2005) e também inibe os neurônios glutamatérgicos no córtex cerebral do rato (ELISABETSKY *et al.*, 1995 *apud* NARUSUYE *et al.*, 2005).

O linalol também apresenta atividade antinociceptiva em camundongos, atuando nos canais de K⁺ (sensíveis ao ATP), os quais apresentam importante papel no mecanismo de modulação da dor (PEANA *et al.*, 2004).

O enantiômero (-) linalol possui ação antioxidante e inibe consideravelmente o edema de pata induzido pela carragenina, em camundongos (PEANA *et al.*, 2004). O linalol possui atividade anti-herpes (CHIANG *et al.*, 2005).

Além disso, tal composto apresenta atividade anestésica local e anticonvulsivante (GHERLARDINI *et al.*, 1999; ELISABETSKY *et al.*, 1999 *apud* PEANA, 2004). As propriedades antiinflamatórias, antinociceptiva e anti-hiperálgica do enantiômero linalol sugerem que este composto pode ser usado para suprimir a dor por desenvolver sensibilização neuronal (PEANA *et al.*, 2004).

O linalol é um antagonista competitivo dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) (ELISABETSKY *et al.*, 1999, SILVA BRUM *et al.*, 2001 *apud* PEANA *et al.*, 2003) e a inibição da atividade do receptor NMDA produz antinocicepção (PEANA *et al.*, 2004).

A ação analgésica do linalol é mais evidenciada no teste das Contorções Abdominais e em altas doses aumenta o tempo de permanência do animal no teste da Placa Quente (PEANA *et al.*, 2002).

Um outro composto, caracterizando-se por ser o segundo mais abundante no OE, o geraniol, tem sido estudado como agente anti-cancerígeno. O geraniol apresenta atividade anti-tumoral e inibe o crescimento de células no câncer do cólo humano (Caco 2), a síntese do DNA e diminui a biossíntese de poliaminas, reduzindo em 50% a atividade da enzima ornitina-descarboxilase (CARNESECCHI *et al.*, 2001). O geraniol também demonstrou ação anti-tumoral *in vitro* e *in vivo* contra a leucemia murina, hepatoma e células de melanoma (SHOFF *et al.*, 1991, YU *et al.*, 1995, BURKE, *et al.*, 1997 *apud* CARNESECCHI *et al.*, 2001).

O terceiro componente do OE, o 1-8-cineol, um óxido terpênico produz atividade antinociceptiva e antiinflamatória por diminuir a formação dos mediadores inflamatórios (citocinas, exemplo: TNF α , IL 1-B, Leucotrieno B₄, Tromboxano B₂ e Prostaglandina E₂), e na dose de 400mg/kg não produz neurotoxicidade (SANTOS; RAO, 2000).

Finalmente, o acetato de nerila é utilizado na indústria de cosmético e o α -trans bergamopteno, nos estudos levantados até o momento, não tem seu uso definido.

A análise estatística paramétrica foi utilizada por se tratar de uma pesquisa quantitativa e por ter variáveis não-ordinais. Os dados obtidos obedeceram à

distribuição gaussiana, sendo submetidos, em seguida, ao Teste de Kolmogorov-Sminov (Teste da Normalidade) e ao pós-Teste de Tukey. “Nos estudos em que um dos grupos é controle, para os efeitos de um dado experimento, o Teste de Tukey é a alternativa mais indicada” (BARROS; REIS, 2003).

O Teste de Contorções Abdominais induzidas pelo ácido acético (0,6%), não é um método de antinocicepção (dor) específico, mas é importante porque serve de triagem, mostrando o efeito antinocicepção geral (COLLIER *et al.*, 1968). Porém, a especificidade deste método pode ser intensamente aumentada se forem utilizados estímulos nociceptivos específicos, como, por exemplo, a bradicinina ou a acetilcolina, em vez do ácido acético (LAPA, 2003).

O Teste de Contorções Abdominais pode ser considerado um teste pré-clínico de importância para avaliação do efeito antinociceptivo, porque permite uma correlação adequada entre o valor da dose eficaz, obtido em animais, e as doses analgésicas em humanos (COLLIER *et al.*, 1968).

Os resultados no Teste de Contorções Abdominais sugerem que o OE participa inibindo a síntese dos metabólitos do ácido araquidônico atuando sobre a ciclooxigenase, impedindo a biossíntese das prostaglandinas e das prostaciclina. (FRANZOTTI *et al.*, 2000).

Nas contorções abdominais, a ação do ácido acético induz a liberação de mediadores endógenos que sensibilizam os neurônios nociceptores, principalmente as fibras tipo C (amielínicas) que por sua vez, são sensíveis aos AINES, narcóticos e outras substâncias de ação central (COLLIER *et al.*, 1968 *apud* BISPO *et al.*, 2000).

O Teste da Placa Quente indica a resposta ao estímulo térmico que é associado à neurotransmissão central (HUNSKAAR; BERGE; HOLE, 1986). O comportamento do animal de “sapatear” ou lamber as patas é a indicação da

resposta ao estímulo nociceptivo térmico, enquanto que a latência para o aparecimento desta resposta é cronometrada em segundos (WOOLFE; MACDONALD, 1994 *apud* LAPA et al., 2003).

A morfina utilizada como padrão-ouro de analgesia no Teste da Placa Quente, aumentou significativamente o tempo permanência do animal sob o estímulo térmico quando comparada ao controle. O OE50 foi a dose que melhor apresentou a atividade antinociceptiva em todos os tempos registrados neste experimento. A naloxona reverteu o efeito do OE50 em todos os tempos, sugerindo a participação de receptores opióides.

O Teste da Formalina apresenta a vantagem de ser um modelo de nocicepção que indica se a dor possui mecanismo central ou periférico. Consta de duas fases. A primeira fase se caracteriza pela ação neurogênica, sensível a analgésico opióide; enquanto que a segunda fase é melhor caracterizada pela dor inflamatória, sendo esta sensível aos AINES (HUNSKAAR; HOLE, 1987 *apud* LAPA, 2003). A morfina também foi utilizada como padrão-ouro e apresentou efeito antinociceptivo nas duas fases, indicando efeito central e periférico.

As drogas que apresentam ação central, como os narcóticos, inibem igualmente as duas fases (SHIBATA *et al.*, 1989 *apud* BISPO *et al.*, 2000).

O OE 200mg/kg do *Ocimum basilicum* L. apresentou resultado significativo apenas na segunda fase. Na primeira fase ocorreu a ativação dos neurônios nociceptivos pela ação química da formalina, enquanto que na segunda fase ocorreu ativação dos neurônios nociceptivos do corno posterior da medula espinhal (MARCHIORO *et al.*, 2005).

Este trabalho pode ser considerado como uma pequena contribuição para compreensão dos efeitos do Óleo Essencial do *Ocimum basilicum* L. e sugere a

necessidade de se obter novos conhecimentos em estudos complementares futuros para o uso seguro do OE como medicamento fitoterápico. Contudo, outros estudos complementares deverão ser realizados para melhor elucidação dos mecanismos de ação das substâncias que compõem o  leo Essencial da planta em estudo.

Enfim, os efeitos aqui apresentados como a toxicidade aguda e a ação antinociceptiva tornam essa planta um importante objeto para futuras pesquisas toxicológicas e farmacológicas.

7 CONCLUSÕES

Conforme os resultados obtidos na presente investigação foi possível concluir que:

- O melhoramento genético por autofecundação (BLANK, 2005) aumentou o rendimento na produção do OE bruto do *Ocimum basilicum* L. em 80,34%;
- Houve um incremento na quantidade do linalol, na extração, que foi de 12,94%;
- O principal constituinte químico do OE é o linalol (álcool monoterpênico) e também apresenta consideráveis concentrações de geraniol, 1-8 cineol, acetato de nerila e α -trans-bergamopteno. Todos estes compostos apresentam estruturas terpênicas: linalol 69,54%; geraniol 12,55%; 1-8 cineol 7,47%; acetato de nerila 3,58% e o α -trans-bergamopteno 1,17%;
- O Óleo essencial do *Ocimum basilicum* L. “Maria bonita” apresentou alta toxicidade quando administrado por via intraperitoneal. DL₅₀ 0,532g/Kg;
- O Óleo essencial do *Ocimum basilicum* L. apresentou atividade antinociceptiva, periférica e central, nos respectivos modelos biológicos classicamente utilizados no estudo da dor;
- A ação do Óleo essencial do *Ocimum basilicum* L. sugere envolver a participação de receptores periféricos e receptores opióides.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of the essencial oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**, Illinois USA: Alured Publishing Corporation, Carol Stream, 1995. 469p.

ANDERSEN, M. L. *et al.* **Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimento**. São Paulo: UNIFESP, 2004. p.14, 48, 134.

BARROS, M. G.V.; REIS, R. S. **Análise de dados em atividade física e Saúde: demonstração da utilização do SPSS**. Curitiba: Midiograf, 2003. p.53-85, 120-134.

BIER, O. **Microbiologia e Imunologia**. São Paulo: Ed. Melhoramentos, 1984. p.1169. 1234p.

BISPO, M. D. *et al.* Avaliação da atividade antiedematogênica e antinociceptiva do extrato aquoso de *Bumelia sartorum* Mart. **Biologia Geral e Experimental**, v., n.1, p.36-41, 2000.

BLANK, A. F. *et al.* Caracterização morfológica e agrônômica de acessos do manjeriço e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.1. p.113-116. 2004.

_____. Uma nova cultura de manjeriço (*Ocimum basilicum*): 'Maria Bonita'. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 3. **Documentos IAC (ISSN 0102-4477)**, Campinas: IAC, n. 77, 2005. p. 129. (Resumo, 126).

BLANK, M. F. **Estudo agrônômico, químico do Óleo essencial, anti-edematogêncio, antinociceptivo e perfil isoenzimático de *Hyptis pectinata* L. POIT.** Tese (Doutorado em Química) Departamento de Química da Universidade Federal de Alagoas. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria SVS nº 6 de 31.1.1995**. Institui e normatiza o registro de produto fitoterápicos junto ao Sistema de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União, 6.2.1995. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=5311&word=>>>. Acesso em: 05.01.2006.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução-RDC nº 17 de 24.02.2004**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da União, 03.03.2000. Disponível em: <[>](http://www.anvisa.gov.br/e-legis). Acesso em: 05.01.2006.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução-RDC nº 48 de 16.03.2004**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da União, 18.03.2004. Disponível em: <[>](http://www.anvisa.gov.br/e-legis). Acesso em: 05.01.2006

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução-RE nº 90 de 16.03.2004**. Determina a publicação da guia para realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos. Diário Oficial da União, 18.03.2004.

Disponível em:

<<http://legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=10242&word=>>. Acesso em: 05.01.2006

BRITO, A. R. M; BRITO, A. S. Forty years of Brazilian medicinal plant research. **Journal of Ethnopharmacology**, v.39, p. 53-67, 1993.

CARLINI, E. A. **Farmacologia**: Prática sem Aparelhagem. São Paulo: Sarvier, 1973. p.16-19.

CARNESECCHI, S. *et al.* Geraniol, a component of plant essential oils, inhibits growth and polyamine biosynthesis in human colon cancer cells. **The Journal of Pharmacology and experimental therapeutics**. v. 298, n. 1, p. 197–200, 2001.

CHIANG, L. *et al.* Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of *Ocimum basilicum*. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v.32, p. 811-816, 2005.

COLLIER, H. O. J. *et al.* The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. **British Journal of Pharmacology**, v. 32, p.295-210, 1968.

CRAVO, S. **Classificação da dor**. [S.l.] [s.n.] 2005. Disponível em: <<http://centrodeestudos.org.br/matesp.html>>. Acesso em: 06.02.2006.

DUBUISSON, D.; DENNIS, S. G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morfine, merepidine and brain stem stimulation in rats and cats. **Pain**, v.4, p.161-174, 1997.

EDDY, N.B.; LEIMBACK, D. Synthetic analgesics II, dithienybutenil and dithieny butylamine. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 107, p.385-393, 1953.

FRANZOTTI, E. M. *et al.* Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (malva-branca). **Journal of Ethnopharmacology**, v.72, p.273-278, 2000.

FURST, E. D.; MUNSTER, T. Antiinflamatórios Não esteroidais Angentes Antireumáticos modificadors da doença, analgésicos não opióides & droga utilizada na Gota. IN: KATZUNG, G. B. **Farmacologia básica e clínica**. 8. ed. Rio de Janeiro Guanabara-Koogan, 2003. p. 518.

GARCIA, S. A. *et al.* **Biodiversidade**: perspectiva e oportunidades tecnológicas. Fitoterápicos, BDT. Disponível em:

<<http://www.bdt.fat.org.br/publicações/padct/bio/cap10/eloint.html>> . Acesso em: 2/2/2006.

GILMAN; GOODMAN. **As bases farmacológicas da Terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 2003. 230p.

GOVIN, E. S. *et al.* Estúdio farmacognóstico de *Ocimum basilicum* L. (albahaca branca). **Rev. Cubana Farm**, v. 34, n. 3, p.187-195, 2000.

GUYTON, A. C. **Fisiologia Humana**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 124p.

HUNSKAAR, S.; BERGE, O. G.; HOLE, K. A modified hot-plate test sensitive to mild analgesics. **Behavioural Brain Research**, v.21, p.101-108, 1996.

HUNSKAAR, S.; HOLE, K.. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v. 30, p.103-114, 1987.

JAVANMARDI, J. *et al.* Chemical Characterization of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Found in Local Accessions and Udes in Traditional Medicines in Iran. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p.5878-5883, 2002.

KHANNA, N.; BHATIA, J. Antinociceptive action of *Ocimum sanctum* (Tulsi) in mice: possible mechanism involved. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, n. 2, p.293-296, 2003.

KÉITA, M. S. *et al.* Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) [Coleoptera: Bruchidae]. **Journal of Stored Products Research**, v. 37, p. 339-349, 2001.

KOSTER, R.; ANDERSON. M.; De BEER, E. J. Acetic acid for analgesic screening. **Federation Proceedings**, v.18, p.412, 1959.

LAPA, A. J. *et al.* **Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais**. Ribeirão Preto: SBPM, 2003. 119p.

LARINI, L. **Toxicologia**. 3. ed. São Paulo: Editora Manolo, 1999. p. 43 - 50.

LENT, R. **Cem bilhões de Neurônios**: conceitos fundamentais de neurociência. São Paulo: Editora Atheneu, 2004. p.2-239.

LORKE, D. A new approach to acute toxicity testing. **Archives of Toxicology**, v. 54, p.275-287, 1983.

MACHADO, A. B. M. **Neuroanatomia Funcional**. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2002. 363p.

MAKONNEN, E. *et al.* Antipyretic properties of the aqueous and etanol extracts of the leaves of *Ocimum saue* and *Ocimum lamimifolium* in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, p. 85-91, 2003.

MARCHIORO, M. *et al.* Anti-nociceptive activity of the aqueous extract of *Erythrina velutina* leaves. **Fitoterapia**, v. 76, p. 637-642, 2005.

MENEZES, R. A. Neuroanatomofisiologia da Dor. IN: MENEZES, R. A. (org.). **Síndromes Dolorosas** – Diagnóstico-Terapêutico – Saúde Física e Mental. Rio de Janeiro: Editora Revinter, 1999. p.9-19.

NARUSUYE, K. *et al.* Linalool suppresses voltage-gated currents in sensory neurons and cerebellar Purkinje cells. **Journal of Neural Transmission**, v. 112, p. 193-203, 2005.

OGA, S. **Fundamentos de Toxicologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 1996. p.28-70.

PEANA, A. T. *et al.* Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. **Phytomedicine**, v. 9, p. 721-726, 2002.

_____. Linalool produces antinociception in two experimental models of pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 460, n.37-41, 2003.

_____. Profile of spinal and supra-spinal antinociception of (-)- linalool. **European Journal of Pharmacology**, v. 485, n.1-3, p.165-174, 2004.

_____. Effects of (-)-linalool in the acute hyperalgesia induced by carrageenan l-glutamate and prostaglandin E₂. **European Journal of Pharmacology**, v. 497, p.279-284, 2004.

PINTO, M. S. C. T. A percepção da dor: receptores envolvidos. **Revista da Faculdade de Medicina de Lisboa**. Série III, vol.5, n.5, 2000.

PRADO, W. A. Medicamentos Analgésicos de Ação Central. IN: GRAEFF, F. G.; GUIMARÃES, F. S. **Fundamentos de Psicofarmacologia**. São Paulo: Atheneu, 2001. p.175-195.

RABELO, M. *et al.* Antinociceptive properties of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. (Labiatae) in mice. **Brazilian Journal Medical and Biological Research**, v. 36, p. 521-524, 2003.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Farmacologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 176-181.

SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N. Antiinflammatory and Antinociceptive Effects of 1.8-Cineole a Terpenoid Oxide Present in many Plant Essential Oils. **Phytotherapy Research**, v. 14, p.240-244, 2000.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC. 2001. p. 261-397.

SOLOMONS, T. W.; FRYHLE, B. C. **Química Orgânica**. 7. ed. v. 1 e 2. Rio de Janeiro: LTC editora, 2002. p. 357, 374-376.

TEIXEIRA, M. J. **Dor: epidemiologia, fisiopatologia, avaliação, síndromes dolorosas e tratamento**. São Paulo: Grupo Editorial Moreira Jr., 2001. p. 1-35.

TEIXEIRA, M. J. et al. **Dor: contexto interdisciplinar**. Curitiba: Editora Maio, 2003. p.89-142.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Compêndio de Fitoterapia**. 2. ed. Curitiba: Herbarium, 2001. 317p

VAN DEL DOOL, H.; KRATZ, J. D. J. A generalization of the retention index system including linear temperatura programmed gas-liquid partition cromatography, **Journal of Chromatography**, v.11, p.463-467, 1963.

VALE, F. M. Dor – Novos aspectos fisiopatológicos e conseqüentes estratégias farmacológicas. **Revista da Faculdade de Medicina de Lisboa**, Série III, v. 5, n. 5, p.291-304, 2000.

VANHAELEN, H. M. Taxol and related diterpenoids of *Taxus* sp.: important aquisitioos in the treatment of cancer. **Journal de Pharmacie de Belgique**, v. 47n.5, p. 417-424, 1992.

WAGNER, K. H. Biological relevance of terpenoids overviwew focusing on mono, di and tetraterpenes. **Annals of Nutrition & Metabolism**, v. 47, p. 95-106, 2003.

WEISS, R. F. **Trattato di Fitoterapia**. 1. ed. Roma: Aporie, 1991. p.21-23.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J.B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Santa Catarina: Argo, 2001.

ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**. 4. ed. New Jersey : Prentice-Hall, 1999. 662p.

ZIGMOND, J. M. *et al.* **Fundamental Neuroscience**. San Diego: Academic Press, 1999. p. 774-777.

APÊNDICE A – CÁLCULOS DA DL₅₀

CÁLCULOS PARA OBTENÇÃO PARA EQUAÇÃO DA RETA E DOSE LETAL 50%

1- Valor probíticos provisórios

A == > Não faz (todos sobreviveram)

B == > $6/6 - 5/6 = 1/6 = 0,1666 < 1/2$ Vide tabela 03 - Quantis simples de distribuição normal

Portanto, $1/6 = 0,9674$. Subtraíu o afastamento 0,9674 de 5, logo... $5 - 0,9674 = 4,0326$

C == > $6/6 - 4/6 = 2/6 = 0,3333 < 1/2$ Vide tabela 03 - Não existe na Tabela 03 o quantil simples.

$9/28 = 0,3214$ Vide $\therefore 9/28$ na Tabela 03 = 0,4637

$2/6 = 0,3333$

$10/29 = 0,3448$ Vide $\therefore 10/29$ na Tabela 03 = $\frac{0,3993}{0,0644}$

Interpolação

$(9 + 10) / (28 + 29) = 19/57 \rightarrow (19 + 1)/57 = 20/57$

Como $2/6$ é menor que $1/2$, subtrair o afastamento normal de 5. Então:

$5 - [0,3993 + 20/57 (0,0644)] = 4,5781$

D == > $6/6 - 1/6 = 5/6 = 0,8333 > 1/2$ Somar o afastamento da normal a 5

$1/1 - 5/6 = 1/6$ Vide tabela 03 = 0,9674 então $5 + 0,9674 = 5,9674$

E ==> Não faz (todos morreram)

2 – Coeficiente de regressão provisório: $b = 3 (D - B) + (C - A) / 3^2 + 1^2$

$b = 3 (D - B) + C / 10$

$b = 3 (5,9674 - 4,0326) + 4,5781 / 10 = 1,0382$

Probite provisório: A = _____

$$B = 4,0326$$

$$C = 4,5781$$

$$D = 5,9674$$

$$E = \text{_____}$$

3 – Probite esperado: $1,0382 \times 3 = 3,1146$. Para o menor probite esperado (b x intervalo)

maior probite esperado – coeficiente de regressão provisório x intervalo =
menor probite provisório esperado

$$5,9674 - (1,0382 \times 3) = 5,9674 - 3,1146 = 2,8528 \cong 2,9$$

A	B	C	D	E	A = 2,9
2,9	3,9	4,9	5,9	6,9	B = A + 1,0 = 2,9 + 1,0 = 3,9
					C = B + 1,0 = 3,9 + 1,0 = 4,9
					D = C + 1,0 = 4,9 + 1,0 = 5,9
					E = D + 1,0 = 5,9 + 1,0 = 6,9

4 – Probite operacional (y) – trabalhar com a Tabela 04 coeficiente de ponderação e valores probíticos para ajustes finos.

Solução A	—	Probite esperado	→ 2,9
		Probite max. operacional	→ 25,230
		Intervalo	→ 22,736 (6/6) = 22,736
			$25,230 - 22,736 = 2,4940$
Solução B	—	Probite esperado	→ 3,9
		Probite max. operacional	→ 7,8676
		Intervalo	→ 4,5903 (5/6) = 3,8252
			$7,8676 - 3,8252 = 4,0424$
Solução C	—	Probite esperado	→ 4,9
		Probite max. operacional	→ 6,2599
		Intervalo	→ 2,5192 (4/6) = 1,6794
			$6,2599 - 1,6794 = 4,5805$

Solução D	—	Probite esperado	→ 5,9
		Probite max. operacional	→ 6,5917
		Intervalo	→ 3,7582 (1/6) = 0,6263
			6,5917 – 0,6263 = 5,9654
Solução E	—	Probite esperado	→ 6,9
		Probite max. operacional	→ 7,3376
		Intervalo	→ 15,240 (0/6) = 0
			7,3376 – 0 = 7,3376

5. Ponderação (ω) = coeficiente de ponderação x n , onde n = 6 número de animais testados

Solução	Probite Esperado	Coeficiente	ω	ωy
A	2,9	0,11026 x 6	0,6615	1,6497
B	3,9	0,40474 x 6	2,4284	9,8165
C	4,9	0,63431 x 6	3,8058	17,4324
D	5,9	0,47144 x 6	2,8286	16,8737
E	6,9	0,15436 x 6	0,9261	6,7953
		$\Sigma =$	10,6504	52,5676

6.

Solução	Dose	Log x	ω	ωx
A	0,10	- 1	0,6615	- 0,6615
B	0,25	- 0,6020	2,4284	- 1,4618
C	0,50	- 0,3010	3,8058	- 1,1455
D	1,00	0	2,8286	0
E	1,50	0,1761	0,9261	0,1630
		$\Sigma =$	10,6504	- 3,1058

7.

Solução	Log x	Log x ²	ωx^2	y	ωxy
A	- 1	1	0,6615	2,4940	- 1,6497
B	- 0,6020	0,3624	0,8800	4,0424	- 5,9095

C	- 0,3010	0,0906	0,3448	4,5805	- 5,2471
D	0	0	0	5,9654	0
E	0,1760	0,0310	0,0287	7,3376	1,1966
		Σ	= 1,9150	-	- 11,6097

y = probite operacional

x = log x

$$8. \Sigma \omega = 10,6504; \quad \Sigma \omega y = 52,5676; \quad \Sigma \omega x = - 3,1058; \quad \Sigma \omega x^2 = 1,9150; \quad \Sigma \omega xy = - 11,6097$$

$$X = \Sigma (\omega x) / \Sigma \omega = - 3,1058 / 10,6504 = - 0,2916$$

$$Y = \Sigma (\omega y) / \Sigma \omega = 52,5676 / 10,6504 = 4,9357$$

$$A = \Sigma (\omega x^2) - X (\Sigma \omega x) = 1,9150 - (- 0,2916) (- 3,1058) = 1,009, \text{ portanto } A = 1,009$$

$$B = \Sigma (\omega xy) - X (\Sigma \omega y) = - 11,6097 - (- 0,2916) (52,5676) = - 11,6097 + 15,3287 = 3,7190, \text{ portanto}$$

$$B = 3,7190$$

$$b = B / A = 3,7190 / 1,009 = 3,6858$$

9. Equação da reta – DL₅₀

$$y = a + bx; \quad - a = -y + bx \quad (-1) \therefore a = y - bx \therefore a = 4,9357 - (3,6853) (- 0,2916),$$

$$\text{então, } a = 4,9357 + 1,0748 \therefore a = 6,0104$$

$$y = a + bx;$$

$$y \text{ sempre} = 5, \therefore 5 = 6,0104 + 3,6863x; \text{ então } 5 - 6,0104 = 3,6863x,$$

$$x = - 1,0104 / 3,6863 \therefore x = - 0,2740$$

$$x = -0,2740 \log$$

$$\text{Antilog} = 0,5321, \text{ portanto } DL_{50} = 0,5321g$$

APÊNDICE B – TABELA DE QUANTIS SIMPLES

TABELA 03 - Quantis Simples da Distribuição Normal.
Frações próprias, com denominadores até 30, e o afastamento normal correspondente (BLISS, 1971).

*1/30	1,8339	*1/10	1,2816	5/27	0,8958	8/29	0,5952	*11/30	0,3407	9/20	0,1257
1/29	1,8187	3/29	1,2621	3/16	0,8871	5/18	0,5895	7/19	0,3360	5/11	0,1142
1/28	1,8028	2/19	1,2521	4/21	0,8761	7/25	0,5828	10/27	0,3309	11/24	0,1046
1/27	1,7861	3/28	1,2419	5/26	0,8694	2/7	0,5661	3/8	0,3186	6/13	0,0966
1/26	1,7688	1/9	1,2206	*1/5	0,8416	7/24	0,5485	11/29	0,3073	13/28	0,0896
1/25	1,7507	3/26	1,1984	6/29	0,8172	5/17	0,5414	8/21	0,3030	*7/15	0,0836
1/24	1,7317	2/17	1,1868	5/24	0,8122	8/27	0,5351	5/13	0,2934	8/17	0,0738
1/23	1,7117	3/25	1,1750	4/19	0,8046	*3/10	0,5244	7/18	0,2822	9/19	0,0660
1/22	1,6906	1/8	1,1503	3/14	0,7916	7/23	0,5119	9/23	0,2759	10/21	0,0597
1/21	1,6684	3/23	1,1244	5/23	0,7810	4/13	0,5024	11/28	0,2719	11/23	0,0545
1/20	1,6449	*2/15	1,1108	2/9	0,7647	9/29	0,4949	*2/5	0,2533	12/25	0,0502
1/19	1,6199	3/22	1,0968	5/22	0,7479	5/16	0,4888	11/27	0,2342	13/27	0,0464
1/18	1,5932	4/29	1,0897	3/13	0,7363	6/19	0,4795	9/22	0,2299	14/29	0,0432
1/17	1,5648	1/7	1,0676	*7/30	0,7279	7/22	0,4728	7/17	0,2230	*1/2	0
1/16	1,5341	4/27	1,0444	4/17	0,7215	8/25	0,4677	12/29	0,2178		
*1/15	1,5011	3/20	1,0304	5/21	0,7124	9/28	0,4637	5/12	0,2104		
2/29	1,4835	2/13	1,0201	6/25	0,7063	*1/3	0,4307	8/19	0,1992		
1/14	1,4652	3/19	1,0031	7/29	0,7019	10/29	0,3993	11/26	0,1940		
2/27	1,4461	4/25	0,9945	1/4	0,6745	9/26	0,3957	3/7	0,1800		
1/13	1,4261	*1/6	0,9674	7/27	0,6456	8/23	0,3912	*13/30	0,1679		
2/25	1,4051	5/29	0,9447	6/23	0,6407	7/20	0,3853	10/23	0,1642		
1/12	1,3829	4/23	0,9388	5/19	0,6336	6/17	0,3774	7/16	0,1573		
2/23	1,3597	3/17	0,9289	*4/15	0,6229	5/14	0,3661	11/25	0,1510		
1/11	1,3352	5/28	0,9208	7/26	0,6151	9/25	0,3585	4/9	0,1397		
2/21	1,3092	2/11	0,9085	3/11	0,6046	4/11	0,3488	13/29	0,1300		

Muitas frações com denominadores maiores podem ser rapidamente obtidas por simples interpolação entre valores adjacentes; por exemplo, de 5/13 e 7/18 devido a $(5+7) / (13+18) = 12/31$, o afastamento normal para 12/31 é julgado como sendo $0,2822 + (13/31) \cdot (0,0112) = (0,286897)$. O valor correto é 0,286894. Cada trigésimo é marcado com um asterisco.

Para converter em valores probíticos subtraia de 5, e para frações λ maiores do que $\frac{1}{2}$, adicione a 5 o valor para $1 - \lambda$.

APÊNDICE C – PROBITOS

TABELA 04 - Probitos - Coeficientes de ponderação e valores probíticos para serem utilizados em ajustes finos (adaptado de Bliss, 1935).

Probite esperado	Probite Mínimo Operacional Y – P/Z	Intervalo 1/Z	Probite Máximo Operacional Y + Q/Z	Coeficiente de ponderação $Z^2 / P Q$	Probite Esperado	Probite Mínimo Operacional Y – P/Z	Intervalo 1/Z	Probite Máximo Operacional Y + Q/Z	Coeficiente de ponderação $Z^2 / P Q$
1,1	0,8719	5034	5035	0,00082	5,0	3,7467	2,5066	6,2533	0,63662
1,2	0,9522	3425	3426	0,00118	5,1	3,7401	2,5192	6,2593	0,63431
1,3	1,0462	2354	2355	0,00167	5,2	3,7186	2,5573	6,2759	0,62742
1,4	1,1400	1634	1635	0,00235	5,3	3,6798	2,6220	6,3018	0,61609
1,5	1,2335	1146	1147	0,00327	5,4	3,6203	2,7154	6,3357	0,60052
1,6	1,3266	811,5	812,8	0,00451	5,5	3,5360	2,8404	6,3764	0,58099
1,7	1,4194	580,5	581,9	0,00614	5,6	3,4220	3,0010	6,4230	0,55788
1,8	1,5118	419,4	420,9	0,00828	5,7	3,2724	3,2025	6,4749	0,53159
1,9	1,6038	306,1	307,7	0,01104	5,8	3,0794	3,4519	6,5313	0,50260
2,0	1,6954	225,6	227,3	0,01457	5,9	2,8335	3,7582	6,5917	0,47144
2,1	1,7866	168,00	169,79	0,01903	6,0	2,5230	4,1327	6,6557	0,43863
2,2	1,8772	126,34	128,22	0,02459	6,1	2,1324	4,5903	6,7227	0,40474
2,3	1,9673	95,96	97,93	0,03143	6,2	1,6429	5,1497	6,7926	0,37031
2,4	2,0568	73,62	75,68	0,03977	6,3	1,0295	5,8354	6,8649	0,33589
2,5	2,1457	57,05	59,20	0,04979	6,4	0,2606	6,6788	6,9394	0,30199
2,6	2,2340	44,654	46,888	0,06169	6,5	- 0,705	7,721	7,0158	0,26907
2,7	2,3214	35,302	37,623	0,07563	6,6	- 1,921	9,015	7,0940	0,23753
2,8	2,4081	28,189	30,597	0,09179	6,7	- 3,459	10,633	7,1739	0,20774
2,9	2,4938	22,736	25,230	0,11026	6,8	- 5,411	12,666	7,2551	0,17994
3,0	2,5786	18,522	21,101	0,13112	6,9	- 7,902	15,240	7,3376	0,15436
3,1	2,6624	15,240	17,902	0,15436	7,0	- 11,101	18,522	7,4214	0,13112
3,2	2,7449	12,666	15,411	0,17994	7,1	- 15,230	22,736	7,5062	0,11026
3,3	2,8261	10,633	13,459	0,20774	7,2	- 20,597	28,189	7,5919	0,09179
3,4	2,9060	9,015	11,921	0,23753	7,3	- 27,623	35,302	7,6786	0,07564
3,5	2,9842	7,721	10,705	0,26907	7,4	- 36,888	44,654	7,7661	0,06168
3,6	3,0606	6,6788	9,7394	0,30199	7,5	- 49,20	57,05	7,8543	0,04979
3,7	3,1351	5,8354	8,9705	0,33589	7,6	- 65,68	73,62	7,9432	0,03977
3,8	3,2074	5,1497	8,3571	0,37031	7,7	- 87,93	95,96	8,0327	0,03143
3,9	3,2773	4,5903	7,8676	0,40474	7,8	- 118,22	126,34	8,1228	0,02458
4,0	3,3443	4,1327	7,4770	0,43863	7,9	- 159,79	168,00	8,2134	0,01903
4,1	3,4083	3,7582	7,1665	0,47144	8,0	- 217,3	225,6	8,3046	0,01457
4,2	3,4687	3,4519	6,9206	0,50260	8,1	- 297,7	306,1	8,3962	0,01104
4,3	3,5251	3,2025	6,7276	0,53159	8,2	- 410,9	419,4	8,4882	0,00828
4,4	3,5770	3,0010	6,5780	0,55788	8,3	- 571,9	580,5	8,5806	0,00614
4,5	3,6236	2,8404	6,4640	0,58099	8,4	- 802,8	811,5	8,6734	0,00451
4,6	3,6643	2,7174	6,3797	0,60052	8,5	- 1137	1146	8,7666	0,00327
4,7	3,6982	2,6220	6,3202	0,61609	8,6	- 1625	1634	8,8600	0,00235
4,8	3,7241	2,5573	6,2814	0,62741	8,7	- 2345	2354	8,9538	0,00167
4,9	3,7407	2,5192	6,2599	0,63431	8,8	- 3416	3425	9,0478	0,00118
5,0	3,7467	2,5066	6,2533	0,63662	8,9	- 5025	5034	9,1421	0,00082

Em toxicologia, os valores probíticos utilizados são encontrados adicionando-se 5 ao afastamento normal. O coeficiente de ponderação $Z^2 / P Q$ para qualquer teste é derivado do próbite Y dado por alguma fórmula provisória. O resultado apropriado para um teste em que uma proporção p observada morre e q sobrevive é y_c , onde $q = (Y - P/Z) + p/Z = (Y + Q/Z) - q/Z = q(Y - P/Z) + p(Y + Q/Z)$.

APÊNDICE D – DECLARAÇÃO DO CEPA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS (CEPA)

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa intitulado "Atividades: analgésica, antiinflamatória do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L.", sob coordenação do Prof. Dr. Ângelo Roberto Antonioli, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de Sergipe, em reunião realizada dia 04/11/2005.

São Cristóvão, 09 de novembro de 2005

A handwritten signature in black ink, which appears to read "Flavia", is written over a horizontal line.

Prof.ª Dr.ª Flavia Teixeira Silva
Presidente do CEPA/UFS

Cidade Universitária "Prof. Aloísio de Campos"
Jardim Rosa Elze – São Cristóvão – SE
49100-000
Fones: 3212 6661/6606

APÊNDICE E – RELATÓRIO DE ATIVIDADES



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
NÚCLEO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA

RELATÓRIO ANUAL – 1º e 2º Semestre – Ano 2005

Aluno: Antonio Medeiros Venancio

Nº matrícula: 41070893

Orientador: Ângelo Roberto Antonioli

Título do Projeto: Toxicidade Aguda e Atividade antinociceptiva do Óleo Essencial do *Ocimum basilicum* L.

Situação atual : em iminência de Qualificação

Resumo do Projeto:

O projeto tem como objetivo principal determinar as atividades analgésica e antiinflamatória do Óleo Essencial do *Ocimum basilicum*, variedades 005 e “Maria Bonita”, aclimatadas na Fazenda Experimental da Universidade Federal de Sergipe, pelo Departamento de Agronomia.

Material utilizado: óleo essencial do *Ocimum basilicum*, extraído pelo método de Clevenger, modificado.

Testes a serem realizados.

1. Toxicidade aguda (DL-50), segundo Dietrich (1993).
2. Determinação da atividade analgésica;
 - 2.1. Atividade antinociceptiva – a dor será induzida pela administração de ácido acético 0,6%, via intra-peritoneal em camundongos;
 - 2.2. Teste da placa quente – Placa quente a 55°C;
 - 2.3. Teste da Formalina a 1%.
3. Atividade antiedematogênica – edema induzido pela carragenina.

ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO SEMESTRE:

1. Fundamentação teórica através de levantamento bibliográfico, utilizando os mais diversos meios, tais como: livros, artigos científicos, revistas, monografias, teses e internet;

2. Estudo da toxicidade aguda do  leo Essencial *Ocimum basilicum* L. (manjeriço), aplicando a metodologia da Determinação da Dose Letal Média (DL-50) em camundongos, pelo Método do Probit;

3. Desenvolvimento dos experimentos laboratoriais, utilizando-se de 3 modelos experimentais de Dor Aguda e Persistente, os quais são:

3.1. Teste da Contor o Abdominal, induzida pelo  cido Acético (Koster *et al*);

3.2. Teste da Placa Quente - *Hot Plate* (Eddy & Leimbach); e,

3.3. Teste da Formalina (Dubuisson & Dennis).

Observação: A realização do experimento para o teste antiedematog nico (edema induzido pela carragenina) não foi efetivada, visto que o Pletism metro (Modelo 7159, Ugo Basile, Varese, Itália) apresentou defeitos de funcionamento – fato não possível de se prever, por ter ocorrido após a entrega do Projeto supracitado. Por se tratar de um equipamento importado, logo haveria necessidade de enviá-lo ao exterior para fins de conserto, o que inviabilizou a execução desse teste. Em função ocorrido, foi necessário alterar o título original do trabalho para “TOXICIDADE AGUDA E ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO ÓLEO ESSENCIAL DO *Ocimum basilicum* L. (MANJERICÃO), EM *Mus musculus* (CAMUNDONGOS)”, com autorização do Orientador Prof. Dr.  ngelo Roberto Antonioli.

ATIVIDADES PREVISTAS PARA O PRÓXIMO SEMESTRE:

Data prevista para a Qualificação da Dissertação: 22/02/2006

PREVISÃO DE DEFESA:

22/03/2006

ASSINATURA DO ALUNO: _____

ASSINATURA DO ORIENTADOR: _____

Aracaju, 5 de janeiro de 2006