

MARCELA RODRIGUES DA SILVA

**PERFIL ANSIOLÍTICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Lavandula angustifolia Miller PELA VIA INALATÓRIA EM
MODELOS ANIMAIS**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
LABORATÓRIO DE TECNOLOGIA FARMACÊUTICA
PROF. DELBY FERNANDES DE MEDEIROS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E
SINTÉTICOS BIOATIVOS**

JOÃO PESSOA

2008

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

MARCELA RODRIGUES DA SILVA

**PERFIL ANSIOLÍTICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Lavandula angustifolia Miller PELA VIA INALATÓRIA EM
MODELOS ANIMAIS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica Prof. Delby Fernandes de Medeiros da Universidade Federal da Paraíba, para obtenção do grau de MESTRE EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS, Área de concentração: FARMACOLOGIA.

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Reinaldo Nóbrega de Almeida

Co - ORIENTADORA:

Profa. Dra. Liana Clébia Soares Lima de Moraes

JOÃO PESSOA

2008

MARCELA RODRIGUES DA SILVA

**PERFIL ANSIOLÍTICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Lavandula angustifolia Miller PELA VIA INALATÓRIA EM
MODELOS ANIMAIS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica Prof. Delby Fernandes de Medeiros da Universidade Federal da Paraíba, para obtenção do grau de MESTRE EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS, Área de concentração: FARMACOLOGIA.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

**Prof. Dr. Reinaldo Nóbrega de Almeida
Orientador – UFPB**

**Prof. Dra. Carlúcia Ithamar Fernandes Franco
Avaliadora – UEPB**

**Prof. Dra. Margareth F. F. Melo Diniz
Avaliadora - UFPB**

A Deus, meu único motivo de renascer todos os dias neste mundo. Toda minha vida SENHOR pertence a TI.

dedico.

AGRADECIMENTOS

A **DEUS**, essência da minha vida, meu fundamento, minha finalidade neste mundo, tudo só foi possível porque ELE permitiu;

A **minha família**, que mesmo não compreendendo os meus objetivos, me ajudaram silenciosamente, amo vocês;

Ao Prof. Dr. **Reinaldo Nóbrega de Almeida**, pela oportunidade, compreensão e afincos como orientador de vidas e alunos;

A Dr^a. **Carlúcia Ithamar**, que me incentivou e ajudou na busca deste sonho;

A Prof^a Dra. **Liana Clébia Soares Lima de Moraes**, pela co-orientação;

Ao coordenador do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Prof. Dr. **José Maria Barbosa Filho**, que atendeu seus alunos com prontidão e respeito;

A todos os professores que fizeram parte do curso pelos ensinamentos prestados, em especial as professoras **Maria de Lourdes, Margareth F. F. Melo Diniz, Bagnólia Araújo**;

A todos os meus amigos da turma de mestrado, em especial **Rafael Rodrigo; Egberto Santos; Roosevelt Albuquerque; Camila Carolina; Josimar Santos**, pelo companheirismo e ajuda;

A todos que fazem parte do Laboratório de Psicofarmacologia especialmente **Clécia Sena; Raquel de Lima; Vanine Mota; Flávia Negromonte; Camila Carolina; Franklin da Nóbrega; Fernando Oliveira; Naiana Godim; Leandra Eugênia; Marilene Lopes; Guilherme Montes e Cicília Pontes** pela ajuda científica e a amizade;

A **José Crispim Duarte** e **Luís Cordeiro** por cuidar bem dos animais utilizados nos testes e pela ajuda a nós dispensada;

Respeitosamente aos **animais** que foram utilizados nos experimentos;

A todos meus amigos

“Não to mandei EU? Esforça-te, e tem bom ânimo; não temas, nem te espantes; porque o SENHOR TEU DEUS é contigo, por onde quer que andares.”

Josué 1: 9

RESUMO

Silva, M.R. Perfil ansiolítico do óleo essencial de *Lavandula angustifolia* Miller pela via inalatória em modelos animais.

A *Lavandula angustifolia* Miller (lavanda) é uma espécie vegetal que tem atraído a atenção de pesquisadores devido a variedade de atividades biológicas que apresenta; entre estas, a propriedade ansiolítica tem sido objeto de estudos aprofundados uma vez que a ansiedade é um relevante problema de saúde pública em todo o mundo. O presente trabalho investigou os possíveis efeitos comportamentais decorrentes do tratamento inalatório com o óleo essencial de lavanda em modelos animais de ansiedade. Estudo piloto preliminar permitiu caracterizar o perfil depressor do óleo e estabelecer as concentrações (0,5%; 1,0% e 2,5%) para os testes subseqüentes. Nos modelos de ansiedade do labirinto em cruz elevado, placa perfurada, campo aberto, esconder esferas e interação social, a atividade ansiolítica do óleo pela via inalatória foi comprovada. Os dados inferem que a inalação do óleo de lavanda foi capaz de aumentar o tempo e a visitação dos animais nos braços abertos do labirinto em cruz elevado ($115,6 \pm 18,7$ vs $14,2 \pm 6,6$ (1,0%); $76,4 \pm 17,0$ vs $34,6 \pm 5,6$ (2,5%) e $6,2 \pm 0,9$ vs $2,4 \pm 0,9$ (1,0%) respectivamente) além de reduzir a visitação e o tempo gasto nos braços fechados ($178,8 \pm 12,2$ vs $234,3 \pm 14,2$ (1,0%)); aumentou a atividade exploratória ($33,9 \pm 5,0$ vs $21,2 \pm 1,8$ (1,0%)) e o número de mergulhos no teste da placa perfurada ($37,7 \pm 2,4$ vs $26,7 \pm 3,8$ (2,5%)); no campo aberto, a ambulação centrípeta ($185,6 \pm 3,5$ vs $120,1 \pm 10,9$ (0,5%)), e a elevação ($19,6 \pm 3,6$ vs $10,2 \pm 2,2$ (1,0%)) foram aumentados e a defecação ($1,2 \pm 0,1$ vs $2,5 \pm 0,5$ (1,0%)), o tempo de imobilidade ($4,2 \pm 1,8$ vs $31,2 \pm 10,4$ (2,5%)) e de auto-limpeza ($4,6 \pm 1,5$ vs $22,0 \pm 4,3$ (0,5%)) foram reduzidos; a quantidade de esferas encobertas com serragem foi reduzida ($3,0 \pm 0,7$ vs $12,0 \pm 0,7$ (1,0%)) e houve aumento de atividades de interação social como o aumento da limpeza mútua ($22,8 \pm 2,6$ vs $3,8 \pm 0,6$ (2,5%)). A investigação do comprometimento do sistema motor na resposta ansiolítica afastou a possibilidade de um efeito falso positivo, uma vez que os animais tratados com o óleo não apresentaram prejuízo na coordenação motora, enquanto os animais tratados com a droga padrão (diazepam – 1 mg/kg) demonstraram uma incapacidade motora que diminuiu com o tempo. Na tentativa de avaliar o mecanismo de ação para o óleo de lavanda, camundongos foram pré-tratados com flumazenil (10mg/kg), um antagonista do sistema gabaérgico, sendo observado bloqueio do efeito do óleo e do diazepam. Com base nos dados experimentais é possível concluir que o tratamento inalatório com o óleo de lavanda em modelos animais tem uma indicação correlativa de atividade ansiolítica em humanos e este efeito não está associado a prejuízo motor, sendo a via mais provável de ação da essência a transmissão gabaérgica, embora outros estudos devam aprofundar tal conhecimento.

Palavras-chave: *Lavandula angustifolia* Miller. Óleo essencial. Atividade ansiolítica. Inalação. Lavanda.

ABSTRACT

Silva, M.R. Anxiolytic profile of *Lavandula angustifolia* Miller essential oil thorough inhalatory via in animal models

The *Lavandula angustifolia* Miller (lavender) is a plant specie that draws researches attention around the world because of its large varied biological activities; among these activities, the anxiolytic property is the goal of many deep studies because the anxiety is a raised health problem throughout the countries. This study investigated the possible behavioral states resulted from inhaled treatment with the lavender essential oil in animals models of anxiety. Preliminary study let us to characterize its depressor profile and to establishes the concentrations (0,5%; 1,0% e 2,5%) to subsequent tests. In to the elevated plus maze, hole board, open field, defensive burying and interaction social animal, the anxiolytic action from the oil was comproved. The data infer that the lavender inhalation was able to increase the spent time and the number of visitations of the animal into the open arms of the elevated plus maze ($115,6 \pm 18,7$ vs $14,2 \pm 6,6$ (1,0%); $76,4 \pm 17,0$ vs $34,6 \pm 5,6$ (2,5%) e $6,2 \pm 0,9$ vs $2,4 \pm 0,9$ (1,0%) respectively), besides the treatment animals reduces the visitations and spent time into the closed arms ($178,8 \pm 12,2$ vs $234,3 \pm 14,2$ (1,0%)); the oil provokes increase of the exploratory activity ($33,9 \pm 5,0$ vs $21,2 \pm 1,8$ (1,0%)) and the head deap behavior into the hole board test ($37,7 \pm 2,4$ vs $26,7 \pm 3,8$ (2,5%)); in the open field, the centripetal ambulation ($185,6 \pm 3,5$ vs $120,1 \pm 10,9$ (0,5%)), and the number of rearings ($19,6 \pm 3,6$ vs $10,2 \pm 2,2$ (1,0%)) were increased; while the defecation ($1,2 \pm 0,1$ vs $2,5 \pm 0,5$ (1,0%)), the freezing ($4,2 \pm 1,8$ vs $31,2 \pm 10,4$ (2,5%) and the grooming ($4,6 \pm 1,5$ vs $22,0 \pm 4,3$ 0,5%)) were decreased; the quantity of marble buried with sawdust was reduced ($3,0 \pm 0,7$ vs $12,0 \pm 0,7$ (1,0%) and there was increase of interaction social activities as the behavior of dust each other of the pair ($22,8 \pm 2,6$ vs $3,8 \pm 0,6$ (2,5%). The investigation of some motor system damage associated with the anxiolytic action removed the possibility of any false positive effect, because the treated animals didn't show any motor coordination prejudice; while the animals treated with the standard drug (diazepan – 1 mg/kg) showed a lower capacity of keep themselves in the rota - rod in the first hours of the test. Trying to evaluate the celular mechanism for the lavender essencial oil, mice were treated with flumazenil (10mg/kg), a gabaergic antagonist, and it was observed the blockade of the essential oil and diazepan effects. Evaluating the data, it is possible to conclude that the inhalatory lavender oil treatment in animal models has a indicative correlation with its anxiolitic human activity, this effect don't show association with any motor damage and the possible via throughout it produces this effect is the gabaergic transmission, however many others studies have to developed this idea to deep this knowledge.

Key-words: *Lavandula angustifolia* Miller. Essential Oil. Anxiolytic Activity. Inhalation. Lavander.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura química dos monoterpenos e sesquiterpenos.....	17
Figura 2	Estrutura química do Diazepam.....	23
Figura 3	Estrutura química do ácido γ -aminobutírico (GABA).....	23
Figura 4	Ligação do Diazepam ao receptor Gaba-A.....	24
Figura 5	<i>Lavandula angustifolia</i> Miller.....	25
Figura 6	Estrutura química do linalol.....	28
Figura 7A	Camundongo <i>Swiss</i>	35
Figura 7B	Rato <i>Wistar</i>	35
Figura 7C	Camundongos machos em gaiola de polietileno.....	36
Figura 8	Aparelho do Labirinto em cruz elevado.....	38
Figura 9	Aparelho da placa perfurada, em detalhes à esquerda a plataforma com 16 orifícios e à direita a central de registro do comportamento de “mergulho”.....	39
Figura 10	Plano superior do aparelho do campo aberto, detalhando a arena.....	40
Figura 11	Plano superior da organização das esferas na caixa de experimentação.....	40
Figura 12	Ângulo lateral das barras giratórias.....	41
Figura 13	Caixa de inalação.....	42
Figura 14	Camundongo em elevação.....	48

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Alterações comportamentais em camundongos induzidas pelo tratamento com a inalação do OEL.....	55
Quadro 2	Efeito do Diazepam (1mg/kg) na triagem farmacológica comportamental em camundongos <i>Swiss</i>	56

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o número de visitas nos braços do labirinto em cruz elevado.....	58
Gráfico 2	Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o tempo de permanência nos braços do labirinto em cruz elevado.....	58
Gráfico 3	Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o número de mergulhos nos orifícios no teste da placa perfurada.....	59
Gráfico 4	Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre a atividade exploratória dos animais no teste da placa perfurada.....	60
Gráfico 5	Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o número de elevações dos animais no teste da placa perfurada.....	60
Gráfico 6	Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o número de bolos fecais dos animais no teste do campo aberto.....	61
Gráfico 7	Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre a auto-limpeza dos animais no teste do campo aberto.....	62
Gráfico 8	Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o tempo de imobilidade dos animais no campo aberto.....	62
Gráfico 9	Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre a elevação dos animais no teste do campo aberto.....	63
Gráfico 10	Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre a atividade exploratória dos animais no teste do campo aberto.....	63
Gráfico 11	Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o número de esferas encobertas no teste de esconder esferas.....	64
Gráfico 12	Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg)	

	sobre a ambulação centrípeta dos animais no teste da interação social.....	65
Gráfico 13	Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o comportamento sexual de animais no teste da interação social.....	66
Gráfico 14	Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre a limpeza mútua de animais no teste da interação social.....	66
Gráfico 15	Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o tempo de cheirar o par de animais no teste da interação social.....	67
Gráfico 16	Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre a coordenação motora dos animais nos tempos 0; 30 e 60 min.....	68
Gráfico 17	Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre a coordenação motora dos animais nos tempos 90 e 120 min.....	69
Gráfico 18	Antagonismo do flumazenil (10mg/kg;i.p.) sobre os efeitos ansiolíticos do OEL (1,0%; v.i.) e DZP (1mg/kg;i.p.) no teste de esconder esferas.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

BTG -	Biotério Prof. Dr. Thomas George
DL ₅₀ -	Dose letal 50%
DZP -	Diazepam
ISO -	Organização Internacional de Normas Padrão
GABA -	Ácido gama amino butírico
GABA _A -	Receptor de ácido gama amino - butírico tipo A
i.p. -	Intraperitoneal
Lab. -	Laboratório
LTF -	Laboratório de Tecnologia Farmacêutica Prof. Delby Fernandes de Medeiros
SNC -	Sistema Nervoso Central
UFPB -	Universidade Federal da Paraíba
5HT -	Serotonina
v.i. -	Via inalatória
CEPA -	Comitê de Ética em Pesquisa Animal
SNA -	Sistema Nervoso Autônomo
OEL -	Óleo essencial de lavanda
FL -	Flumazenil
LH -	Hormônio Luteinizante
ACTH -	Hormônio Gonadotrópico
DSM-IV	Manual de Diagnóstico e Estatística das Doenças Mentais
TGA	Transtorno de Ansiedade Generalizada
° C	Grau Celsius
min.	minutos

SUMÁRIO

I – INTRODUÇÃO	16
II – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	21
2.1 Considerações gerais sobre os distúrbios da ansiedade.....	21
2.2 Espécie vegetal <i>Lavandula angustifolia</i> Miller.....	24
2.3 Atividades farmacológicas de óleos essenciais.....	26
2.4 O uso da via inalatória em modelos animais.....	29
III – OBJETIVOS	33
IV – MATERIAL	35
4.1 Animais.....	35
4.1.1 Condições experimentais.....	36
4.2 Substâncias utilizadas.....	37
4.3 Preparação da óleo essencial de lavanda.....	37
4.4 Aparelhagem.....	38
4.4.1 Labirinto em cruz elevado.....	38
4.4.2 Placa perfurada.....	39
4.4.3 Campo aberto.....	39
4.4.4 Caixa de experimentação para o teste de esconder esferas.....	40
4.4.5 Arena de observação para o teste da interação social.....	41
4.4.6 Aparelho utilizado para testar a coordenação motora.....	41
4.4.7 Caixas de Inalação.....	42
V. MÉTODOS	44
5.1 Fase de padronização	44
5.1.1 Triagem Farmacológica Comportamental.....	44
5.2 Fase de execução.....	45
5.2.1 Teste do labirinto em cruz elevado.....	45
5.2.2 Teste da placa perfurada.....	46
5.2.3 Teste do campo aberto.....	47
5.2.4 Teste de esconder esferas.....	48
5.2.5 Teste da interação social.....	49
5.2.6. Teste da coordenação motora.....	50
5.2.7 Estudo do possível envolvimento do sistema gabaérgico no efeito do óleo de lavanda pela via inalatória.....	51
5.2.7.1 Bloqueio do efeito ansiolítico pelo tratamento prévio com flumazenil no teste de esconder esferas.....	51
5.3 Análise estatística.....	52
VI – RESULTADOS	54
6.1 Efeito do OEL e do Diazepam na triagem farmacológica comportamental.....	54

6.2 Efeito do OEL e do Diazepam no teste do labirinto em cruz elevado.....	57
6.3 Efeito do OEL e do Diazepam no teste da placa perfurada	59
6.4 Efeito do OEL e do Diazepam no teste do campo aberto.....	61
6.5 Efeito do OEL e do Diazepam no teste de esconder esferas.....	64
6.6 Efeito do OEL e do Diazepam no teste da interação social.....	65
6.7 Efeito do OEL e do Diazepam no teste da barra giratória.....	68
6.8 Efeito do bloqueio do flumazenil na ação ansiolítica do OEL e do Diazepam no teste de esconder esferas.....	70
VII – DISCUSSÃO.....	72
VIII – CONCLUSÕES.....	82
REFERÊNCIAS.....	84
ANEXOS.....	93

Introdução

I - INTRODUÇÃO

A ansiedade é tida como uma resposta condicionada ao medo, sendo que neste último há uma ameaça definida e na ansiedade o iminente perigo não está bem qualificado, por sua vez, nos estados ansiosos, as reações normais ao medo ocorrem de uma maneira antecipada. (EFRAIM, 2006; NAZAR *et al.*, 1999; CHEN *et al.*, 2006 b). O aumento da tensão muscular, os comportamentos defensivos, as emoções negativas e disfunção do sistema nervoso autônomo (SNA) que compreendem aumento da frequência cardíaca, força de contração e batimentos cardíacos, alterações respiratórias, hipersecreção gástrica e urgências de micção e defecação são referidos como ocorrências psicológicas desagradáveis associadas ao medo e a ansiedade (GRAEFF, GUIMARÃES, 2000; RANG *et al.*, 2004; RAMIREZ *et al.*, 2006).

A ansiedade é um sintoma, presente em vários quadros psicopatológicos, como depressão, esquizofrenia, etc., ou como um quadro patológico, com características relativamente bem definidas. De acordo com o Manual de Diagnóstico e Estatística das Doenças Mentais (DSM-IV), os principais transtornos classificados como de ansiedade seriam: pânico, com ou sem agorafobia, agorafobia sem história de pânico, fobia específica, fobia social, transtorno obsessivo compulsivo e os transtornos de estresse (ALMEIDA, 2006).

Os principais grupos de fármacos utilizados como padrões para o tratamento da patologia compreendem: benzodiazepínicos; azaspironas; antagonistas do receptor beta-adrenérgico, barbituratos e alguns antidepressivos (RANG *et al.*, 2004). Embora sejam estes os medicamentos de escolha no tratamento do distúrbio, alguns efeitos indesejáveis são registrados com seu uso, como é o caso da tolerância, dependência, sedação, entre outros. (NOGUEIRA *et al.*, 1998).

Rabbani *et al* (2004) concordam que as desordens da ansiedade são as mais comuns doenças mentais no mundo e a doença produz um alto custo econômico e, portanto tem se tornado uma importante área de interesse de pesquisas em psicofarmacologia; desta forma, a justificada procura por novos produtos e alternativas

terapêuticas no tratamento do distúrbio que proporcionem um melhor efeito custo-benefício continua sendo primordial.

O Brasil é um país que possui uma flora bastante diversificada e uma situação geográfica privilegiada, o que justifica a pesquisa de substâncias naturais derivadas de plantas no tratamento de inúmeros distúrbios como a ansiedade (NOGUEIRA *et al.*, 1998). Os óleos essenciais são substâncias derivadas do metabolismo secundário de várias espécies de plantas e possuem várias atividades farmacológicas sobre o organismo humano; pertencem geralmente a duas séries: série dos terpenos oriundos da rota mevalônica, possuindo em sua estrutura química 10 ou 15 átomos de carbono, sendo chamados de monoterpenos ou sesquiterpenos (Figura 1) respectivamente e a série dos compostos arênicos que, biologicamente, derivam do ácido chiquímico (SIMÕES *et al.*, 2003).

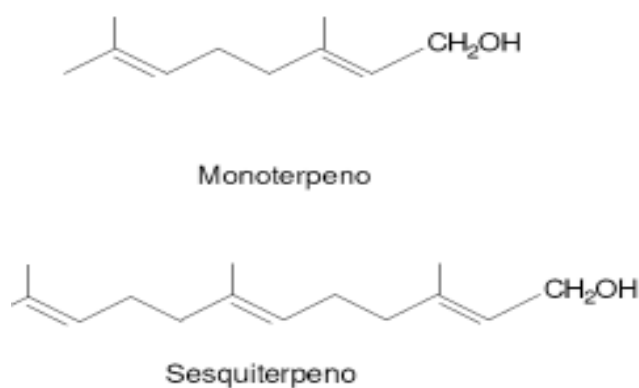


Figura 1- Estrutura química dos monoterpenos e sesquiterpenos.

De acordo com Leal-Cardoso; Fonteles, (1999); e Cooke (2000); as “plantas aromáticas” têm despertado interesse de pesquisadores pelas suas múltiplas ações fisiológicas, as quais estão associadas aos óleos essenciais que representam 1-2 % da composição desses vegetais. Moreira *et al.*, (2001); Chindo *et al.*, (2003); Gargano (2007); Umezu (1999), acrescentam que aos óleos essenciais têm sido atribuídas as mais variadas propriedades biológicas como antimicrobiana, antiparasitária,

antioxidante e psicotrópica, carminativa; antiespasmódica; estimulante das secreções do aparelho digestório; cardiovascular; irritante tóxica; secretolítica; efeitos sobre o sistema nervoso central; anestésica local; antiinflamatória; anti-séptica e ansiolítica.

Chen *et al.*, (2005) estudaram os efeitos ansiolíticos do óleo essencial de *Angelica archangelica* L. (angélica) utilizando testes como o labirinto em cruz elevado, interação social e placa perfurada encontrando resultados significativos. Umezu (2000) constatou um possível efeito ansiolítico da essência de rosa e do óleo de lavanda em estudos utilizando dois conhecidos testes de conflito.

Com o óleo essencial de *Croton zehntneri* foi verificado um efeito depressor do SNC em roedores, como a redução da ambulação, que segundo os autores, justifica o uso popular dessa planta no tratamento de distúrbios como a ansiedade. (BATATINHA *et al.*, 1995). Da mesma forma, Ramirez *et al.* (2006) encontraram efeitos ansiolíticos no óleo de *Annona diversifolia* em modelos animais. O óleo essencial de Ylang-Ylang foi estudado em fase clínica, caracterizando seu perfil ansiolítico (BUCHCAUER, HONGRATANAWORAKIT, 2004). Pultrini *et al.* (2006), também tiveram interesse em investigar o efeito ansiolítico do óleo essencial de *Citrus aurantium*, encontrando resultados favoráveis. Estes são apenas alguns exemplos de pesquisas sobre o perfil ansiolítico de vários óleos essenciais pela via intraperitoneal ou por gavagem, porém existem poucos estudos acerca desta atividade pela via inalatória.

Ceccarelli *et al.*, (2004) descrevem que os odores afetam a memória, a performance de atividades motoras, aliviam a ansiedade, melhoram o humor e acentuam as emoções, sendo a aromaterapia o nome dado a alternativa terapêutica que tem os odores e o sistema olfatório como principal atores da ação curativa. Marguerite Maury (2001, apud Lavabre, 2001) escreve: “Merece especial atenção o efeito das fragrâncias no estado psíquico e mental do indivíduo. O poder da percepção torna-se mais claro e penetrante e há um sentimento de ter, até certo ponto, superado os próprios eventos. (...) Pode-se até dizer que o problema emocional que costuma obscurecer nossa percepção é praticamente eliminado.” Buchbauer, Jirovetz e Lager (1991), já referiram o tratamento popular de distúrbios psicossomáticos ou indisposições do homem baseado somente pela inalação de moléculas de fragrâncias biologicamente ativas conhecido como aromaterapia ou osmoterapia.

Haze *et al.*, (2002) mostram que a estimulação olfatória pela inalação de fragrâncias exerce vários efeitos fisiológicos em humanos. Estudos em nível clínico com uso da inalação do óleo de lavanda e outros óleos como laranja e rosa já estão sendo desenvolvidos com resultados ansiolíticos favoráveis (HARDY *et al.*, 1995; DIEGO *et al.*, 1998; ITAI *et al.*, 2000; LEHRNER *et al.*, 2005; WADJA *et al.*, 2006), possibilitando a ampliação do uso da aromaterapia em estudos científicos a fim de comprovar sua eficácia e afastar sua misticidade. Os efeitos atribuídos ao uso de óleos essenciais pela via inalatória são decorrentes de mecanismos de ação que dependem dos componentes de cada fragrância, sendo, portanto, diferentes para cada uma delas, além de que diferentes mecanismos de ação para uma mesma substância também podem ocorrer. (KOMIYA *et al.*, 2006).

Hajhashemi *et al.* (2003) referem que a *Lavandula angustifolia* Miller pertence a família Lamiaceae e é conhecida como uma erva aromática com investigações científicas amplas sobre suas propriedades sobre o organismo humano. Evandri *et al.* (2005) afirmam que o óleo essencial de lavanda é predominantemente usado em aromaterapia como um agente relaxante, sedativo e carminativo, além de antioxidante.

De acordo com essas evidências e considerando que existem poucos estudos acerca das propriedades de agentes aromáticos, como o óleo essencial de *Lavandula angustifolia* Miller, que minimizem os sintomas relacionados a ansiedade em modelos animais pela via inalatória; além do conhecimento sobre como os sintomas da ansiedade patológica prejudicam as atividades produtivas normais, despertam o interesse desta pesquisa na perspectiva de encontrar substâncias similares aos benzodiazepínicos com potencial ansiolítico e refinada seletividade, porém sem ou com menores reações indesejáveis e com baixo custo de produção, sendo mais economicamente acessíveis à população.

Fundamentação
Fundamentação
teórica
teórica

II - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Considerações gerais sobre os distúrbios da ansiedade

A ansiedade é uma sensação ou sentimento decorrente da excessiva excitação do Sistema Nervoso Central (SNC) conseqüente à interpretação de uma situação de perigo. Neste estado de desequilíbrio emocional, o simples contato com o novo, com situações inesperadas e desconhecidas, são o suficiente para desencadeá-lo. É psicologicamente manifesta como uma confusão mental, ineficiência de ação, aumento da sensação de perigo e de incapacidade de se livrar deste o que configura um círculo vicioso, pois esta sensação só faz aumentar ainda mais o estado ansioso, que vem geralmente acompanhado de sintomas autonômicos como taquicardia, sudorese, tremores, tensão muscular aumento dos resíduos (urinário e fecal), aumento da motilidade intestinal, cefaléias, etc. (GRAEFF E BRANDÃO, 1997).

Almeida *et al.* (2004) relataram que a ansiedade pode ser entendida patologicamente como o medo, sendo manifestada por distúrbios do humor, pensamento, comportamento e da atividade fisiológica; é distinguida dele pelo fato de o medo ter um fator desencadeante real e palpável enquanto na ansiedade o fator de estímulo tem características mais subjetivas como a perda de status, de conforto, de poder econômico, de afetos, amizades, de privilégios, vantagens, de possibilidade de concretizar interesses, de vaidade.

Ballone (2005) define a era moderna como a “Idade da Ansiedade”, associando a este acontecimento psíquico a agitada dinâmica existencial atual: sociedade industrial, competitividade, consumismo desenfreado; referindo que a simples participação do indivíduo na sociedade contemporânea já preenche, por si só, um requisito suficiente para o surgimento da ansiedade. Portanto, viver ansiosamente é considerada uma condição do homem moderno ou um destino comum ao qual todos estamos, de alguma maneira, atrelados.

Com certeza, até por uma questão biológica, se pode dizer que a ansiedade sempre esteve presente na jornada humana desde a caverna até a nave espacial. A novidade é que só agora se dá atenção à quantidade, tipos e efeitos dessa ansiedade sobre o organismo e o psiquismo humano, de acordo com as concepções da prática clínica, da medicina psicossomática e da psiquiatria (LAVABRE, 2001).

Embora a ansiedade favoreça o desempenho e a adaptação, ela o faz somente até certo ponto, até que o organismo atinja um máximo de eficiência. A partir de um ponto excedente, ao invés de contribuir para a adaptação, concorrerá exatamente o contrário, ou seja, para a falência da capacidade adaptativa (BALLONE, 2005). Rang *et al.*, (2004) concordam que a distinção entre um estado ansioso “patológico” e um “normal” não tem contornos nítidos, mas representa o ponto no qual os sintomas interferem com as atividades produtivas normais.

Ballone (2005) afirma que a característica essencial do Transtorno de Ansiedade Generalizada (TGA), segundo o DSM-IV, é uma expectativa apreensiva ou preocupação excessiva, ocorrendo na maioria dos dias e com duração de, pelo menos, 6 meses. O indivíduo portador de TGA considera difícil controlar essa preocupação excessiva, a qual é acompanhada de pelo menos três dos seguintes sintomas adicionais: inquietação, fadigabilidade, dificuldade em concentrar-se, irritabilidade, tensão muscular e perturbação do sono. Embora nem sempre sejam capazes de identificar suas preocupações como "excessivas", relatam sofrimento subjetivo por causa delas, têm dificuldade em controlá-las ou experimentam prejuízo social ou ocupacional por causa disso.

Efrain (2006) refere que a TAG assim como todos os demais transtornos mentais tem uma etiologia multifatorial, isto é, uma somatória de fatores predisponentes e ambientais. A predisposição é formada por fatores biológicos (genéticos, intra-uterino, etc.) e experiências psicossociais, principalmente, na primeira infância. A inter-relação entre os fatores biológicos (com os quais a pessoa nasce) e experiências durante a infância e adolescência vão determinar a predisposição, o grau de vulnerabilidade. De acordo com o grau dessa vulnerabilidade, o indivíduo vai precisar de fatores ambientais maiores, menores ou nenhum para apresentar o TAG.

Os benzodiazepínicos formam a classe mais importante no tratamento farmacológico da ansiedade, alguns exemplos de fármacos inseridos neste grupo são: flurazepam, clonazepam e o mais empregado: diazepam (Figura 2); seu mecanismo de ação é atuar de modo seletivo sobre os receptores A do ácido gama-aminobutírico (GABA_A), que medeiam a transmissão sináptica inibitória rápida, através do SNC. Os benzodiazepínicos potencializam a resposta ao GABA (Figura 3), por facilitarem a abertura dos canais de cloreto ativados pelo GABA, eles se ligam de modo específico em um sítio regulador do receptor, a subunidade α , distinto do sítio ligante de GABA, e agem de modo alostérico, aumentando a afinidade do GABA para o receptor (Figura 4). Desta forma, esta classe produz os seguintes efeitos: redução da ansiedade e da agressão; sedação e indução ao sono; redução do tônus muscular e da coordenação; efeito anticonvulsivante, amnésia anterógrada, além de produzir tolerância e dependência (RANG *et al.*, 2004).

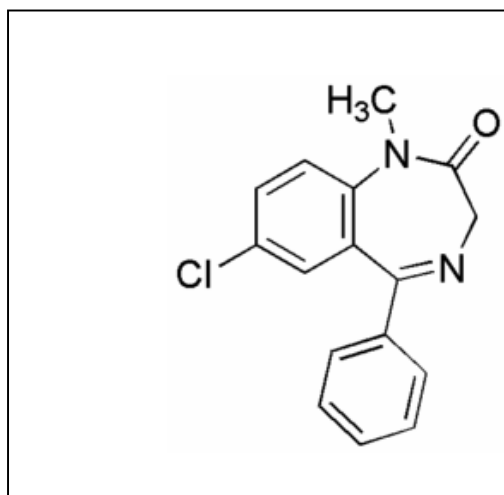


Figura 2 - Estrutura química do Diazepam

Fonte:

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/Diazepam>

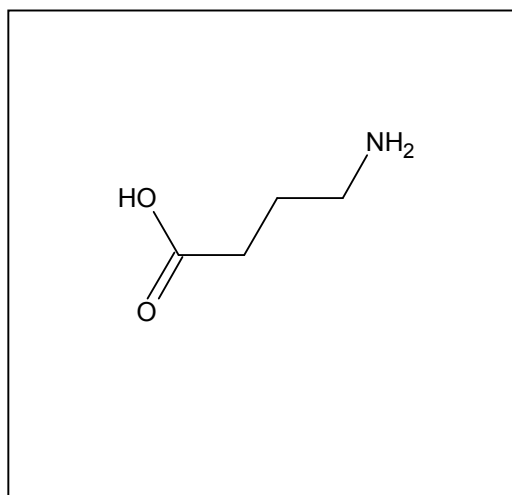


Figura 3 - Estrutura química do ácido γ -aminobutírico (GABA)

Fonte:

<http://www.saintroman.com.br/profissional/benzo.gif>

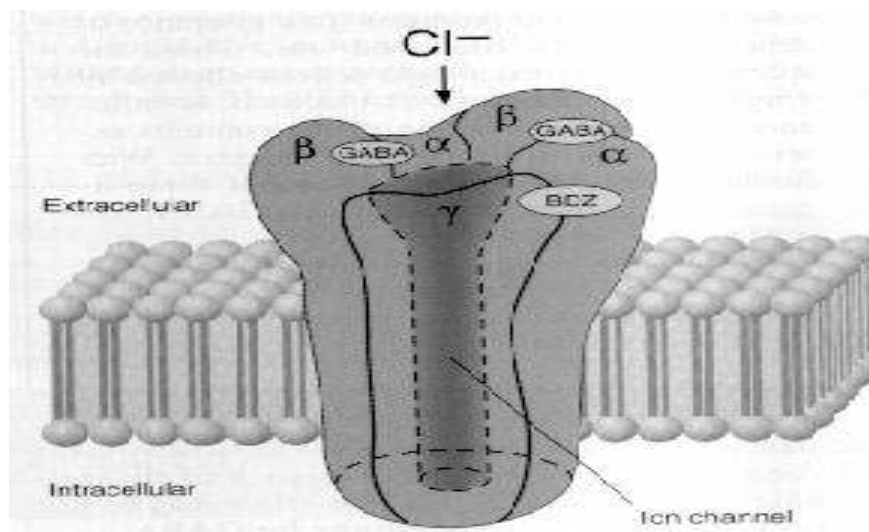


Figura 4 – Ligação do Diazepam ao receptor Gaba -A

Fonte: http://psuche.knu.ac.kr/notebook/images/GABA_receptor.jpg

2.2 Espécie vegetal *Lavandula angustifolia* Miller

Yamada *et al.*, (2005) destacam a existência de cinco principais espécies de Lavanda: *Lavandula angustifolia*, *Lavandula spica*, *Lavandula reydovan*, *Lavandula burnetii super* e *Lavandula stoechas*. A espécie vegetal de escolha deste estudo foi a *Lavandula angustifolia* Miller (Figura 5) da família Lamiacea, chamada também de *Lavandula vera*, e conhecida como lavanda, alfazema ou espicanardo; usada popularmente como um vegetal com forte poder aromático e medicinal. É uma planta usada tanto na medicina popular como na medicina tradicional em diferentes partes do mundo para o tratamento de distúrbios gastrointestinais, nervosas e reumáticas, conforme afirma Peana *et al.* (2003).



Figura 5 - *Lavandula angustifolia* Miller

Plantas do gênero *Lavandula* são arbustos aromáticos que crescem até 3 pés de altura, são nativas à região Mediterrânea; embora mais usada na perfumaria, a lavanda tem um papel definido como erva medicinal, as flores são coletadas e o óleo essencial é destilado através de extração por solventes (AKHONDZADEH *et al.*, 2003).

Ferrão (2007) registra que as sementes de lavanda podem ser plantadas durante todo o ano, desde que o solo seja arenoso, drenado e o clima temperado a subtropical semi-árido, não tolerando chuvas, pois até nebulosidades excessivas ou temperaturas muito baixas reduzem o teor de óleo essencial e conseqüentemente o aroma; requer solos férteis sem lençol freático muito superficial, com pH entre 5 e 6,5 (reação neutra). Zollinger *et al.*, (2006) observaram em sua pesquisa experimental que quando exposta à seca a planta têm pouca habilidade para regular a perda de água, contudo enfrenta bem os climas secos, sendo considerada uma planta que tolera bem à seca. Em condições favoráveis pode atingir eventualmente 60 cm de altura.

O início da colheita pode ocorrer aos 5 ou 6 meses após o plantio no campo, com altura mínima de 30 a 40 cm. A composição química de um óleo volátil, extraído do mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal, pode variar significativamente, de acordo com a época de coleta, condições climáticas e de solo e até o tipo de cultivo.

O corte deve ser feito no máximo a 10 ou 15 cm do nível do solo. Sua rega é escassa e a adubação não deve ser abundante. Anualmente efetua-se uma adubação na forma amoniacal no início da Primavera e deve-se podá-la a partir da floração. A planta é encontrada nas regiões do sul da Europa, norte da África e parte da Ásia Menor. Atualmente dispersa por toda a Europa, América do Norte e nas regiões de altitude da América Central e do Sul e também a Oceania (SIMÕES *et al.*, 2003).

Estudos acerca das atividades biológicas atribuídas ao óleo essencial de *Lavandula angustifolia* Miller, especificamente quanto ao seu principal componente ativo: o linalol, têm sido descritas: Adersen *et al.*, (2006) demonstraram que o óleo de lavanda conseguiu ser alvo importante no tratamento da doença de Alzheimer por suas propriedades anticolinesterase, neuroprotetora e antioxidante.

Na revisão que embasou a pesquisa realizada por Shaw *et al.*, (2007) há estudos que demonstram que o óleo essencial de lavanda aumenta a fase de relaxamento no eletro encefalograma de humanos associado a redução da ansiedade e aumento do sono; em estudos animais os autores encontraram propriedades sedativas, anestésicas, hipotensivas e de liberação de alguns neurotransmissores envolvidos com a ansiedade.

2.3 Atividades farmacológicas de óleos essenciais

Os aromas têm sido parte da vida do homem há vários séculos, desde a época dos egípcios, gregos e romanos e vários outros povos primitivos há relatos do uso das essências de plantas aromáticas na medicina, culinária e em cerimônias religiosas (CARDOSO *et al.*, 2006; CARLINI *et al.*, 1986).

Conforme Simões *et al.* (2003) a International Standard Organization (ISO) define óleos voláteis, também chamados de óleos essenciais, essências ou óleos etéreos, como os produtos obtidos de partes de plantas através de destilação por arraste com vapor d' água, bem como os produtos obtidos por expressão dos pericarpos de frutos cítricos; considera-se que estes óleos são misturas complexas de substâncias voláteis,

lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas, sendo solúveis em solventes orgânicos apolares, apresentam sabor acre, são incolores ou amarelados, pouco estáveis e geralmente possuem uma alta toxicidade.

De acordo com Peana *et al.* (2003), os óleos essenciais têm larga aplicação na área de medicamentos e cosméticos, além de contribuírem com o sabor de alimentos. Almeida (2004) refere que tais óleos essenciais são usados na medicina na forma de terapia odorífera para o tratamento de diversas doenças, incluindo epilepsia e ansiedade. Siani *et al.* (2006) expõem que esta variedade de atividades está relacionada a diversidade químico-estrutural dos constituintes dos óleos essenciais.

Moreira *et al.* (2001) relataram as propriedades biológicas atribuídas a esta classe de compostos: ações carminativa, antiespasmódica, antioxidante, psicotrópica, antiparasitária, antimicrobiana, anti-séptica, antinociceptiva, aumento da eficácia do sistema imune e endócrino, lipólise, entre outras.

Komiya *et al.* (2006) especificaram alguns efeitos de óleos essenciais no SNC como atividades antidepressivas, ansiolíticas, hipnóticas, sedativas, de alerta, de controle de neurônio autonômicos e mudanças emocionais. Cardoso *et al.*, (2006) relataram que a atividade ansiolítica dos óleos essenciais da planta *Cymbopogon nardus* Randle; Lavabre (2001) acrescentam os óleos essenciais de *Abies balsamea*, *Styrax benzoin*, *Citrus bergamia*, *Cedrus atlantica*, *Salvia sclarea*, *Picea mariana*, *Citrus limonum* e *Pinus sylvestris* com propriedades farmacológicas diversas sobre o SNC como sedativas, ansiolíticas e hipnóticas.

Chen *et al.* (2004; 2005) realizaram estudos sobre um possível efeito ansiolítico do óleo essencial de *Angelica sinensis*, utilizando para tanto os seguintes modelos experimentais conhecidos para testar um comportamento referido como ansiedade: teste do labirinto em cruz elevado, teste da caixa claro-escuro, teste de estresse induzido por hipertermia, teste da interação social e teste do campo aberto; os estudos indicaram que a substância possui propriedade ansiolítica que justificam seu bom prognóstico em estudos clínicos posteriores. Yamada *et al.*, (2005) verificaram que a inalação do vapor do óleo essencial de lavanda e do linalol puro conseguiram baixar os níveis do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e desta forma do hormônio luteinizante

(LH) e restabelecer os níveis de catecolaminas em ratas menopausadas, reduzindo desta forma a tensão da síndrome do climatério.

O estudo de Carlini *et al.*, (1986) demonstraram atividades analgésicas, hipnóticas e ansiolíticas do linalol. Almeida *et al.*, (2004) realizaram estudo comparativo entre a inalação do óleo essencial de rosa em três concentrações (1%; 2,5% e 5%) e injeções intraperitoniais de Diazepam (1mg/kg; 2 mg/kg) em ratas, submetendo-as ao labirinto em cruz elevado, e observaram que não houve diferença entre os dois tratamentos, referindo um caráter ansiolítico do óleo.

O óleo essencial de lavanda (OEL), objeto deste estudo, é obtido das flores de *Lavandula angustifolia* Miller por destilação a vapor e é principalmente composto por: acetato de linalil (3,7 dimetil- 1,6 octadien-3 il acetato), linalol (3,7 dimetilocta- 1,6 dien 3 ol), lavandulol, 1,8 cineol, acetato de lavandulil e cânfora, sendo que os dois primeiros constituintes são majoritários, tendo como proporções respectivas 51% e 35% (HADDAD *et al.*, 2005; BOZHANOV *et al.*, 2007).

O linalol (Figura 6) é tido como o componente ativo do óleo em vários estudos como o realizado por Evans *et al.* (2004) no qual a citotoxicidade de células da pele humanas foi equivalente quando utilizado o linalol isolado e o óleo como um todo, embora o acetato de linalil esteja em maior quantidade.

As atividades biológicas atribuídas a *Lavandula angustifolia* Miller, atribuídas ao seu principal componente ativo: o linalol têm sido descritas. Akhondzadeh *et al.*, (2003) encontraram dados que comprovaram o uso da tintura de flores de *Lavandula angustifolia* como antidepressivo. Hajhashemi *et al* (2003) encontraram propriedades antiinflamatórias e analgésicas do extrato das folhas da lavanda e do seu óleo essencial. Evandri *et al.*, (2005) estudaram o caráter antimutagênico do óleo de lavanda, sendo este um candidato promissor para tratamentos contra o câncer. Até mesmo sua atividade como potente agrotóxico foi estudado por Koschier e Sedy (2003), que descobriram que óleo foi capaz de exercer um potente efeito contra peste de plantas em fase larval.

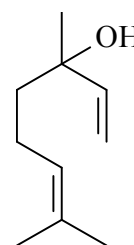


Figura 6 – Estrutura química de linalol;

Fonte: <http://www.aesbuc.ot/t>

2.4 O uso da via inalatória em modelos animais

Lavabre (2001) descreve que o sentido do olfato age principalmente no nível subconsciente uma vez que os nervos olfatórios são ligados ao sistema límbico, a parte mais primitiva do cérebro humano, ao qual está relacionada a regulação da atividade sensório-motora e dos impulsos primitivos de sexo, fome e sede. Almeida (2006) confirma que já está bem estabelecido que a via olfativa está conectada diretamente com os centros superiores do encéfalo envolvidos na mediação do comportamento. Esta conexão pode ser observada anatomicamente uma vez que o estímulo do bulbo olfativo envia sinais elétricos para a região do sistema límbico responsável pelos mecanismos viscerais e comportamentais, afetando diretamente os sistemas digestivo e sexual e o comportamento emocional.

Lavabre (2001) salienta que os processos da recepção olfativa permanecem num nível inconsciente, pois na maioria das vezes os cheiros que nos rodeiam não são percebidos, mesmo quando se entra em contato com um cheiro “novo” logo ocorre adaptação dos receptores depois de algum tempo, isso não quer dizer que os estímulos sensoriais não estejam sendo enviados, mas que os contatos dos centros conscientes do corpo são desligados.

Strotmann (2001) e Shew *et al.*, (2005) referem que uma variedade de moléculas são reconhecidas e discriminadas pelo senso do olfato e esta capacidade discriminatória deriva da informação precisa processada em diferentes níveis do sistema olfatório, que começa no epitélio quimiosensível da mucosa nasal, onde moléculas odoríferas estimulam conjuntos de neurônios olfatórios, seguidos pelo bulbo olfatório principal, que recebe a informação sensorial e repassa para centros superiores cerebrais onde a informação é processada e chega ao nível consciente e inconsciente.

Ceccarelli *et al.*, (2004) confirma que a via olfatória-hipocampal é conservada entre as espécies de mamíferos e que a informação odorífera é inicialmente processada no bulbo olfatório e enviada diretamente às regiões corticais que fornecem fonte primária à informação sensorial olfatória para o sistema límbico, seu estudo evidenciou que a inalação do óleo essencial de *Citrus lemon* afetou parâmetros

hormonais, comportamentais e neurais em animais, promovendo um efeito ansiogênico no teste de labirinto em cruz elevado e na placa perfurada, a estimulação olfatória com este óleo também alterou as vias da dor e as áreas cerebrais relacionadas com a modulação da dor, além de alterar a liberação de hormônios tais como corticosterona.

Komiya *et al.* (2006) também corroboram a afirmação que a inalação do óleo de limão causa alterações nos sistemas endócrino e Sistema Nervoso Autônomo (SNA) e nas emoções, porém sua metodologia implicou na descoberta do caráter ansiolítico do óleo nos testes do labirinto em cruz elevado e campo aberto; seu estudo comprova que a atividade ansiolítica deste óleo foi devido a supressão da atividade adrenérgica pelo aumento da transmissão em neurônios serotoninérgicos sob condições da inalação; portanto, algumas modificações nas metodologias empregadas podem implicar em descobertas de novas propriedades dos componentes ativos de uma substância, as pesquisas devem portanto ser exaustivas.

Brann; Fadool (2006) relataram que o sistema olfatório acessório têm sido bem estabelecido como um detector primário da informação odorífera referente a organização social entre as espécies e que em animais vertebrados terrestres, o órgão vomeronasal é componente do sistema olfatório porém separado do sistema olfatório principal, sendo responsável pela detecção de substâncias odoríferas voláteis e não voláteis. Tem-se descrito também que o evento de transdução de sinais intracelulares do órgão vomeronasal é governado pela ligação de sinais químicos odoríferos com receptores metabotrópicos, como foi estudado em roedores.

Halpern; Marcos (2003) verificaram que existem diferenças elucidativas anatômicas, fisiológicas e efeitos comportamentais entre os neurônios do sistema olfatório principal e os neurônios do órgão vomeronasal, que ainda não está completamente compreendido visto ser um órgão recentemente descoberto e objeto de inúmeras pesquisas. O órgão vomeronasal projeta axônios para diferentes porções do bulbo olfatório acessório, o que forma a base de compreensão das vias segregadas que possibilitam diferentes funções heterogênicas através a sua ligação a diferentes tipos de receptores metabotrópicos como aqueles acoplados a proteínas Gs; Gi; Gq, entre outros e, portanto diferenças nos efeitos fisiológicos e comportamentais.

Haze *et al.*(2002); HODGSON *et al.*, 2007, encontraram evidências do uso dos óleos essenciais de *Safrol sassafrás* (pimenta) e *Rosa centifolia* (rosa), entre outros, por via olfatória sobre a atividade do SNA em humanos, além de verificarem os vários efeitos psicológicos que a inalação de fragrâncias exercem através da estimulação ou inibição em funções cerebrais. No seu estudo, confirmam a evidência que os óleos essenciais se ligam a receptores potenciais ionotrópicos do ácido gama amino butírico (GABA-A), principal neurotransmissor inibitório do SNC (GABA), e aumentam a afinidade deste neurotransmissor inibitório com estes receptores (GABA-A).

Shen *et al.* (2005) demonstraram experimentalmente que a inalação do óleo de lavanda, especialmente seu componente linalool, reduz a atividade no nervo adrenal simpático, reduz a lipólise e o consumo de energia e aumenta o apetite e o peso corporal. Com base nestes dados, desenvolveu-se este trabalho a fim de investigar se o óleo essencial de lavanda possui atividade ansiolítica pela via inalatória em modelos animais de ansiedade e um estudo preliminar sobre seu possível mecanismo de ação molecular.

Objetivos

III – OBJETIVOS

3.1 Geral

- Investigar o possível efeito ansiolítico do óleo essencial de *Lavandula angustifolia* Miller pela via inalatória em modelos animais.

3.2 Específicos

- Contribuir para o avanço do conhecimento sobre os efeitos farmacológicos de óleos essenciais de plantas aromáticas brasileiras;
- Avaliar uma metodologia que envolva a via inalatória para testar a ansiedade de substâncias aromáticas em roedores;
- Sugerir eventual mecanismo de ação através do qual o óleo essencial de lavanda produz possível efeito ansiolítico;
- Criar as pré-condições para correlacionar os dados obtidos em animais com os estudos clínicos complementares realizáveis com indivíduos saudáveis;

Material

IV - MATERIAL

4.1 Animais

No desenvolvimento das metodologias que avaliam o efeito ansiolítico de drogas como no caso do presente estudo, utilizaram-se camundongos albinos da linhagem *Swiss* e ratos *Wistar*, de ambos os sexos, com peso entre 25 - 35g e 250 - 350g, respectivamente, com aproximadamente 3 meses de idade. (Figuras 7A e 7B). Os animais foram provenientes do Biotério Prof. Dr. Thomas George do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica Prof. Delby Fernandes de Medeiros da Universidade Federal da Paraíba.

No Biotério, os animais foram alojados em gaiolas de polietileno, mantidos sob condições monitoradas de temperatura de aproximadamente 21 ± 1 °C, com livre acesso a uma dieta controlada a base de ração tipo *pellets* (Purina) e água disponível em garrafas de polietileno com bicos de inox, encaixadas na parte superior da grade metálica da gaiola (Figura 7C). Os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12 horas, sendo a fase clara de 06h 00 às 18h 00 e pesados antes da realização dos testes.



Figura 7A - Camundongo



Figura 7B - Rato Wistar



Figura 7C - Camundongos machos em gaiola de Polietileno

4.1.1 Condições Experimentais

A parte experimental deste estudo foi totalmente desenvolvida no laboratório de Psicofarmacologia do LTF. Os animais foram previamente alojados em outras gaiolas do mesmo material referido, com pelo menos 60 min. de antecedência à execução dos testes, visando a minimizar as possíveis alterações comportamentais do animal, bem como permitir uma adaptação ao novo ambiente. Os animais foram mantidos a temperatura de 21 ± 1 °C e privados de água e ração antes dos testes, os quais se realizaram no período compreendido entre 8h 00 e 12h 00, sendo os animais utilizados uma única vez e, em seguida, eutanasiados por deslocamento cervical por técnico competente.

Em todos os procedimentos experimentais foram utilizados grupos constituídos de 8 animais, e entre a utilização de cada animal em todo os aparatos houve limpeza com etanol a 10% a fim de remover qualquer vestígio de cheiro deixado pelos animais e assim evitar possíveis interferências nos resultados, como propõem Bradley *et al.*, (2007). Deu-se preferência a procedimentos que não provocassem dor ou qualquer outro tipo de sofrimento, segundo os preceitos éticos. Além disso, estes procedimentos foram analisados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal do LTF/UFPB (CEPA) e previamente aprovados sob protocolo nº 0505/05.

4.2 Substâncias utilizadas

As substâncias empregadas nesta pesquisa foram:

- Óleo essencial de *Lavandula angustifolia* Miller (Casa das essências – Brasil);
- Cloreto de sódio (Merck – E. U. A.);
- Diazepam (Merck – Brasil);
- Flumazenil (Roche – Brasil)
- Etanol (LTF / UFPB – Brasil);

A preparação das doses de Diazepam (DZP) e Flumazenil (FL) foi feita minutos antes de sua utilização, dissolvidas em solução salina 0,9%, utilizando-se concentrações decimais de forma a possibilitar a injeção de 0,1 mL/10 g de peso do camundongo ou 0,1mL/100g de peso do rato. A injeção de diazepam para cada teste foi realizada 15 min. antes da submissão a cada procedimento experimental.

4.3 Preparação do óleo essencial de lavanda (OEL)

As concentrações da substância foram estabelecidas através de experimentos “piloto” e com base em dados da literatura. O OEL foi preparado em forma de emulsão, nas concentrações de 0,5%, 1% e 2,5%, ou seja, 0,1 mL do óleo para 20 mL; 10 mL e 4,5 mL respectivamente de água bidestilada, seguido de forte agitação, o tween 80 foi utilizado como agente emulsificante, enquanto que os animais do grupo controle foram expostos por via aérea a uma solução de salina 0,9 %.

Por se tratar de via aérea, os animais controles foram expostos aos procedimentos experimentais antes da preparação do OEL e, portanto da submissão

dos animais experimentais a inalação do óleo em estudo. O tempo de inalação foi de 7 min. tanto para os animais controle (solução salina 0,9%) quanto para os animais experimentais antes de sua introdução nos variados aparatos experimentais.

4.4 Aparelhagem

4.4.1 Labirinto em cruz elevado

O aparelho utilizado no teste do Labirinto em cruz elevado é fabricado de madeira, de cor marrom, e formado por dois braços com paredes laterais e sem cobertura, que medem aproximadamente 50 cm de comprimento por 10 cm de largura e 30 cm de altura colocados perpendicularmente a outros dois braços abertos com o mesmo comprimento e mesma largura e sem paredes laterais, ambos os braços se cruzam em uma plataforma central quadrada de dimensões 18,8 x 19 cm, estando o conjunto elevado em relação ao assoalho por 60 cm (Figuras 8A e 8B).



Figura 8 - Aparelho do labirinto em cruz elevado

4.4.2 Placa perfurada

O aparelho da placa perfurada foi fabricada pela Ugo Basile (Itália), modelo 6650, trata-se de uma placa de formato quadrado medindo 40 x 40 cm, contendo 16 orifícios de 3 cm de diâmetro, acoplados a fotocélulas sensíveis à penetração da cabeça do animal, as quais são conectadas a uma central que contém um registrador do número de mergulhos e também um dispositivo para ligar e zerar o aparato. Essa placa é posicionada a 18 cm do balcão através de dois suportes localizados na parte inferior da mesma (Figura 9).



Figura 9 - Aparelho da placa perfurada, em detalhes à esquerda a plataforma com 16 orifícios e à

4.4.3 Campo aberto

Consiste em uma arena circular metálica, pintada de branco, medindo 55 cm de diâmetro por 40 cm de altura. O piso da arena é dividido em três círculos concêntricos (15, 34 e 55 cm de diâmetro, respectivamente), que, por sua vez, são subdivididos em

um total de 16 segmentos, um deles é o círculo central, tendo ainda uma lâmpada de 40 watts colocada no centro do aparelho, suspensa a uma altura de 46 cm do seu piso (Figura 10).



Figura 10 - Plano superior do aparelho do campo aberto, detalhando a arena

4.4.4 Caixa de experimentação para o teste de esconder esferas

Este aparato experimental consistiu de uma caixa de polietileno com medidas de 35 x 20 x 15 cm, (Figura 11) contendo no seu piso cerca de 2 cm de serragem de madeira estéril (processo obtido em autoclave) e 15 esferas de vidro aleatoriamente distribuídas acima da serragem.



Figura 11 - Plano superior da organização das esferas na caixa de experimentação

4.4.5 Arena de observação para o teste da interação social

O aparato utilizado neste experimento é o mesmo descrito para o teste do campo aberto, exceto a iluminação que neste teste foi abolida.

4.4.6 Aparelho utilizado para testar a coordenação motora

O modelo disponível no laboratório de Psicofarmacologia foi fabricado pela UGO BASILE (Itália), modelo Accelerating Rota-Rod 7750 (Jones e Roberts), possui as seguintes dimensões: 63 x 50 x 49 cm. É constituído por uma barra giratória, dividida por cinco discos, delimitando-se um total de quatro segmentos, com velocidade regulável em rotações por minutos (r.p.m.). Este aparelho ainda dispõe de um mecanismo automático capaz de contabilizar o tempo de permanência do animal na barra giratória (Figura 12).



Figura 12 – Ângulo lateral das barras
giratórias

4.4.7 Caixas de Inalação

Foram utilizadas duas caixas de inalação específicas (36 x 30 x 29 cm) (Figura 13), uma para o grupo controle e outra para o grupo experimental.



Figura 13 – Caixa de inalação

Métodos

Métodos

V – MÉTODOS

5.1 Fase de Padronização

5.1.1 Triagem Farmacológica Comportamental

Através desta metodologia é possível confirmar a atividade do óleo essencial sobre o SNC, através do emprego de alguns critérios comparativos para uma série de comportamentos apresentados pelos animais. Foi realizada a fim de racionalizar o uso de animais, o que está em concordância com os princípios éticos e possibilita a redução da quantidade de óleo utilizada, sendo, portanto um passo primordial para o estabelecimento do perfil de uma droga e direcionamento do estudo farmacológico para utilização de testes que levem a caracterização de um efeito específico.

Na triagem, foram utilizados dois grupos de 8 animais tratados pela via inalatória (v.i) para cada concentração do OEL (0,5%; 1% e 2,5%), como também para a droga padrão (Diazepam 1mg/kg) e seu respectivo controle pela via intraperitoneal (i.p.). A triagem do OEL foi realizada em três dias consecutivos, em cada dia se testava uma única concentração em comparação com o controle respectivo, e no quarto dia, se testou o perfil da droga padrão em comparação com seu controle, tal critério foi estabelecido para todos os demais testes específicos realizados durante a fase de execução, exceto no teste de investigação de eventual mecanismo de ação, no qual o diazepam figurou como um dos grupos experimentais.

Em cada dia de triagem, portanto, os animais do grupo controle foram colocados em um caixa de inalação durante 7 min. sendo tratados com uma solução salina a 0,9%, de igual modo, todos os animais experimentais foram colocados em outra caixa de inalação durante 7 min. e tratados com a preparação do OEL. Após a exposição, os

dois grupos de animais foram então introduzidos em caixas de observação distintas e foram comparativamente observados durante um período de 4 horas, em intervalos de 30 min. e até 72 horas depois da realização de cada teste, os efeitos ocorridos foram então registrados. O grupo diazepam, com seu respectivo controle recebeu tratamento prévio de 15 min. e as observações foram realizadas conforme os grupos experimentais.

5.2 Fase de Execução

Nesta fase foram avaliados os possíveis efeitos ansiolíticos do OEL utilizando várias metodologias bem estabelecidas na literatura na pesquisa de drogas ansiolíticas.

5.2.1 – Teste do labirinto em cruz elevado

Bradley *et al.* (2007) descrevem que o teste do labirinto em cruz elevado é um teste comumente usado como um modelo não condicionado de testar o comportamento referido como ansiedade de ratos e camundongos, o aparelho mostra sensibilidade bi-direcionada para agentes ansiolíticos e ansiogênicos através do livre acesso que o animal tem a ambiente que provoca e outro que alivia a ansiedade, ou seja, um braço escuro, protegido e fechado ou um braço não protegido, iluminado e aberto. O aparelho é designado, portanto, para diferenciar respostas ansiolíticas e ansiogênicas por meio de efeitos puramente locomotores, examinando a preferência do animal pelo ambiente aberto ou fechado, as medidas comportamentais incluem a frequência de entradas e a duração do tempo gasto nos braços e na plataforma central.

Esta metodologia se baseia no comportamento natural-relatado-como-ansiedade em roedores que preferem permanecer em ambiente escuro, perto de paredes e evitar alturas, e quando, portanto, condicionados a um ambiente aberto, claro e não protegido mostram sinais de ansiedade - congelamento, defecação e micção. Se o agente em

estudo possui propriedades ansiolíticas, o animal explora ambos os braços, abertos e fechados, mas tipicamente entrará com maior frequência e permanecerá mais tempo nos braços abertos. Uma maior intensidade de “ansiedade” equivale à maior preferência nos braços fechados.

Ratos *Wistar* machos (n = 8) foram separados em dois grupos e inalaram o óleo nas concentrações de 0,5%; 1% e 2,5% ou a solução salina a 0,9%, respectivamente, durante 7 min., logo após cada animal foi submetido individualmente durante 5 min. no labirinto e os parâmetros avaliados neste teste foram: tempo de permanência e número de entradas nos braços abertos; tempo de permanência e número de entradas nos braços fechados, estando de acordo com o estudo de Chen *et al.*, (2006 b) no qual a entrada em um braço foi definida quando todas as quatro patas do animal haviam cruzado a linha divisória entre um braço e a plataforma central. Após a realização do teste com cada concentração, a droga padrão foi testada no aparelho para comprovar sua eficácia no teste sob as condições pré-estabelecidas.

5.2.2- Teste da placa perfurada

Chindo *et al.* (2003) referenciam que o teste da placa perfurada é uma mensuração do comportamento exploratório dos roedores e que um agente que reduz tal parâmetro revela-se como um sedativo, contudo agentes ansiolíticos aumentam o número de mergulhos de cabeça nos orifícios neste teste segundo. Segundo Ceccarelli *et al.* (2004) o aparato da placa perfurada permite o estudo de muitos comportamentos espontâneos do animal, incluindo exploração horizontal (locomoção) e vertical e o número de mergulhos nos orifícios; em seu experimento estes autores consideraram o número de mergulhos da cabeça do animal sendo inversamente proporcional ao estado de “ansiedade” dos mesmos, ou seja, um aumento de mergulhos configura um agente ansiolítico, sendo da mesma forma interpretados os demais parâmetros. Na presente pesquisa, se avaliou também os parâmetros supracitados, considerando que a atividade locomotora foi registrada contando-se os cruzamentos entre os quadrantes,

contudo há dados da literatura que consideram também o tempo de imobilidade do animal na placa. (BOISSER *et al.* 1976).

Foram utilizados grupos de 8 camundongos machos, submetidos individualmente ao aparelho por 5 min. O teste também foi realizado de acordo com o estudo proposto de Chen *et al.*, (2006 b) em que o mergulho somente foi registrado se os olhos desapareciam no orifício para evitar resultados não fidedignos devido a introdução da cauda do roedor. Após a realização do teste com cada concentração, a droga padrão foi testada no aparelho para comprovar sua eficácia no teste sob as condições pré-estabelecidas.

5.2.3 - Teste do campo aberto

Neste teste, observaram-se comportamentos como tempo de autolimpeza, ambulação centrípeta, (ou seja, o quanto os animais visitavam o centro da arena); número de elevações (Figura 11); quantidade de bolos fecais e tempo de imobilidade segundo os parâmetros avaliados no estudo de Kong e *et al.*, (2006). Shaw *et al.* (2007) afirmam que a redução na tigmotaxia, ou seja, tentativa de escapar do novo ambiente é um indicativo de que a substância possui propriedades ansiolíticas; da mesma forma, a defecação é também um bom indicador de emocionalidade em animais, uma vez que um estado de alta emocionalidade é relatada como aumento no número de bolos fecais e que drogas ansiolíticas reduzem a defecação.

O comportamento de autolimpeza geralmente aumenta com o medo ou a ansiedade em roedores e é considerado como um índice de adaptação comportamental de uma situação estressante, as substâncias ansiolíticas reduzem este comportamento neste teste; a elevação do animal (Figura 14) é um aspecto do comportamento exploratório, no qual o animal levanta sobre as patas posteriores, e geralmente é reduzido quando o animal é colocado num ambiente novo ou situação estressante e pode, portanto aumentar quando substâncias ansiolíticas são administradas; o congelamento ou imobilidade é um comportamento de congelamento que também se

mostra adaptável no animal a uma situação estressante, as drogas ansiolíticas reduzem tal comportamento.

No presente estudo os parâmetros foram avaliados segundo esta mesma perspectiva, contudo a tigmotaxia foi considerada quando houve aumento na ambulação centrípeta dos animais, conforme descreve Ho *et al.* (2002) que define esta movimentação como a locomoção do animal em direção ao centro da arena, cujo aumento é entendido como a redução da tigmotaxia. Camundongos machos foram separados em dois grupos (8 experimentais e 8 controles por dia) e foram tratados com o OEL nas concentrações de 0,5%; 1% e 2,5% (em dias subseqüentes como relatado) ou a solução salina a 0,9%, respectivamente, durante 7 min., logo após cada animal foi submetido individualmente durante 5 min. a arena do aparato e os resultados foram registrados. Após a realização do teste com cada concentração, a droga padrão foi testada no aparelho para comprovar sua eficácia no teste sob as condições pré-estabelecidas.



Figura 14 – Camundongo em elevação

5.2.4- Teste de esconder esferas

Boer e Koolhaas (2003) verificaram que encobrir defensivamente esferas refere-se ao comportamento do roedor em retirar do lugar o material que recobre a superfície da caixa experimental utilizando movimentos alternativos e repetitivos de suas patas em direção às fontes de estímulo aversivo. Este é um teste que pode ser empregado em

ratos e camundongos e é amplamente utilizado como expressão comportamental do estado de ansiedade visto que várias pesquisas psicofarmacológicas já empregaram e consolidaram esta metodologia para avaliar agentes ansiolíticos com potencial terapêutico.

TREIT *et al* em 1981 e BROEKKAMP *et al.* em 1986 estabeleceram que o aumento de esferas recobertas é apontado como indicativo de ansiedade, pois as esferas representam um agente agressor para o animal, desta forma é entendido que uma substância ansiolítica reduz tal comportamento em roedores. No experimento foram utilizados grupos de 8 camundongos machos (controle e experimental totalizando 16 animais por dia) que após os respectivos tratamentos com o OEL nas devidas concentrações ou a solução salina a 0,9%, foram colocados individualmente na caixa de observação durante 10 min. após os quais foi registrado o número de esferas totalmente encobertas por serragem. Após a realização do teste com cada concentração, a droga padrão foi testada no aparelho para comprovar sua eficácia no teste sob as condições pré-estabelecidas.

5.2.5- Teste da interação social

Postulado inicialmente por File e Hyde em 1978 conforme afirmam Lazarini *et al* (2000) o teste da interação social é um modelo extensivamente usado para estudar ansiedade; Neste teste, drogas ansiolíticas aumentam enquanto drogas ansiogênicas reduzem o tempo gasto em interação social ativa entendida como comportamento mútuo de cheirar, limpar ou apresentar algum indício de comportamento sexual em relação ao outro animal. Dois ratos que receberam a inalação do OEL simultaneamente em caixas separadas durante 7 min. foram colocados na mesma arena do teste do campo aberto, desprezando-se apenas o estímulo luminoso e computou-se o tempo que eles despenderam em atividades consideradas de interação social ativa além da ambulação centrípeta, conforme estabeleceram Chen *et al.* (2006 a) segundo os quais este procedimento se fundamenta na observação de que animais expostos a ambientes

novos ou bastante iluminados tendem a reduzir ou até suprimir sua interação com outros animais, uma redução da ansiedade é, portanto verificada com o aumento dessa interação social e aumento concomitante da atividade motora. Conforme referenciam, este procedimento foi o primeiro teste de ansiedade que usou uma forma natural de comportamento como dados mensuráveis.

Nesse modelo foram, portanto empregados 2 grupos de 5 duplas de ratos fêmeas (controle e experimental, totalizando 20 animais) que receberam as concentrações do óleo estabelecidas ou a solução salina a 0,9% respectivamente e os parâmetros foram observados por 10 min. Após a realização do teste com cada concentração, a droga padrão foi testada no aparelho para comprovar sua eficácia no teste sob as condições pré-estabelecidas.

5.2.6 – Teste da coordenação motora

Pultrini *et al.* (2006) descreveram que o procedimento da barra giratória é adequado para detectar prejuízo do sistema motor devido a agentes farmacológicos tais como relaxantes musculares ou depressores do SNC. Para realização do teste, é necessário realizar uma pré-seleção dos animais aptos a se submeterem ao procedimento experimental; são, portanto selecionados aqueles que possuem habilidade em permanecer na barra sob as mesmas condições usadas no teste.

Em modelos animais de ansiedade a detecção de atividade pode ser devida à própria ação ansiolítica ou a outras alterações menos específicas sobre o sistema motor que venham a impossibilitar a execução dos comportamentos que forneçam os parâmetros para avaliação da ansiedade, sendo o teste da barra giratória capaz de detectar tais prejuízos neurológicos tais como ataxia, sedação e hiperexcitabilidade uma vez que os animais normais são capazes de permanecer na barra por um período maior (GARGANO, 2007). Neste experimento os 16 animais (8 controles e 8 experimentais) eram pré-selecionados 24 horas antes da realização do teste de cada determinada concentração do OEL e foram considerados aptos aqueles que permaneceram na barra durante 3 minutos em no máximo três tentativas sobre a barra

girando a 7 r.p.m.. Após a seleção, no dia subsequente se realizou o teste de acordo com a dose estabelecida para aquele dia, então, os dois grupos eram então introduzidos no aparato e por até 3 min. se contabilizava o tempo total que cada animal era capaz de permanecer na barra sob o efeito das substâncias (inalação do óleo ou salina por 7 min.), esta mensuração foi realizada nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 min. após os tratamentos, sendo que após 3 tentativas sobre a barra, o animal era desclassificado embora não tivesse alcançado os 3 min. de observação; os dados comparativos entre os dois grupos foram então registrados. Após a realização do teste com cada concentração, a droga padrão foi testada no aparelho para comprovar sua eficácia no teste sob as condições pré-estabelecidas.

5.2.7 Estudo do possível envolvimento do sistema gabaérgico no efeito do óleo de lavanda pela via inalatória

5.2.7.1 Bloqueio do efeito ansiolítico pelo tratamento prévio com Flumazenil no teste de esconder esferas

Neste experimento foi avaliado se o Flumazenil (Ro15 - 1788), antagonista do sistema gabaérgico, é capaz de bloquear os efeitos do OEL no teste de esconder esferas, analisando seu envolvimento com o mecanismo de ação desta via no controle da ansiedade. Camundongos machos foram divididos em seis grupos, três grupos (controle, OEL e diazepam) formados por oito animais cada não foram administrados com o flumazenil a fim de comprovar seus efeitos no teste em análise, sendo que o controle e o grupo do óleo foram tratados pela via inalatória repetidos os 7 min. antes de serem submetidos ao teste e o grupo diazepam (1mg/kg) recebeu tratamento pela via intraperitonal e somente após 15 min. foi submetido ao teste.

Os outros três grupos formados por oito animais cada e divididos conforme e sob as mesmas condições dos grupos supracitados, receberam um tratamento prévio com o antagonista (10mg/kg) e após 23 min. os animais do grupo do OEL e do grupo salina receberam seus tratamentos por 7 min. pela via inalatória antes de serem imediatamente testados; e após 15 min. O grupo diazepam recebeu o tratamento pela via intraperitoneal e somente outros 15 min. foi inserido na caixa onde as esferas se encontravam. Este procedimento foi realizado com o OEL na concentração intermediária de 1%.

5.3 Análise estatística

Os dados obtidos de todos os testes foram submetidos a tratamento estatístico usando o teste “t” de Student não-pareado do software GraphPad Prism versão 4.0; sendo expressos em média \pm erro padrão da média e os resultados considerados como significativos apresentaram um valor de $p < 0,05$.

Resultados

VI. RESULTADOS

6.1 Efeito do OEL e do Diazepam na triagem farmacológica comportamental

O quadro 1 mostra as alterações comportamentais apresentadas pelos camundongos tratados com o OEL em relação ao respectivo grupo controle. Em todas as concentrações utilizadas foram observados aumento considerável da ambulação, redução da quantidade de bolos fecais e do comportamento de limpeza em até 180 min. após o tratamento, sendo que após este período os mesmos comportamentos foram observados, porém com menor intensidade. Após 72 horas não houve registro de mortes.

Após 15 minutos do tratamento com a droga padrão foram observados os seguintes efeitos: sedação, hipnose, analgesia, resposta ao toque diminuída, aumento da ambulação, redução da limpeza e da defecação e micção e da força para agarrar. Tais efeitos foram diminuindo ao longo do tempo, de forma que após 2 horas não foram encontradas mais quaisquer alterações comportamentais (Quadro 2).

Quadro 1 – Alterações comportamentais em camundongos induzidas pelo tratamento com a inalação do OEL

Concentração	Tempo (minutos)	Principais efeitos comportamentais
OEL-0,5 %	30	(++) ambulação; (--) defecação e limpeza
	60	(++) ambulação; (--) defecação e limpeza
	120	(++) ambulação; (--) defecação e limpeza
	180	(++) ambulação; (--) defecação e limpeza
	240	(+) ambulação; (-) defecação e limpeza
OEL- 1%	30	(++) ambulação; (--) defecação e limpeza
	60	(++) ambulação; (--) defecação e limpeza
	120	(++) ambulação; (--) defecação e limpeza
	180	(++) ambulação; (--) defecação e limpeza
	240	(+) ambulação; (-) defecação e limpeza
OEL-2,5%	30	(++) ambulação; (--) defecação e limpeza
	60	(++) ambulação; (--) defecação e limpeza
	120	(++) ambulação; (--) defecação e limpeza
	180	(++) ambulação; (--) defecação e limpeza
	240	(+) ambulação; (-) defecação e limpeza

(-) efeito diminuído, (--) efeito bem diminuído, (+) efeito presente, (++) efeito presente intenso
(n=8)

Quadro 2 – Efeito do Diazepam (1mg/kg) na triagem farmacológica comportamental em camundongos Swiss

Dose (1mg/kg)	Tempo (minutos)	Principais efeitos comportamentais
Diazepam	30	(--) defecação, micção, limpeza, força para agarrar; (++) hipnose, sedação, resposta ao toque diminuída, analgesia e ambulação;
	60	(--) defecação, micção, limpeza, força para agarrar; (++) hipnose, sedação, resposta ao toque diminuída, analgesia e ambulação
	120	(--) defecação, micção, limpeza, (-) força para agarrar; (++) hipnose, sedação, resposta ao toque diminuída, analgesia e ambulação
	180	(-) defecação, micção, limpeza, força para agarrar; (+) hipnose, sedação, analgesia (++) resposta ao toque diminuída, ambulação
	240	(-) defecação, limpeza, força para agarrar; (+) sedação, resposta ao toque diminuída e ambulação
	Após 240	Sem alterações comportamentais

(-) efeito diminuído, (--) efeito bem diminuído, (+) efeito presente, (++) efeito presente intenso

(n=8)

6.2 Efeito do OEL e do Diazepam no teste do labirinto em cruz elevado

O efeito do OEL e do Diazepam sobre o comportamento dos animais nesta metodologia se encontram expressos no gráfico 1. Os animais tratados com o OEL na concentração de 0,5 % não apresentaram qualquer alteração significativa em relação ao comportamento do animal nos braços abertos, embora houve redução do tempo de permanência nos braços fechados ($178,0 \pm 8,7$ em relação ao controle $240,3 \pm 7,8$), como se pode comprovar nos gráficos seguintes. Com a inalação de 1,0% observou-se que houve aumento do número de visitas ($6,2 \pm 0,9$ vs $2,4 \pm 0,9$) e do tempo de permanência nos braços abertos ($115,6 \pm 18,7$ vs $14,2 \pm 6,6$) e redução no tempo que os animais passaram nos braços fechados ($178,8 \pm 12,2$ vs $234,3 \pm 14,2$). A concentração de 2,5% promoveu aumento no tempo de permanência dos animais nos braços abertos ($76,4 \pm 17,0$ vs $34,6 \pm 5,6$) e concomitante redução das visitas aos braços fechados ($3,4 \pm 0,2$ vs $7,5 \pm 1,0$) e redução do tempo de permanência nestes braços ($190,0 \pm 14,6$ vs $246,0 \pm 14,0$).

Os resultados expressam que a droga padrão estabelecida foi capaz de aumentar o tempo de permanência ($126,1 \pm 16,4$ vs $36,9 \pm 6,7$) e o número de visitas nos braços abertos ($10,6 \pm 0,8$ vs $4,0 \pm 0,9$), além de reduzir o número de visitas nos braços fechados ($6,1 \pm 1,2$ vs $17,9 \pm 1,9$).

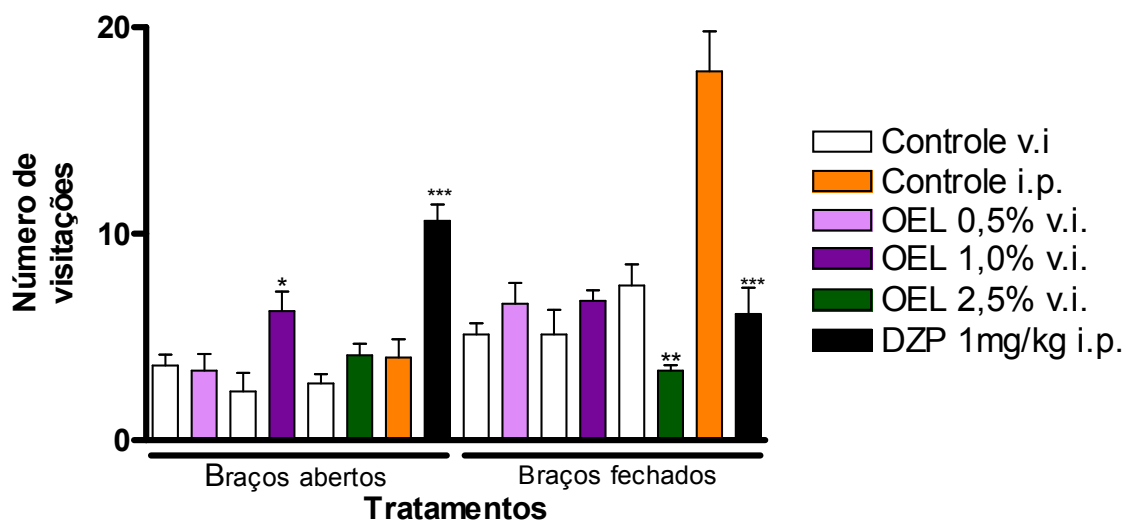


Gráfico 1 – Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o número de visitas nos braços do labirinto em cruz elevado. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=8), * $p < 0,01$; ** $p < 0,001$ *** $p < 0,0001$ vs respectivo grupo controle (Teste “t” de Student não pareado).

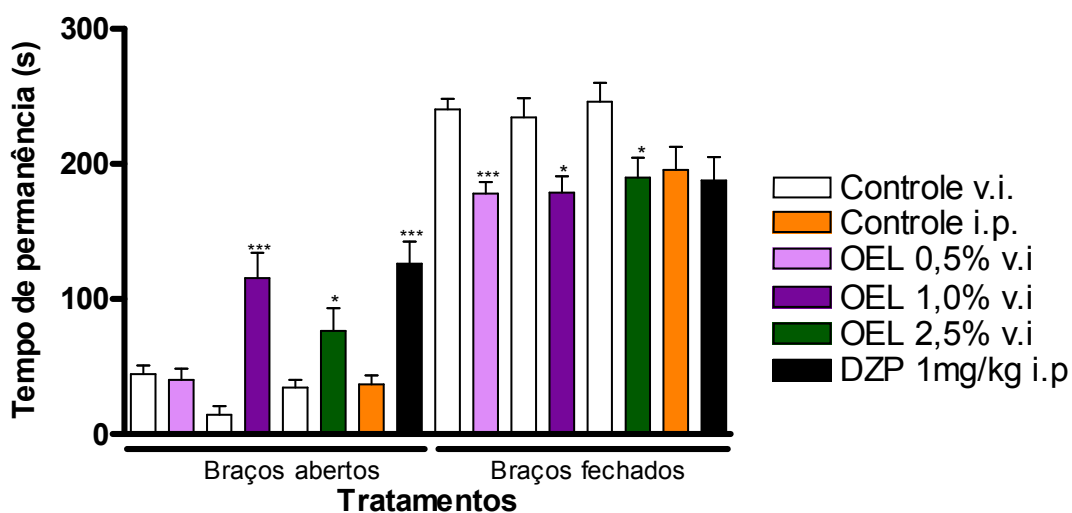


Gráfico 2 – Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o tempo de permanência nos braços do labirinto em cruz elevado. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=8), * $p < 0,05$; *** $p < 0,0001$ vs respectivo grupo controle (Teste “t” de Student não pareado).

6.3 Efeito do OEL e do Diazepam no teste da placa perfurada

No teste da placa perfurada o tratamento inalatório com o OEL conseguiu aumentar significativamente o número de mergulhos de cabeça do animal nos orifícios na concentração de 2,5% ($37,7 \pm 2,4$ vs $26,7 \pm 3,8$), enquanto que a concentração de 1,0% foi capaz de aumentar a atividade locomotora caracterizada pelo aumento de cruzamentos entre os quadrantes do aparato. ($33,9 \pm 5,0$ vs $21,2 \pm 1,8$).

O tratamento com o Diazepam na dose de 1mg/kg induziu aumento destes dois comportamentos ($38,5 \pm 2,1$ vs $15,5 \pm 1,9$) e ($46,1 \pm 2,8$ vs $24,9 \pm 1,9$), respectivamente. Sobre a quantidade de elevações as substâncias em análise não promoveram alterações significativas, embora ocorreu uma tendência ao aumento deste comportamento com o tratamento do OEL.

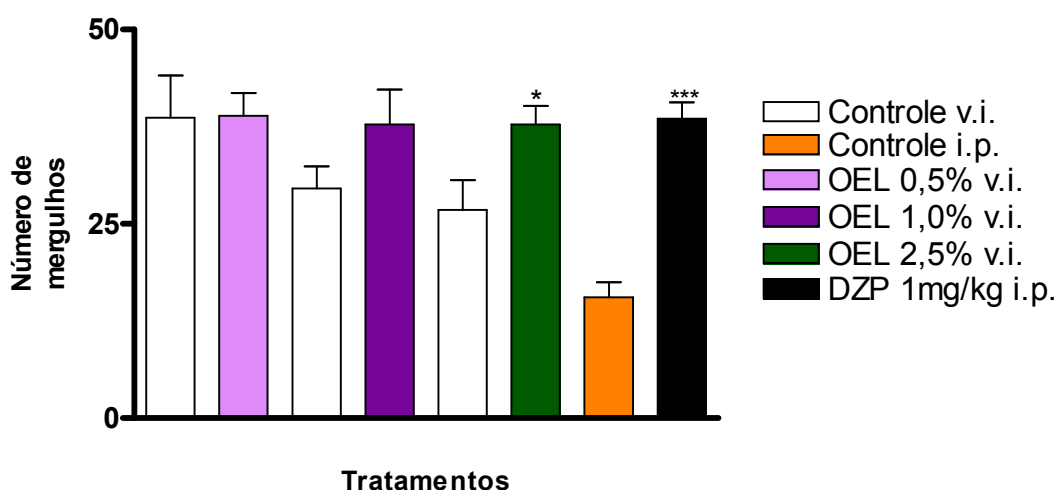


Gráfico 3 – Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o número de mergulhos nos orifícios no teste da placa perfurada. Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=8), * p < 0,05; *** p < 0,0001 vs respectivo grupo controle (Teste “t” de Student não pareado).

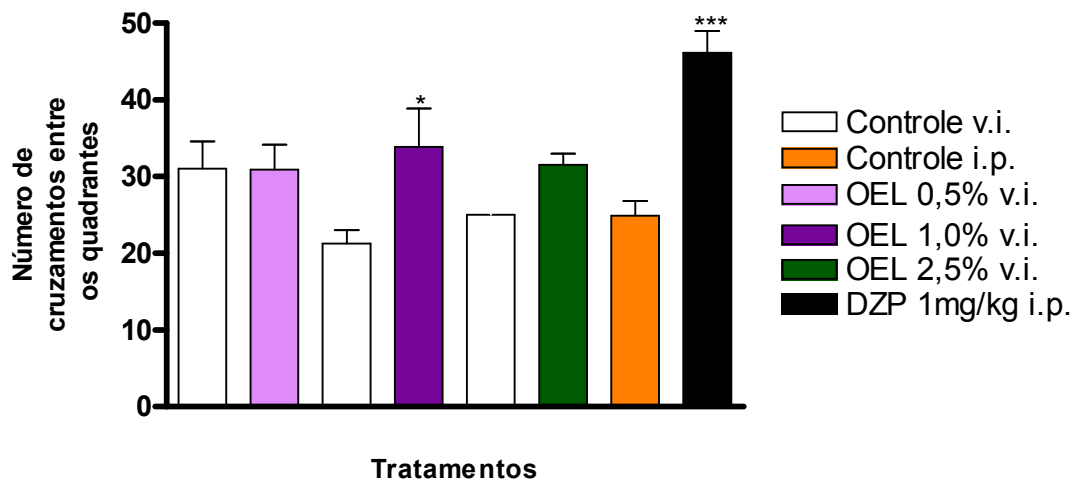


Gráfico 4 – Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre a atividade exploratória dos animais no teste da placa perfurada. Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=8), * p < 0,05; *** p < 0,0001 vs respectivo grupo controle (Teste “t” de Student não pareado).

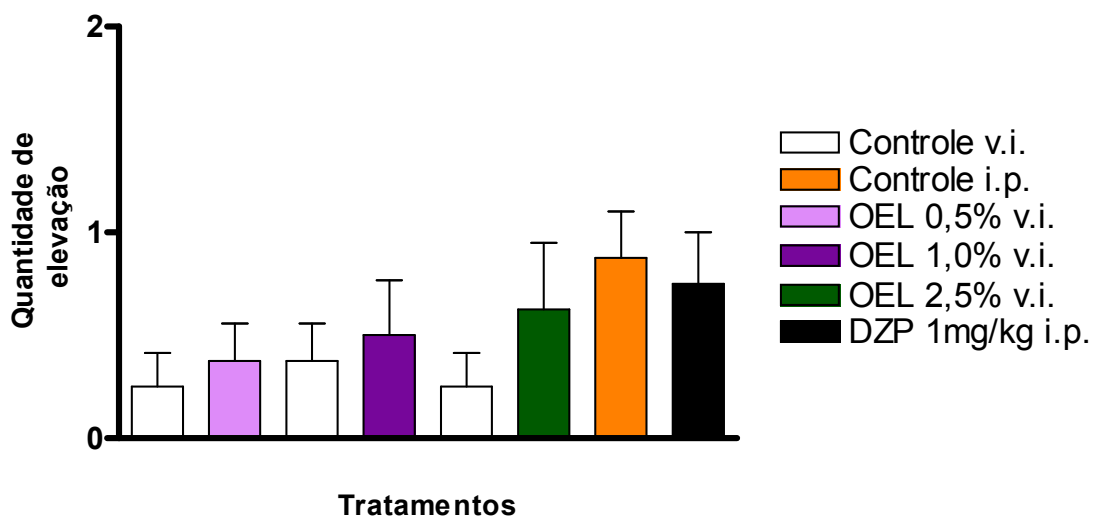


Gráfico 5 – Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o número de elevações dos animais no teste da placa perfurada. Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=8), grupo experimental vs respectivo grupo controle (Teste “t” de Student não pareado).

6.4 Efeito do OEL e do Diazepam no teste do campo aberto

Os tratamentos com o OEL nas concentrações de 0,5%; 1,0% e 2,5% demonstraram uma redução na defecação dos animais ($1,3 \pm 0,4$ vs $3,0 \pm 0,6$; $1,2 \pm 0,1$ vs $2,5 \pm 0,5$); o tempo de auto-limpeza ($4,6 \pm 1,5$ vs $22,0 \pm 4,3$; $6,5 \pm 2,8$ vs $37,7 \pm 4,6$; $9,2 \pm 2,9$ vs $64,5 \pm 22,3$) e o tempo de imobilidade ($0,1 \pm 0,1$ vs $7,0 \pm 1,9$; $0,8 \pm 0,8$ vs $47,0 \pm 12,1$; $4,2 \pm 1,8$ vs $31,2 \pm 10,4$), enquanto aumentou o número de elevações ($21,2 \pm 3,8$ vs $9,5 \pm 2,0$; $19,6 \pm 3,6$ vs $10,2 \pm 2,2$; $21,6 \pm 2,6$ vs $11,7 \pm 3,3$) e a ambulação centrípeta ($185,6 \pm 3,5$ vs $120,1 \pm 10,9$; $217,0 \pm 13,6$ vs $139,9 \pm 15,2$; $191,3 \pm 18,7$ vs $64,7 \pm 7,8$) respectivamente na metodologia do campo aberto.

O DZP promoveu alterações no número de bolos fecais ($1,8 \pm 0,7$ vs $8,6 \pm 0,6$); na atividade exploratória ($191,5 \pm 2,9$ vs $134,4 \pm 11,7$) e na quantidade de elevações ($2,2 \pm 0,2$ vs $0,5 \pm 0,2$).

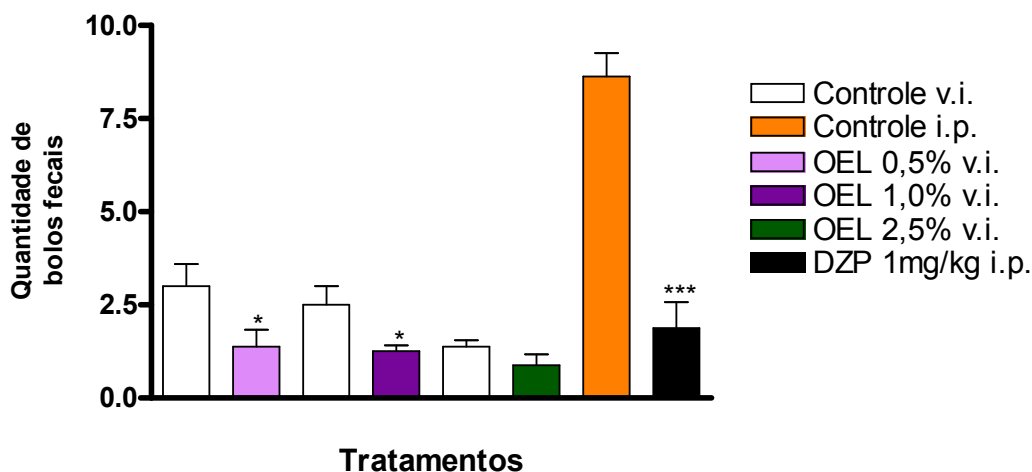


Gráfico 6 – Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o número de bolos fecais dos animais no teste do campo aberto. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=8), * $p < 0,05$; *** $p < 0,0001$ vs respectivo grupo controle (Teste “t” de Student não pareado).

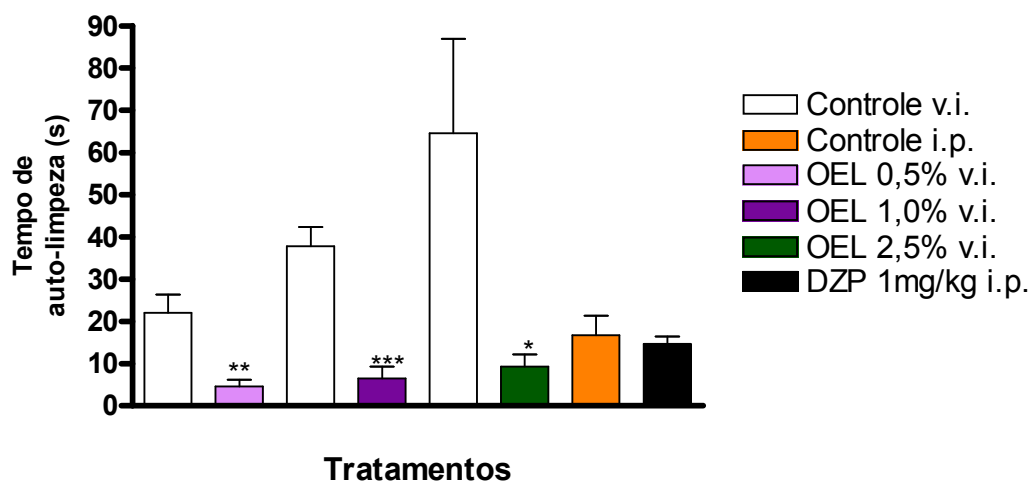


Gráfico 7 – Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre a auto-limpeza dos animais no teste do campo aberto. Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=8), * p < 0,05; ** p < 0,005 *** p < 0,0001 vs respectivo grupo controle (Teste “t” de Student não pareado).

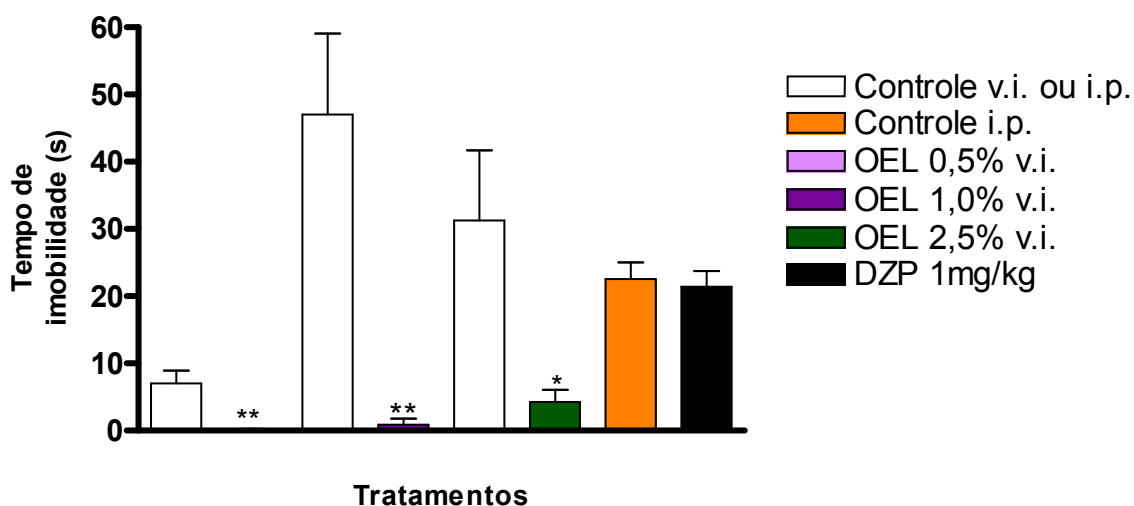


Gráfico 8 – Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o tempo de imobilidade dos animais no teste do campo aberto. Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=8), * p < 0,05; ** p < 0,005 *** p < 0,0001 vs respectivo grupo controle ((Teste “t” de Student não pareado).

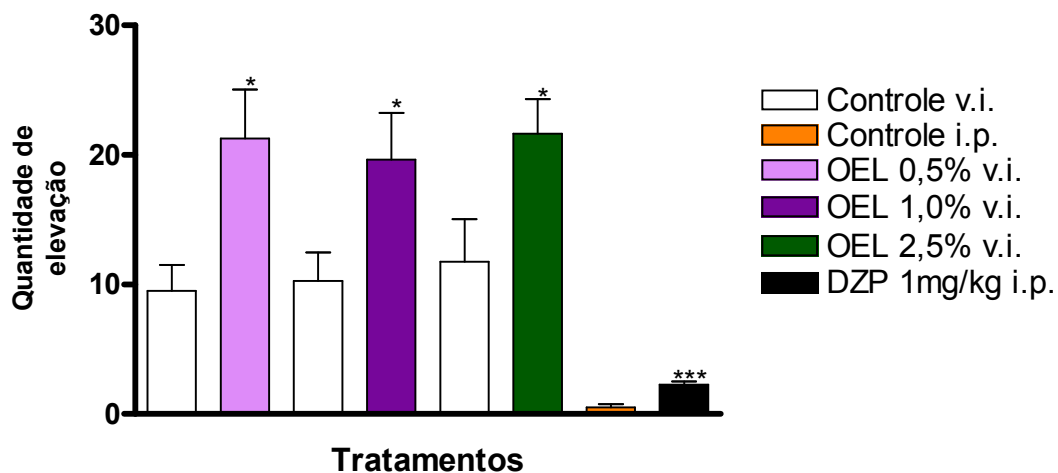


Gráfico 9 – Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre a elevação dos animais no teste do campo aberto. Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=8), * p < 0,05; *** p < 0,0001 vs respectivo grupo controle (Teste “t” de Student não pareado).

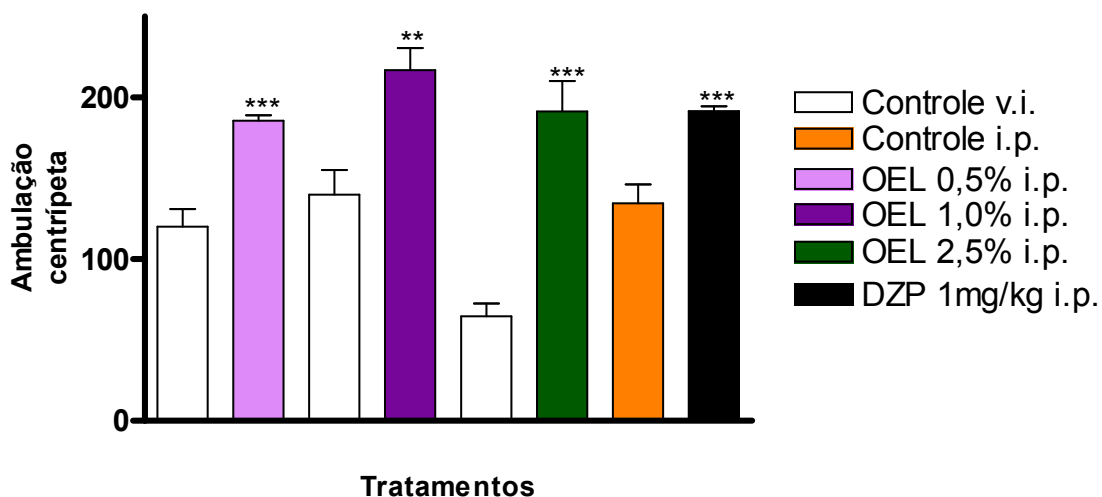


Gráfico 10 – Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre a atividade exploratória dos animais no teste do campo aberto. Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=8), * p < 0,05; ** p < 0,005; *** p < 0,0005 vs respectivo grupo controle (Teste “t” de Student não pareado).

6.5 Efeito do OEL e do Diazepam no teste de esconder esferas

As concentrações de 1% ($3,0 \pm 0,7$ vs $12,0 \pm 0,7$) e 2,5% ($2,6 \pm 0,7$ vs $9,5 \pm 0,5$) foram capazes de reduzir o comportamento de esconder esferas da mesma forma que o tratamento com o DZP ($1,2 \pm 0,3$ vs $8,8 \pm 0,6$).

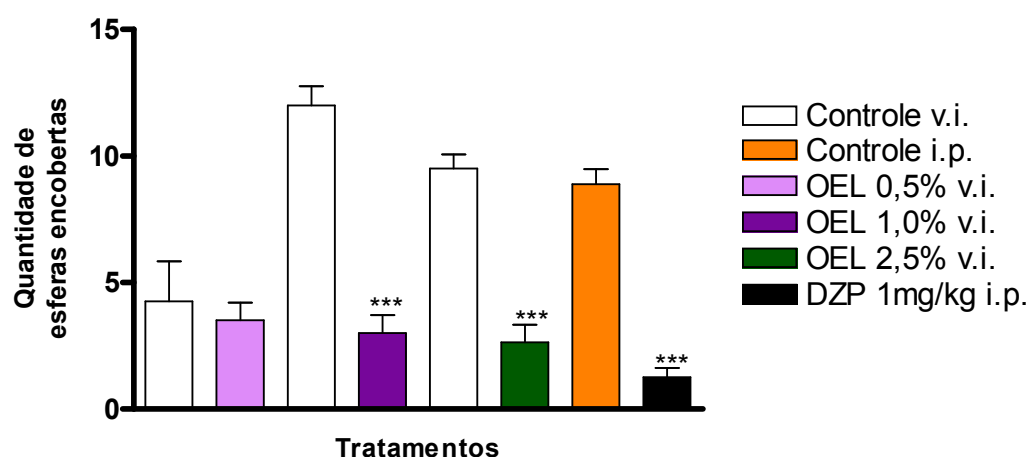


Gráfico 11 – Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o número de esferas encobertas no teste de esconder esferas. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=8), *** p < 0,0001 vs respectivo grupo controle (Teste “t” de Student não pareado).

6.6 Efeito do OEL e do Diazepam no teste da interação social

Os parâmetros avaliados estão dispostos graficamente abaixo, demonstrando o perfil ansiolítico do óleo de lavanda nesta metodologia. A concentração de 0,5% foi capaz de aumentar a ambulação centrípeta ($31,8 \pm 2,2$ vs $16,2 \pm 2,7$) e o comportamento sexual ($7,6 \pm 1,2$ vs $2,4 \pm 1,4$) entre os animais. Na concentração de 1%, o óleo aumentou o tempo de interação dos animais em atividades de ambulação centrípeta ($28,6 \pm 3,0$ vs $11,8 \pm 1,5$); comportamento sexual ($7,8 \pm 0,4$ vs $2,6 \pm 0,2$) e o tempo de limpeza mútua ($32,2 \pm 2,9$ vs $7,0 \pm 1,6$). A concentração de 2,5% apresentou uma atividade mais intensa nesta metodologia uma vez que todos os parâmetros como a ambulação centrípeta ($17,6 \pm 2,4$ vs $10,6 \pm 0,6$); o comportamento sexual ($7,6 \pm 0,9$ vs $2,2 \pm 0,9$); e os tempos de limpeza mútua ($22,8 \pm 2,6$ vs $3,8 \pm 0,6$) e de cheirar ($48,6 \pm 7,7$ vs $16,4 \pm 1,3$) foram alterados conforme demonstrado, caracterizando uma maior interação entre os animais. O diazepam na dose utilizada alterou os parâmetros, respectivamente, segundo a seguinte estatística $38,4 \pm 3,3$ vs $17,6 \pm 1,7$; $26,8 \pm 3,3$ vs $10,0 \pm 1,4$; $34,4 \pm 5,0$ vs $20,8 \pm 2,0$.

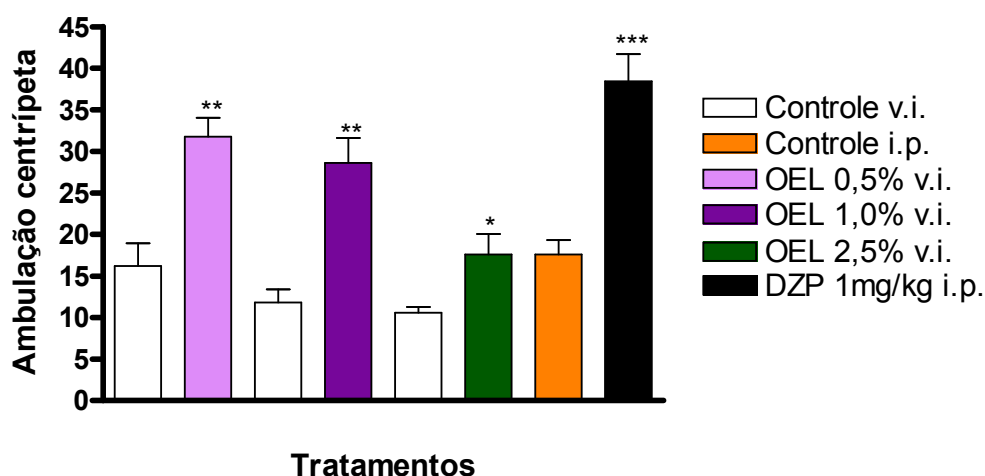


Gráfico 12 – Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre a ambulação centrípeta dos animais no teste da interação social. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10), * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,0005$ vs respectivo grupo controle (Teste “t” de Student não pareado).

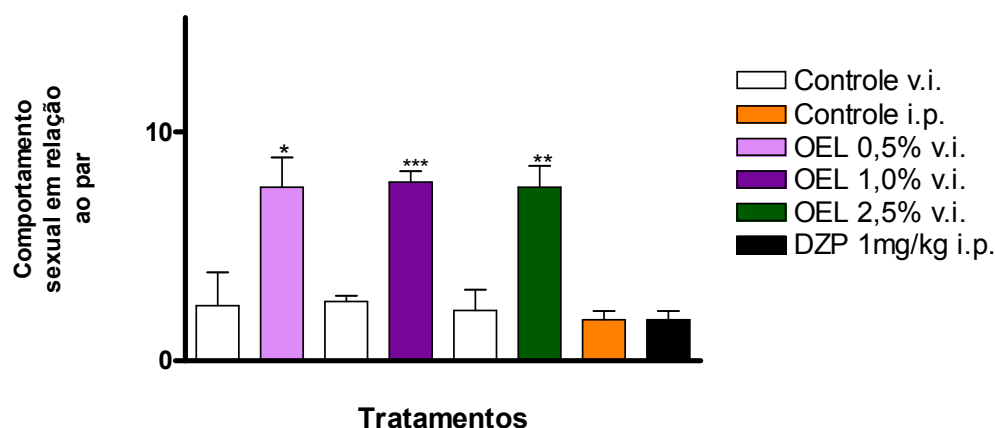


Gráfico 13 – Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o comportamento sexual de animais no teste da interação social. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10), * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,0001$ vs respectivo grupo controle (Teste “t” de Student não pareado).

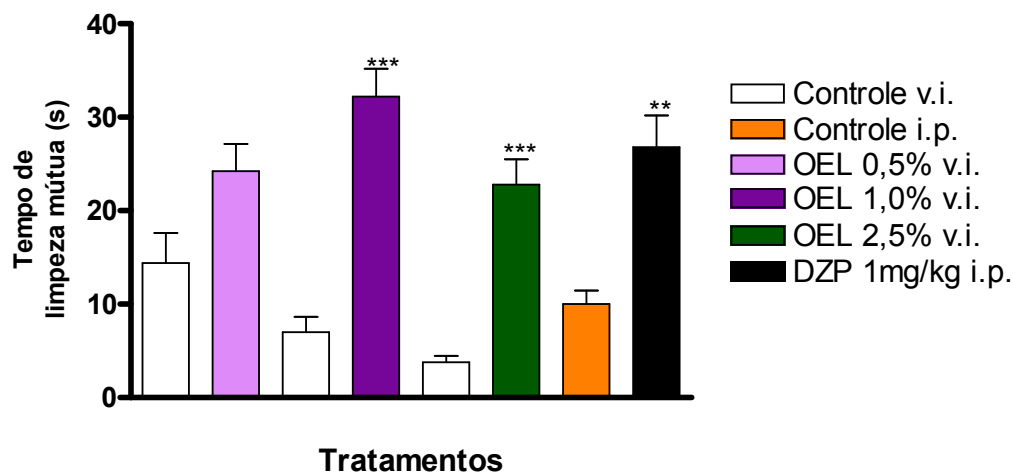


Gráfico 14 – Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre a limpeza mútua de animais no teste da interação social. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10), ** $p < 0,005$; *** $p < 0,0001$ vs respectivo grupo controle (Teste “t” de Student não pareado).

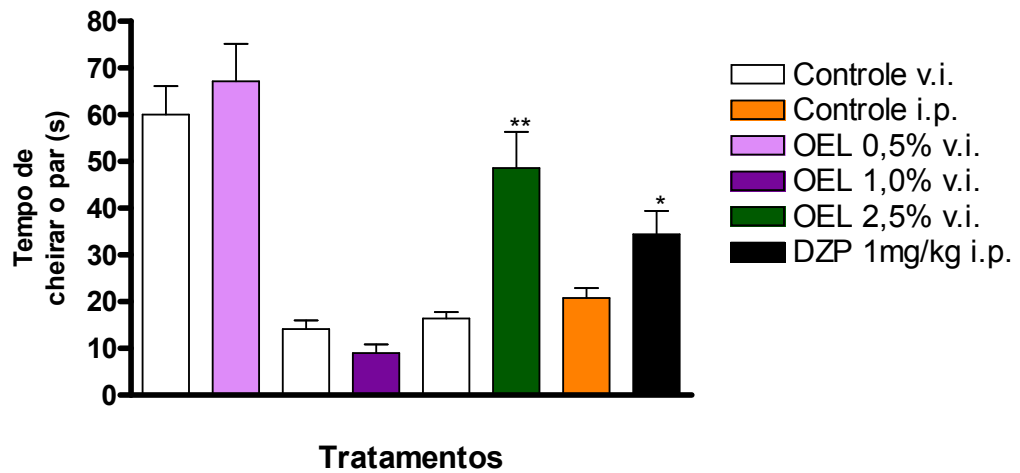


Gráfico 15 – Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre o tempo de cheirar o par de animais no teste da interação social. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=10), * $p < 0.05$; ** $p < 0.005$ vs respectivo grupo controle (Teste “t” de Student não pareado).

6.7 Efeito do OEL e do Diazepam no teste da barra giratória

A seguir são apresentados os gráficos que demonstram a habilidade dos animais sob efeito do OEL e DZP em permanecer na barra. Nas três concentrações o OEL não promoveu qualquer alteração motora; contudo a droga padrão provocou incoordenação motora nos animais que foi detectada aos tempos 0 min. ($119,3 \pm 4,2$ vs $156,5 \pm 2,1$); 30 min. ($124,3 \pm 4,1$ vs $155,0 \pm 2,4$) e 60 min. ($129,9 \pm 4,8$ vs $147,5 \pm 3,9$) do tratamento.

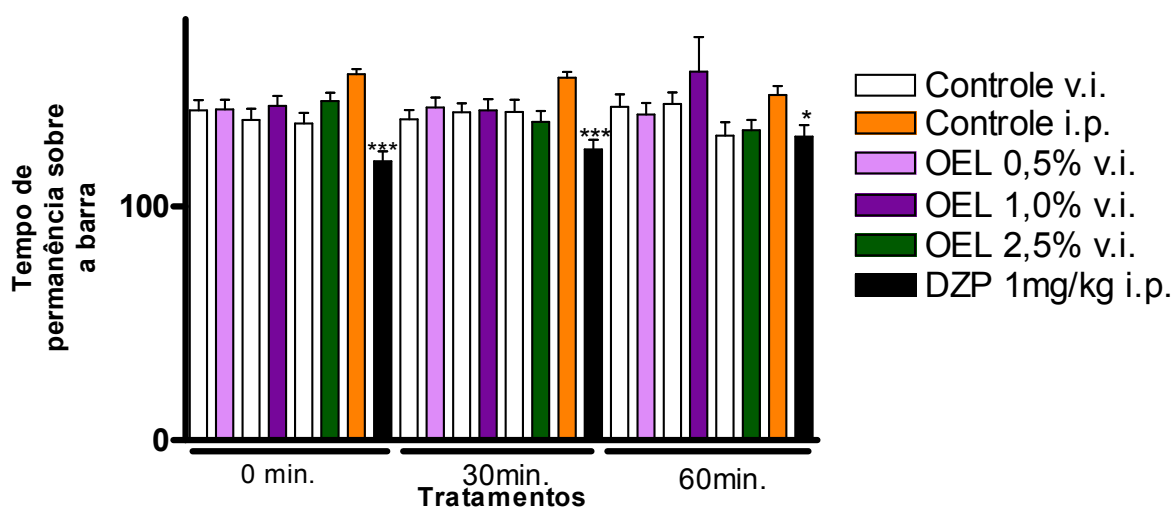


Gráfico 16 – Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre a coordenação motora dos animais nos tempos 0; 30 e 60 min. Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=8), * p < 0.05; *** p < 0.001 vs respectivo grupo controle (Teste “t” de Student não pareado).

Nos tempos de 90 e 120 min. após os tratamentos não se detectou nenhum efeito sobre a coordenação motora dos animais com o tratamento do OEL ou DZP.

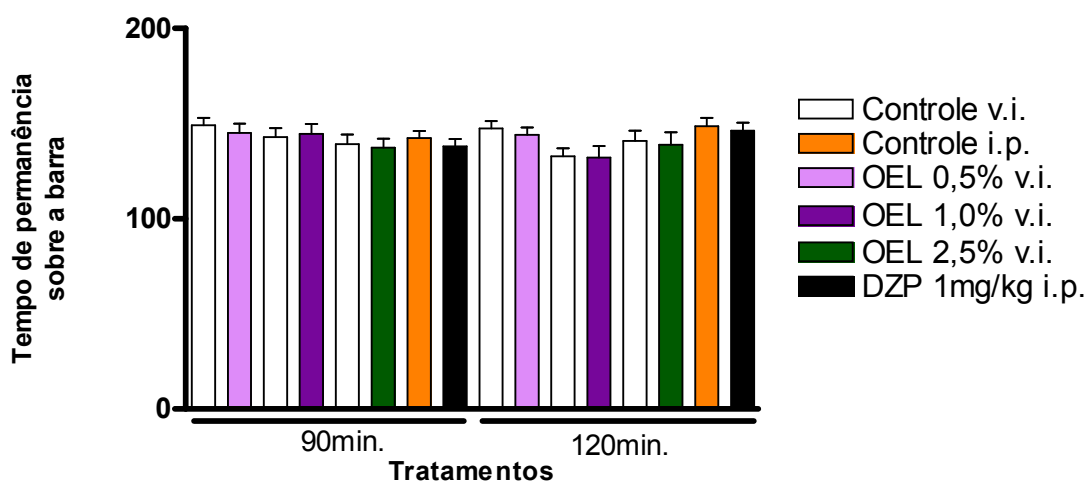


Gráfico 17 – Efeitos do OEL v.i. (0,5%; 1,0% e 2,5%) e diazepam i.p. (1mg/kg) sobre a coordenação motora dos animais nos tempos 90 e 120 min. Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=8), grupo experimental vs respectivo grupo controle (Teste “t” de Student não pareado).

6.8 Efeito do bloqueio do flumazenil na ação ansiolítica do OEL e do Diazepam no teste de esconder esferas

Os dados abaixo demonstram que o flumazenil (10mg/kg; i.p.) foi capaz de antagonizar os efeitos ansiolíticos do OEL a 1,0% v.i. ($10,0 \pm 0,5$ vs $2,6 \pm 0,7$) e do DZP na dose de 1mg/kg; i.p. ($11,1 \pm 0,8$ vs $2,2 \pm 0,5$).

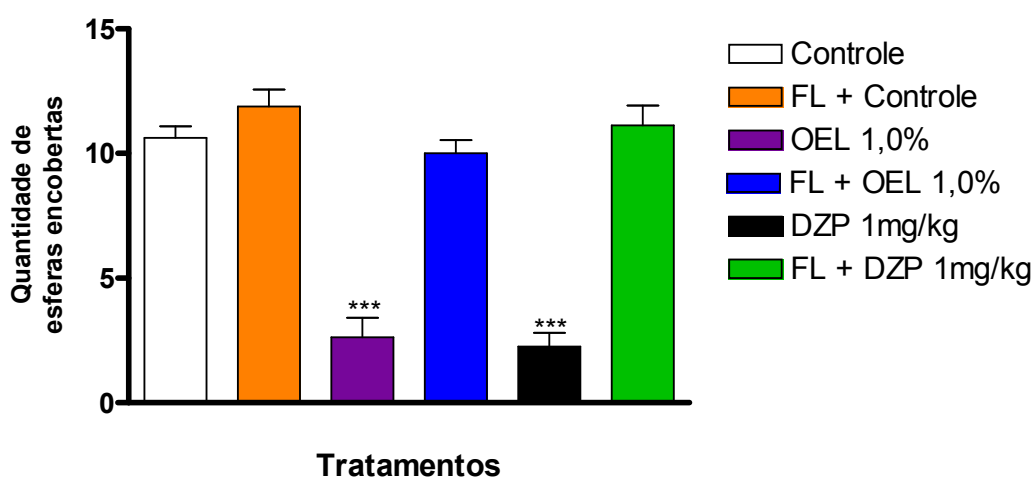


Gráfico 18 – Antagonismo do flumazenil (10mg/kg; i.p.) sobre os efeitos ansiolíticos do OEL (1,0%; v.i.) e DZP (1mg/kg; i.p.) no teste de esconder esferas. Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=8), $p < 0,0001$ vs respectivo grupo controle (Teste “t” de Student não pareado).

Discussão

VII – DISCUSSÃO

Nos tempos atuais, a competitividade social, a segurança, a competência profissional, a sobrevivência econômica, as perspectivas futuras e mais uma infinidade de ameaças abstratas e reais são alguns dos exemplos de causas que desencadeiam perturbações psíquicas que levam à ansiedade. (LAZARINI, 2000; RABBANI *et al.*, 2003/2004).

As desordens da ansiedade são consideradas um significativo problema de saúde pública atual resultante deste processo de modernização da estrutura social, afetando um amplo segmento da população e ocasionando grandes gastos relacionados diretamente com os cuidados da doença e hospitalizações ou, indiretamente, como no caso de mortalidades e morbidades (BALLENGER, 2000). Bladley *et al.* (2007) confirmam que o alto custo das desordens da ansiedade em termos de prescrições médicas está entre os mais altos do mundo. Wheatley (2006) descreve que existem problemas bem estabelecidos com o uso dos benzodiazepínicos como tratamento farmacológico de escolha da ansiedade como o efeito rebote de alerta, dependência, problemas na cognição, depressão e resistência; por isso alternativas terapêuticas que aliviem a ansiedade podem fornecer melhores benefícios de tratamento. Almeida *et al.* (2004) acrescentaram a tais efeitos colaterais: relaxamento muscular, distúrbios de memória e interação com outras drogas.

A aromaterapia está se tornando um crescente tratamento alternativo para aqueles que sofrem de ansiedade, com a vantagem de que os óleos essenciais têm um efeito direto sobre o sistema límbico, onde a ansiedade é gerada. A exposição ao aroma do óleo essencial de lavanda produz efeito ansiolítico através da via olfatória, na qual os odores chegam ao sistema límbico através do córtex olfatório e das células nasais, o que exclui a possibilidade de qualquer alteração química do óleo pelo sistema digestivo (BRADLEY *et al.* 2007; MOREIRA *et al.* 2001;). Komori *et al.* (2006) consideram também que a aplicação de substâncias odoríferas pode ser útil na qualidade do sono, reduzindo o consumo de hipnóticos.

Hajhashemi *et al.* (2003) afirmam que a *Lavandula angustifolia* Miller (Lamiaceae) é uma erva aromática amplamente distribuída no mundo; o óleo essencial de suas flores é principalmente usado nas indústrias de limpeza e perfumaria, no senso comum é conhecida entre as pessoas como uma potente erva aromática e medicinal, sendo usada popularmente para tratar desordens gastrintestinais, reumáticas e nervosas em todo o mundo. Sua revisão bibliográfica acerca dos dados científicos desta espécie de *Lavandula* relata que em testes farmacológicos e biológicos, aos seus extratos, às suas frações e ao seu óleo essencial são atribuídas ações depressoras do SNC, como atividades anticonvulsivante, sedativa, espasmolítica, anestésica local, antioxidante, ansiolítica, antibacteriana entre outras.

A pesquisa foca a atenção na busca dos benefícios desta planta sobre a ansiedade. Com um método inovador, investigou-se as propriedades ansiolíticas do OEL através da via inalatória em modelos animais. Almeida (2006) salientou que não existe um modelo animal perfeito, que consiga ser totalmente extrapolável para a condição humana, entretanto, as respostas obtidas através da experimentação animal se somam na elucidação do fenômeno biológico investigado, desta forma as várias metodologias empregadas nesta pesquisa visam a obter dados que ajudem no mesmo sentido; no caso da pesquisa para desvendar um possível efeito ansiolítico de uma substância, deve-se considerar que a ansiedade é uma forma de inibição comportamental em termos biológicos, ocorrendo em resposta a eventos ambientais novos, que não possuem recompensa ou que são punitivos, desta forma, esta inibição assume a forma de imobilidade ou supressão de uma resposta comportamental nos animais (BOISSER *et al.*, 1976).

No estabelecimento do objeto do estudo, alguns testes pilotos utilizando vários óleos essenciais como óleo de *Rosa centifolia*, óleo de *Citrus sinensis*, óleo de *Cananga odorata* e o próprio óleo de lavanda foram realizados a fim obter o conhecimento necessário para operação dos aparatos experimentais a serem utilizados, as doses apropriadas do óleo escolhido, além de identificar os critérios adotados para a validação do método de inalação do óleo essencial, que envolveu a caixa apropriada para acondicionar os animais durante o período de exposição ao aroma; condições experimentais e verificação dos primeiros resultados.

Em 2003, o estudo supracitado de Hajhashemi *et al.* afirma ser a planta bem conhecida por seu efeito ansiolítico e que em combinação com demais ervas sedativas é importante na recuperação de distúrbios do sono, irritabilidade e enxaqueca. Investigações a respeito da propriedade ansiolítica do óleo de lavanda estão cada vez mais ganhando atenção dos cientistas em todo mundo, os dados compilados no estudo desenvolvido por Wheatley (2005) demonstraram que a inalação da lavanda se mostra benéfica na melhora da qualidade do sono de sujeitos submetidos a três minutos de tratamento de inalação do óleo por dia antes de deitar, durante 40 dias, apresentando menor latência para o início do sono e sua maior duração em relação aos pacientes tratados com benzodiazepinas.

Buchbauer *et al.* (1991) referiram o potencial ansiolítico do óleo essencial das flores de *Lavandula angustifolia* Miller pela via inalatória; a ação farmacológica depressora e sinérgica dos componentes ativos do óleo de lavanda promoveu uma redução na hiperexcitabilidade motora produzida por injeção de cafeína, embora não compreendendo o mecanismo certo de ação, os autores referem que tal efeito sedativo foi atribuído a excelente absorção da mucosa nasal em comparação com a absorção em nível plasmático que acontece pela via intraperitonal, sendo que esta ação foi causada pela eficácia farmacológica do óleo no cérebro e não significa influência apenas dos efeitos confortáveis do sentido do olfato.

Com a análise dos dados presentes nesta pesquisa, é possível sugerir que os animais tratados com o óleo de lavanda pela via inalatória apresentaram alterações comportamentais sugestivas de atividade depressora do SNC.

Os resultados da triagem farmacológica comportamental sugerem também que o OEL apresenta um perfil depressor do SNC pela via inalatória; os animais colocados em ambiente não familiar apresentaram aumento nos comportamentos de defecação e de auto-limpeza como referência de sintomas correlacionados à ansiedade, uma vez que houve redução de tais comportamentos caracterizaram-se efeitos favoráveis para a investigação de seu uso como possível agente detentor de propriedade ansiolítica nos testes posteriores. O interesse nos dados desta triagem está de acordo com o que propuseram Evans *et al.* (2004) e Akhondzadeh *et al.* (2003) ao relatarem que o óleo de lavanda possui baixa citotoxicidade, porém como os óleos essenciais são potentes

compostos aromáticos, a avaliação de sua toxicidade é importante antes da especulação de suas propriedades benéficas para um uso seguro e adequado.

CARDOSO *et al.* 2006 relatam que a via de administração oral dos óleos essenciais é aquela que apresenta maiores riscos de apresentar efeitos tóxicos e que a via de administração inalatória possui como principal vantagem o fato de reduzir o estresse decorrente das manipulações para injeção por outras vias, além de reduzir a toxicidade.

No teste do labirinto em cruz, o tratamento com o OEL na concentração de 0,5% capaz de reduzir o tempo que os animais permaneceram nos braços fechados; os animais tratados com o OEL na concentração de 1% apresentaram aumento no número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos além da redução do tempo gasto nos braços fechados. A concentração de 2,5% também foi capaz de alterar favoravelmente os resultados neste teste. Embora os resultados não tenham sido tão intensos nesta metodologia em comparação com a droga padrão, abrem um espaço à investigação nos demais modelos que confirmam a atividade. De acordo com o que propõem Nogueira e *et al.* em 1998, a redução da aversão aos braços abertos ou a menor afinidade aos braços fechados sugerem afeito ansiolítico uma vez que como afirma Almeida *et al.*(2004), os roedores, sob condições comportamentais normais, ou seja, na ausência de estímulos que desencadeiem em “possível estado ansioso”, têm maior preferência para braços fechados, que são considerados mais seguros e menos iluminados.

O aumento das atividades exploratória e o do número de mergulhos no teste da placa perfurada também são considerados resultados favoráveis na avaliação da atividade ansiolítica do óleo de lavanda. Segundo Chen *et al.* (2005) a placa perfurada possui atualmente popularidade como um modelo de ansiedade, oferecendo um método simples na mensuração da resposta do animal a um ambiente não familiar, com a vantagem de que muitos comportamentos podem ser quantificados no teste.

Saitoh, Hirose, Yamada *et al.* (2006) afirmaram que o uso do método da placa perfurada como um teste válido na busca de ansiolíticos tem sua crença na hipótese que o comportamento dos animais expostos a uma situação nova resulta numa competição entre sua tendência exploratória e sua tendência de abster-se de explorar.

Desta forma, de acordo com esta hipótese, um alto nível de ansiedade resulta na redução do comportamento de mergulho da cabeça, e um nível decrescente de ansiedade se manifesta no aumento do comportamento de mergulhos, sendo este, portanto o parâmetro primordial do teste. Os resultados indicam que os dois parâmetros modificados pelo óleo de lavanda em diferentes concentrações foram os mesmos observados para o controle positivo.

Chen *et al.* (2006 a) referem que o teste do campo aberto e a placa perfurada são metodologias capazes de mensurar a resposta do animal a um ambiente não familiar e ambos podem ser usados para acessar a emocionalidade, ansiedade e resposta ao estresse em animais. O animal com um estado correlacionado com a ansiedade, que é desencadeada quando é inserido na arena do aparelho do campo aberto devido aos estímulos de ambiente não-familiar e a iluminação, tende a aumentar seu comportamento de tigmotaxia, a defecação e sua auto-limpeza, enquanto apresenta mais estados de congelamento motor e menores elevações.

O tratamento com o OEL nas três concentrações foi capaz de encerrar resultados bastante significativos no teste do campo aberto em todos os parâmetros avaliados. Os dados em relação à atividade do óleo de lavanda nesta metodologia estão de acordo com os resultados apresentados pelo estudo de Shaw *et al.*, (2007) que estudaram amplamente os efeitos da inalação da lavanda em ratos no modelo do campo aberto, o que resultou em redução da tigmotaxia, ou seja, redução da ambulação periférica da arena (centrífuga), redução da quantidade de bolos fecais e do comportamento de auto-limpeza e do tempo de imobilidade, além de aumento do número de elevações e da ambulação centrípeta, caracterizando um potente efeito ansiolítico.

Boer e Koolhaas (2003) conceituam o comportamento de encobrir defensivamente um objeto apresentado pelos roedores como a retirada do material que forra a gaiola com movimentos alternados de empurrar as patas anteriores ou da cabeça em direção às fontes de estimulação aversiva. Afirmam ainda que é um modelo que pode ser amplamente empregado como expressão comportamental dos roedores nos estados de ansiedade e medo, sendo com confiança realizados em diversos estudos de psicofarmacologia para descoberta de potenciais terapêuticos ansiolíticos.

Ho e *et al.* (2002) e Broekkamp *et al.*, (1986) e Treit *et al.*, (1981), afirmaram que o comportamento de encobrir esferas é suprimido por drogas ansiolíticas e é, portanto tomado como um indicativo de ansiedade, sugerindo que as esferas de vidro podem fornecer um efetivo estímulo não condicionado que provoca uma resposta defensiva dos animais. Com base nestas considerações podemos inferir que o tratamento inalatório do óleo de lavanda nas concentrações de 1% e 2,5% foi capaz de reduzir significativamente o comportamento defensivo de esconder esferas.

O teste da interação social é também uma metodologia que vêm largamente sendo empregada nos estudos psicofarmacológicos da ansiedade, de acordo com Chen *et al* (2005) é sensível na detecção de agentes ansiolíticos e ansiogênicos por mensurar a duração da interação social entre dois animais que se encontram pela primeira vez, considerado portanto como um modelo de “ansiedade social”. Segundo Chen *et al.* (2006 a) foi descrito pela primeira vez no estudo de File e Hyde há 27 anos atrás sendo o primeiro teste animal que usa uma forma natural de comportamento como medida dependente, os parâmetros avaliados podem ser vários como a limpeza mútua, comportamento sexual, além da atividade motora (ambulação) podendo, portanto ampliar a avaliação de sintomas relacionados à ansiedade, visto que quando colocados em ambiente desconhecido os animais tendem a reduzir a interação.

Nas concentrações utilizadas, os ratos submetidos a tratamento inalatório com o OEL aumentaram as atividades de interação social, sendo mais uma vez corroborada a sugestiva atividade ansiolítica da essência; se deve também considerar certa a afirmação que a ação do óleo não foi devido a prejuízo motor, uma vez que no teste da barra giratória em nenhuma concentração em estudo e em nenhum tempo do teste a atividade motora apresentou sinais de perturbação, embora alguns estudos relatem que o óleo de lavanda possui efeito sedativo (BUCHBAUER *et al* 1991), nenhum deles também refere que este efeito seja grande a ponto de interferir com a cognição ou a coordenação dos animais (SHAW *et al* 2007; BRADLEY *et al.* 2007).

O diazepam por sua vez apresentou um efeito sedativo que provocou um prejuízo motor até os 60min. de observação, desta forma seu efeito ansiolítico pode estar associado a tal prejuízo, a inalação do óleo assim se mostra mais eficiente neste contexto.

No teste da barra giratória também se pode observar que o efeito do OEL perdurou em todo o teste uma vez que a quantidade bolos fecais reduziu, e a ambulação dos animais em relação ao grupo controle aumentou, dados semelhantes encontrados à triagem farmacológica realizada, na nossa pesquisa o tempo de exposição ao aroma de lavanda de 7 min. se mostra eficiente em produzir o efeito ansiolítico nas várias metodologias empregadas, em contrapartida a estudos que referem ser o tempo necessário de exposição de no mínimo 30 min. (SHAW *et al*, 2007). Bradley *et al.*(2007) afirmaram que o sinergismo dos constituintes dos óleos essenciais acontece quando a mistura dos componentes trabalha de uma maneira mais potente que cada componente individualmente; e no caso do óleo de lavanda a atribuição da atividade ansiolítica acontece devido ao sinergismo do linalool e do linalil acetato principalmente.

Caracterizado seu perfil depressor relacionado ao tratamento de desordens da ansiedade, realizou-se uma análise avaliatória sobre um possível mecanismo de ação através do qual a essência produz este efeito. Elisabetsky *et al.* (2005) propuseram que a administração intraperitoneal de linalool, o principal componente do óleo de lavanda, possui efeito inibitório sobre receptores glutamatérgicos *in vitro*, promovendo efeitos de hipotermia, hipnóticos e anti-convulsivantes em camundongos.

Yamada, Mimaki e Sashida (2005) sugeriram que a inalação do óleo de lavanda da espécie *Lavandula burnatii* também foi capaz de aumentar a atividade neural noradrérgica e dopaminérgica, induzindo uma redução nos níveis plasmáticos do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), reduzindo conseqüentemente os níveis do hormônio luteinizante (LH) e restabelecendo o nível de catecolaminas em neurônios centrais de ratos que inalaram éter.

Haze *et al.*(2002) investigaram que o efeito da inalação de vários óleos essenciais na atividade simpática de adultos normais usando espectros de flutuações da pressão sanguínea e mensurações dos níveis de catecolaminas e seus resultados indicaram que o uso dos óleos pela via inalatória foi capaz de modular a atividade simpática em adultos sadios. Os autores associam estes resultados aos efeitos mentais e emocionais causados pela estimulação olfatória, porém referem que não apenas os óleos causam efeitos compreendidos por alguns estudos como místicos, ou de

experiência relaxante adquirida e memorizada, mas que possuem ação farmacológica. Afirmam, portanto que seus resultados estão associados a interações fisiológicas entre componentes dos óleos em estudo e moléculas biológicas tais como receptores olfatórios, e que tal interação se dá provavelmente através da ligação destes componentes com sítios potenciais em receptores ionotrópicos do ácido aminobutírico (GABA_A), aumentando a afinidade do GABA com tais receptores e modulando a transmissão neural no cérebro.

O achado de que o uso do Flumazenil no teste de esconder esferas foi capaz de reverter o efeito do óleo de lavanda pela via inalatória na concentração intermediária de 1% está de acordo com a consideração do estudo supracitado. Komori *et al.* (2006) também referenciam que substâncias voláteis afetam os animais através de três vias: absorção da mucosa nasal e do trato respiratório, estimulação de receptores brônquicos e pulmonares e células olfatórias diretamente e que após tal interação estas substâncias chegam à corrente sanguínea, atravessam a barreira hematoencefálica e afetam a resposta mediada pelos receptores GABA_A, o que promove um efeito tranqüilizante no cérebro. Shaw *et al.* (2007) também concordam ao relatarem experimentalmente que o óleo de lavanda pela via inalatória age da mesma forma que os benzodiazepínicos, ou seja, potencializando as respostas dos receptores GABA_A. Da mesma forma, Bladley *et al.* (2007) concordam que o OEL pela via inalatória potencializa as ações do GABA, ao se ligar aos receptores GABA_A.

Boer e Koolhas (2003) estudaram extensivamente a neurobiologia da ansiedade envolvida no modelo de esconder esferas e demonstraram experimentalmente que as partes posteriores da região septal, a região dorsal do hipocampo, a região caudal do núcleo accumbens e os núcleos dorsais da rafe são porções críticas do circuito neural que está envolvido no modelo de esconder esferas e que dentro de tais estruturas, o neurotransmissor inibitório GABA através do complexo recetor GABA_A- GABA tem um papel modulatório proeminente.

Malizia (1999) descreveu que há deficiência na inibição cerebral devido à redução na transmissão gabaérgica o que permite elevações paroxísticas na ansiedade durante os ataques de pânico devido principalmente a três fatores: expressão diferenciada de receptores do GABA em pacientes com desordens do pânico,

modificações induzidas pelo meio ambiente na configuração secundária dos receptores ou fosforilação endocítica destes; a presença de neurotransmissores endógenos que bloqueiem a ligação ao GABA e diferenças nos sistemas aferentes da transmissão serotoninérgica ou noradrenérgica que interfeririam no sistema gabaérgico.

Os ansiolíticos que atuam pela via gabaérgica agem de forma alostérica, ou seja, são classificados como moduladores uma vez que ao agirem em sítios específicos centrais acoplados aos receptores GABA_A alostericamente, facilitam a transmissão gabaérgica, a transmissão que envolve o principal neurotransmissor inibitório do SNC, estando esta via relacionada com a expressão fisiológica da ansiedade (NAZAR *et al.*, 1997). Bradley *et al.* (2007) afirmaram que o odor do óleo de lavanda possui mecanismo de ação similar ao diazepam, embora além do sistema GABA, atua através de múltiplas vias relacionadas ou não a via das benzodiazepinas, entre elas referem vias que aumentam o nível intracelular de AMPc. (NOGUEIRA *et al.* 1998).

Wheatley (2005) afirmou, com base nos resultados favoráveis de pesquisas que vêm sendo desenvolvidas com o uso da aromaterapia, não ser possível acreditar que os compostos aromáticos sejam parte de efeitos benéficos apenas de uso da medicina popular, visto que os dados científicos apresentados demonstraram que a natureza dispõe de remédios potenciais, baseados em fontes naturais para tratar a ansiedade; contudo uma meticulosa investigação de como tais compostos derivados de plantas podem ser usados em favor da humanidade no adequado emprego de drogas futuras é necessária, a fim de aprofundar o conhecimento de sua ação farmacológica.

Conclusões

VIII – CONCLUSÕES

Os dados apresentados neste estudo torna possível afirmar que:

- O OEL administrado pela via inalatória possui atividade semelhante ao de drogas ansiolíticas, visto que foi estudado em metodologias bem estabelecidas de ansiedade;
- O procedimento de exposição dos animais ao aroma por 7 minutos se mostra eficiente na investigação das propriedades ansiolíticas do OEL;
- As alterações comportamentais apresentadas pelo OEL foram semelhantes às de drogas depressoras do SNC, observadas durante a triagem farmacológica comportamental;
- O efeito ansiolítico não implica em prejuízo motor, visto que no teste da barra giratória não se observou comportamento de incoordenação motora;
- A possível ação ansiolítica parece ser mediada pelos receptores olfatórios que transmitem informações neurais e modulam a via gabaérgica;

Referências

REFERÊNCIAS

ADSERSEN, A.; GAUGUIN, B.; JÄGER, A.; GUDIENSEN, L. Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 104, p. 418- 422, 2006.

AKHONDZADEH, S.; KASHANI, L.; FOTOUHI, A.; JARVANDI, S.; MOBASERI, M.; MOIN, M.; KHANI, M.; JAMSHIDI, A.; BAGHALIAN, K.; TAGHIZADEH, M. Comparison of *Lavandula angustifolia* Mill tincture and imipramina in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind randomized trial. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**.v. 27, p.123-127, 2003.

ALMEIDA, R.; MOTTA, S.; FATURI, C.; CATALANI, B.; LEITE, J. Anxiolytic-like effects of rose oil inhalation on the elevated plus-maze test in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behaviour**, v. 77, p. 361-364, 2004.

ALMEIDA, R. **Psicofarmacologia: Fundamentos práticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, 357p.

BALLENGER, J. Anxiety and Depression: Optimizing Treatments. **Journal Clinical of Psychiatry**, v. 2, p. 71-79, 2000.

BALLONE, G. J. **Ansiedade**. Disponível em: [http:// www.psiqweb.med.br](http://www.psiqweb.med.br) Revisto em janeiro de 2005. Acesso: Agosto de 2006.

BATATINHA, M.; SOUZA-SPINOSA, H.; BERNARDI, M. *Cróton zehntneri*: possible central nervous system effects of the essential oil in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 45, p. 53-57, 1995.

BOER, S.; KOOLHAAS, J. Defensive burying in rodents: ethology, neurobiology and psychopharmacology. **European Journal of Pharmacology**, v. 463, p.145-161, 2003.

BOISSER, J.; SIMON, P.; SOUBRIE, P. Effets des anxiolytiques sur la prise de boisson en situation nouvelle et familiere. **Psychopharmacology**, v. 50, p. 41-45, 1976.

BOZHANOV, S.; KARADJOVA, I.; ALEXANDROV, S. Determination of trace elements in the Lavender inflorescence (*Lavandula angustifolia* Mill) - Lavander oil system. **Microchemical Journal**. 86, p. 119-123, 2007.

BRANN, J.; FADOOL, D. Vomeronasal sensory neurons from *Sternotherus odoratus* respond to chemosignals via the phospholipases C system. **Journal of Experimental Biology**. v. 209, p. 1914-1927, 2006.

BROEKKAMP, C.; RIJIK, H.; JOLY-GELOIND, D.; LOYD, K. Major tranquilizers can be distinguished from minor tranquilizers on the basis of effects on marble burying and swim-induced grooming in mice. **European Journal of Pharmacology**. v. 126, p. 223-229, 1986.

BRADLEY, B.; STARKEY, N.; BROWN, S.; LEA, R. Anxiolytic effects of *Lavandula angustifolia* odour on the Mongolian gerbil elevated plus maze. **Journal of Ethnopharmacology**. V. 11, p. 517-525, 2007.

BUCHBAUER, G.; JIROVETZ, L.; JAGER, W.; DIETRICH, H.; PLANK, C.; KARAMAT, E. Aromatherapy: evidence for sedative effects of the essential oil of lavender after inhalation. **Zeitschrift für Naturforschung**, v.46c, p. 1067-1072, 1991.

BUCHBAUER, G.; HONGRATANAWORAKIT, T. Evaluation of the harmonizing effect of ylang-ylang oil on humans after inhalation. **Planta Médica**, v.7,p. 632-636, 2004.

CARDOSO, M. G.; GAVILANES, M. L.; MARQUES, M. C. S.; SHAN, A.YY.; SANTOS, B. R.; OLIVEIRA, A. C. B.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, A. P. **Óleos Essenciais**.P.1- 42. Disponível em: <http://www.editora.ufla.br/Boletim/pdfextensão/> Acesso em: 13 de setembro de 2006.

CARLINI, E.; CONTAR, J.; SILVIA-FILHO A.; SILVEIRA-FILHO, N.; FROCHTENGARTEN, M.; BUENO, O. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). I. Effects of teas prepared from the leaves on laboratory animals **Journal of Ethnopharmacology**, v 17, p. 37-64, 1986.

CECCARELLI, I.; LARIVIERE, W.; FIORENTIN, P.; SACERDOTE, P.; ALOISI, A. Effects of long-term exposure of lemon essential oil odor on behavioral, hormonal and neuronal parameters in male and female rats. **Brain research**, v. 1001, p. 78-86, 2004.

CHEN, S.; MIN, L.; LI, W.; KONG, W.; LI, J.; ZHANG, Y. The effects of angelica essential oil in three murine tests of anxiety. **Pharmacology Biochemistry and Behaviour**. v. 79, p. 377-382, 2004.

CHEN, S.; MIN, L.; LI, W.; WANG, R.; LI, Y.; WANG, W.; MI, X. The effect of angelica essential oil in social interaction and hole board tests. **Pharmacology Biochemistry and Behaviour**. v. 81, p. 838-842, 2005.

CHEN, S.; KONG, W.; LI, Y.; ZHANG, Y.; WANG, R.; MIN, L.; MI, X. Effects of taurine on rat behaviors in three anxiety models. **Pharmacology Biochemistry and Behaviour**, v. 83, p.271-276, 2006 a.

CHEN, S.; WANG, W.; LI, W.; WANG, R.; LI, Y.; HUANG, Y.; LIANG, X. Anxiolytic-like effects of asiaticoside in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behaviour**, v.85, p. 339-344, 2006 b.

CHINDO, B.; AMOS, S.; GAMANIEL, K.; ODUTOLA, A.; VONGTAU, H.; WAMBEBE, C. Central nervous system activity of the methanol extract of *Ficus Platyphylla* stem bark. **Journal of Ethnopharmacology**, v.85, p.131-137, 2003.

COOKE, B.; ERNST, E. Aromatherapy: a systematic review. **British Journal of General Practice**. 50: 493-496, 2000.

DIEGO, M.; JONES, N.; HERNANDEZ, R.; SCHANBERG, S.; KUHN, C.; McADAM, V.; GALAMAGA, R.; GALAMAGA, M. Aromatherapy positively affects mood, EEG patterns os alertness and math computations. **International Journal Neurosciences**. v. 96, p. 217-224, 1998.

EFRAIM, Isaac. **O que é ansiedade**. Disponível em: [http:// www.ansiedade.com.br](http://www.ansiedade.com.br), revisto em 2006. Acesso em Agosto de 2006.

ELISABETSKY, E.; MARSCHENER, J.; SOUZA, D. Effects of linalool on glutamatergic system in the rat cerebral cortex. **Neurochemical Research**, v. 20, p. 461-465, 1995.

EVANS, C.; LOCKE, I.; PRASHAR, A. Cytotoxicity of lavender oil and its major components to human skin cells. **Cell Proliferation**. v. 37, p. 221-229, 2004.

EVANDRI, M.; BATTINELLI, L.; DANIELE, C.; MASTRANGELO, S.; BOLLE, P.; MAZZANTI, G. The antimutagenic activity of *Lavandula angustifolia* (lavender) essential oil in the bacterial reverse mutation assay. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 1381-1387, 2005.

FERRÃO, Andréa Pires. **Aquisição de sementes de Lavanda.** (2007) Disponível em: <<http://sbrt.ibict.br/upload/sbrt6410.pdf>> Acesso em Agosto de 2007.

GARGANO, A. **Estudo da Atividade ansiolítica e sedativa do óleo essencial das cascas de frutos de espécies do gênero Citrus.** Dissertação de mestrado apresentada à Universidade Estadual Paulista, 2007. 53p.

GRAEFF, F. G.; GUIMARÃES, F. S. **Fundamentos de Psicofarmacologia.** São Paulo: Atheneu, 2000, 240p.

GRAEFF, F. G.; BRANDÃO, M. L. **Neurobiologia das Doenças Mentais.** São Paulo: Lemos, 1997.

HADDAD, P.; EBRAHIMI, S.; HEYDARI, R.; SALEHI, P.; FAKHARI, A. Hydrodistillation - headspace solvent microextraction, a new method for analysis of the essential oil components of *Lavandula angustifolia* Mill. **Journal of Chromatography A**, v. 1098, p. 14-18, 2005.

HAJHASHEMI, V.; GHANNADI, A.; SHARIF, B. Anti-inflammatory and analgesic properties os the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. **Journal of Ethnopharmacology**. 89, p. 67-71, 2003.

HALPERN, M.; MARCOS, A. Structure and function of the vomeronasal system: an update. **Progress in Neurobiology**. v. 70, p.245-318, 2003.

HARDY, M.; KIRK-SMITH, M.; STRETCH, D. Replacement of drug treatment for insomnia by ambient odour. **Lancet**, v.346, p. 701, 1995.

HAZE, S.; SAKAI, K. e GOZU, Y. Effects of fragrance inhalation on sympathetic activity in normal adults. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 90, p. 247-253, 2002.

HO, Y-J.; EICHENDORFF, J.; SCHWARTING, R. Individual response profiles of male Wistar rats in animal models for anxiety and depression. **Behavioural Brain Research**.v. 136, p.1-12, 2002.

HODGSON, R.; HIGGINS, G.; GUTHRIE, D.; LU, S.; POND, A.; MULLINS, D.; GUZZI, M.; PARKER, E.; VARTY, G. Comparison of the V1b antagonist, SSR149415, and the CRF1 antagonsit, CP-154,526, in rodent models of anxiety and depression. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 86, p. 431-440, 2007.

ITAI, T.; AMAYASU, H.; KURIBAYASHI, M.; KAWAMURA, N.; OKADA, M.; MOMOSE, A.; TATEYAMA,T.; NARUMI, K.; UEMATSU,W.; KANEKO, S. Psychological effects of aromatherapy on chronic hemodialysis patients. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**. v.54, p. 393-397, 2000.

KOMIYA, M.; TAKEUCHI, T.; HARADA, E. Lemon oil vapor causes an anti-stress effect via modulating the 5-HT and DA activities in mice. **Behavioural Brain Research**, v 172, p. 240-249, 2006.

KOMORI, T.; MATSUMOTO, T.; MOTOMURA, E.; SHIROYAMA, T. The sleep-enhancing of valerian inhalation and sleep-shortening effect of lemon inhalation. **Chemical senses**, v. 31, p.731-737, 2006

KOSCHIER, E.; SEDY, K. Labiate essential oil affecting host selection and acceptance of *Thrips tabaci* lindeman. **Crop Protection**. V. 22,p. 929-934, p. 2003.

LEAL-CARDOSO, J.; FONTELES, M. Pharmacological effects of essential oils of plants of the Northeast of Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 71, p. 207-213, 1999.

LAVABRE, M. **Aromaterapia**. Tradução de Raffaella de Filippis. 5 ed. Rio de Janeiro: Nova Era, 2001, 172p.

LAZARINI, C.; UEMA, A.; BRANDÃO, G.; GUIMARARES, A.; BERNARDI, M. *Croton zehntneri* essential oil: effects on behavioral models related to depression and anxiety. **Phytomedicine** v. 7, p.477-481, 2000.

LEHRNER, J.; MARWINSKI, G. LEHR, S.. JOHREN, P.; DEECKE, L. Ambient odors of orange and lavender reduce anxiety and improve mood in a dental office. **Physiology and Behaviour**, v 86, p. 92-95, 2005.

MALIZIA, A. What do brain imaging studies tell us about anxiety disorders? **Journal of Psychopharmacology**. v 13, p. 372-378, 1999.

MOREIRA, D.; SOUZA, P.; KAPLAN, M.; PEREIRA, N.; CARDOSO, G.; GUIMARAES, L. Effect of leaf essential oil from *Piper solmsianum* C. DC. In mice behaviour. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 73, p. 33-37, 2001.

NOGUEIRA, E.; ROSA, G.; HARAGUCHI, M; VASSILIEFF, V. Anxiolytic effect of *Rubus brasiliensis* in mice. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 61, p. 111-117, 1998.

NAZAR, M.; JESSA, M.; PRAZNIK, A. Benzodiazepine GABA_A receptor complex ligands in two models of anxiety. **Journal of Neural Transmission**, v. 104, p. 733-746, 1997.

NAZAR, M.; SIEMIATKOWSKI, M.; CZLONKOWSKA, A.; SIENKIEWWICZ, H.; PLAZNIK, A. The role of the hippocampus and 5-HT/GABA interaction in the central effects of benzodiazepine receptor ligands. **Journal of Neural Transmission**, v. 106, p.369-381, 1999.

RABBANI, M.; SAJJADI, S.; ZAREI, H. Anxiolytic effects of *Stachys lavandulifolia Vahl* on the elevated plus-maze model of anxiety in mice. **Journal of Ethnopharmacology**. v.89, p. 271-276, 2003.

RABBANI, M.; SAJJADI, S.; VASEGHI, G.; JAFARIAN, A. Anxiolytic effects of *Echium amoenum* on the elevated plus-maze model of anxiety. **Fitoterapia**, v. 75, p.457-464, 2004.

RAMIREZ, A.; TREJO, R.; NAVARRETE, A.; GANZALEZ-TRUJANO, M.; MARTINEZ, A. Palmitone isolated from *Annona diversifolia* induces an anxiolytic-like effect in mice. **Planta Médica**, v. 8, p. 703-707, 2006.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. *et al.* **Farmacologia**. Traduzido por: Patricia Lydie Voeux e Antônio José M. S. Moreira. São Paulo: Elsevier, 2004, 904 p.

PEANA, A.; D'AQUILA, P.; CHESSA, M.; MORETTI, M.; SERRA, G.; PIPPIA, P. (-)-Linalol produces antinociception in two experimental models of pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 460, 37-41, 2003.

PULTRINI, A.; GALINDO, L.; COSTA, M.. Effects of the essential oil from *Citrus aurantium* L. in the experimental anxiety models in mice. **Life Sciences**. v. 78, p.1720-1725, 2006.

SAITOH, A.; HIROSE, N.; YAMADA, Mi.; YAMADA, Mu.; NOZAKI, C.; OKA, T.; KAMEI, J. Changes in emotional behavior of mice in the Hole- Board test after

olfactory bulbectomy. **Journal of Pharmacological Sciences**. v 102, p. 377-386, 2006.

SHAW, D.; ANEET, J.; DOHERTY, B.; LESLIE, J. Anxiolytic effects of lavender oil inhalation on open-field behaviour in rats. **Phytomedicine**, v.14, p.613-620, 2007.

SHEN, J.; NIIJIMA, Akira.; TANIDA, M.; HORII, Y.; MAEDA, K.; NAGAI, K. Olfactory stimulation with scent of lavender oil affects autonomic nerves, lipolysis and appetite in rats. **Neuroscience Letters**, v. 383,p. 188-193, 2005.

SILVA, F.; LEITE, J. Physiological modifications and increase in state anxiety in volunteers submitted to the Stroop Color-Word Interference Test: A preliminary study. **Physiology & Behaviour**, v. 70, p. 113-118, 2000.

SIMÕES, C. M.; GOSMAN, G.; SCHENKEL, E. P. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre- Florianópolis: Editora UFRGS/UFSC, 2003, 1102 p.

STROTMANN, J. Targeting olfactory neurons. **Cellular and Molecular Life Sciences**. v. 58, p. 531-537, 2001.

TREIT, D.; PINEL, J.; FIBIGER, H. Conditioned defensive burying: A new paradigm for the study of anxiolytic agents. **Pharmacology, Biochemistry and Behaviour**, v. 15, p. 619-626, 1981.

UMEZU, T. Anticonflict effects of plant-derived essential oils. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 64, p. 35-40, 1999.

UMEZU, T. Behavioral effects of plant-derived essential oils in the Geller type conflict test in mice. **The Japanese Journal of Pharmacology**, v. 83, p. 150-153, 2000.

WAJDA, M.; KIM, J.; BEKKER, A.; CUFF, G.; SEROTA, D.; SCHLAME, M.; AXELROD, D.; GUTH, A. Evaluation of Aromatherapy in treating postoperative pain: pilot study. **Pain Practice**. v.6, p. 273-277, 2006.

WHEATLEY, D. Medicinal plants for insomnia: a review of their pharmacology, efficacy and tolerability. **Journal of Psychopharmacology**, v. 19, 414-421, 2006.

YAMADA, K.; MIMAKI, Y.; SASHIDA, Y. Effects of Inhaling the vapor of *Lavandula burnatii super*-Derived essential oil and Linalool on Plasma Adrenocorticotropic Hormone (ACTH), Catecholamine and Gonadotropin Levels in experimental menopausal female rats. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**. v 28, p. 378-379, 2005.

ZOLLINGER, N.; KJELGREN, R.; KOPP, K.; CERNY-KOENIG, T.; KONIG, R. Drought responses of six ornamental herbaceous perennials. **Scientia Horticultura**. v. 109, p. 267-274, 2006.

Anexos

Anexos

ANEXO 1 – Protocolo Experimental

TRIAGEM FARMACOLÓGICA COMPORTAMENTAL

NOME PLANTA/ EXTRATO : _____ DOSE: _____
 PARTE USADA _____ VEÍCULO: _____ DATA: ___/___/___
 VIA DE ADMINISTRAÇÃO: _____
 ESPÉCIE ANIMAL: _____ SEXO: _____
 RESPONSÁVEL TÉCN.: _____

ATIVIDADE FARMACOLÓGICA	Quantificação dos efeitos (0) sem efeito, (-) efeito diminuído, (+) efeito aumentado, (++) efeito intenso				
	até 30'	1h	2h	3h	h
1 – SNC					
a – Estimulante					
Hiperatividade					
Irritabilidade					
Agressividade					
Tremores					
Convulsões					
Piloereção					
Movimento intenso das vibrissas					
Outras _____					
b – Depressora					
Hipnose					
Ptose palpebral					
Sedação					
Anestesia					
Ataxia					
Reflexo do endireitamento					
Catatonía					
Analgesia					
Resposta ao toque diminuído					
Perda do reflexo corneal					
Perda do reflexo auricular					
c - Outros comportamentos					
Ambulação					
Bocejo excessivo					
Limpeza ou <i>grooming</i>					
Levantar					
Escalar					
Vocalizar					
Sacudir a cabeça					
Contorções abdominais					
Abdução das patas do trem posterior					

Pedalar					
Estereotipia					
2 - SN AUTÔNOMO					
Diarréia					
Constipação					
Defecação					
Respiração forçada					
Lacrimejamento					
Micção					
Salivação					
Cianose					
Tono muscular					
Força para agarrar					
3 - MORTE					

Observações: _____

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)