



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

MONALISA RIBEIRO SILVA

ESTUDO COMPARATIVO DOS EFEITOS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE
Cymbopogon citratus E *Cymbopogon winterianus* (POACEAE) NO SISTEMA
NERVOSO CENTRAL DE CAMUNDONGOS.

FORTALEZA

2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

MONALISA RIBEIRO SILVA

ESTUDO COMPARATIVO DOS EFEITOS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE
Cymbopogon citratus E *Cymbopogon winterianus* (POACEAE) NO SISTEMA
NERVOSO CENTRAL DE CAMUNDONGOS.

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

Orientadora: Profa. Dra. Glauce Socorro de Barros Viana

FORTALEZA

2009

R37e Silva, Monalisa Ribeiro

Estudo comparativo dos efeitos dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon winterianus* (Poaceae) no sistema nervoso central de camundongos / Monalisa Ribeiro Silva. – Fortaleza, 2009.

124f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Glauce Socorro de Barros Viana
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará.
Faculdade de Medicina. Curso de Pós-Graduação em Farmacologia.

1. Cymbopogon 2. Óleos Voláteis 3. Anticonvulsivantes
4. Hipnóticos e Sedativos 5. Antidepressivos I. Viana, Glauce Socorro de Barros (Orient.) II. Título.

CDD: 661.806

MONALISA RIBEIRO SILVA

ESTUDO COMPARATIVO DOS EFEITOS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE
Cymbopogon citratus E *Cymbopogon winterianus* (POACEAE) NO SISTEMA
NERVOSO CENTRAL DE CAMUNDONGOS.

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

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Glauce Socorro de Barros Viana (Orientadora)

Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra Danielle Silveira Macêdo

Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Luzia Kalyne Almeida Moreira Leal

Universidade Federal do Ceará

Dedico este trabalho ao que há de mais precioso na minha vida:

À Deus,

Aos meus pais Idelfonso e Maria Zenaide, que são exemplos de dignidade, força e determinação, que sempre me apoiaram e me ensinaram o caminho da prosperidade, respeito pela vida e pelos nossos semelhantes, a razão da minha existência.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, razão da minha vida, que esteve sempre ao meu lado concedendo-me força e iluminação para a realização deste trabalho, sem as quais eu não teria conseguido.

À **Profa. Dra. Glauce Socorro de Barros Viana**, amada orientadora, pessoa a quem tenho respeito e admiração, por ser uma grande pesquisadora, genitora do Laboratório de Neurofarmacologia e por ter me acolhido despertando em mim a “arte de pesquisar”. Agradeço pelo imenso carinho, pela paciência e acima de tudo por confiar em mim sem nem ao menos nos conhecermos. Agradeço pelo tempo e orientação dedicados, por ser uma pedra firme que serviu de base para o meu crescimento profissional.

Ao **Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa**, amigo, orientador na Iniciação Científica e coordenador do Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais – LPPN, local onde foi realizada a extração das substâncias. Agradeço pelo carinho, pelos ensinamentos e por ter cedido gentilmente as substâncias fundamentais para a realização deste estudo.

Às professoras, **Gisela Costa Camarão**, **Luzia Kalini Almeida Moreira Leal** e **Daniele Silveira Macêdo**, por terem gentilmente aceito o convite para participar da banca examinadora desta dissertação.

Aos professores do curso de Pós-graduação em Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, em especial, **Prof. Dr Hélio Rola**, **Profa. Dra. Geanne Matos**, **Profa. Dra. Helena Serra Azul**, **Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes**, **Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço**, pelos conhecimentos transmitidos.

A todos os meus amigos da Pós-graduação, em especial ao **Rafael Matos Ximenes** e ao **Daniel Luna Lucetti** pela amizade e incentivo durante esta caminhada.

Às técnicas do Laboratório de Biofisiologia da Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte - FMJ, **Xênia** e **Ivna**, pessoas a quem tenho um carinho imenso, agradeço pela cooperação, pelo apoio e pela companhia constante e animadora.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, em especial a **Aura**, pela paciência que sempre teve comigo e pela dedicação e eficiência no trabalho.

A CAPES pelo apoio financeiro.

A Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte – FMJ por ter me acolhido gentilmente para a realização dos experimentos.

Emfim, a todos que de alguma maneira direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, o meu muito obrigada!!!

*“Eu aprendi que a melhor sala de aula
do mundo está aos pés de
uma pessoa mais velha”*

William Shakespeare

RESUMO

ESTUDO COMPARATIVO DOS EFEITOS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Cymbopogon citratus* E *Cymbopogon winterianus* (POACEAE) NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE CAMUNDONGOS.

O principal objetivo do trabalho atual foi estudar de maneira comparativa o efeito de dois óleos essenciais, isolados das folhas de *Cymbopogon citratus* (Cc) e de *Cymbopogon winterianus* (Cw), ervas medicinais pertencentes à família do Poaceae e comuns na região do nordeste brasileiro. Os efeitos dos OEs foram estudados no sistema nervoso central (SNC) de camundongos. Para isso os camundongos de ambos os sexos (25 g) foram tratados agudamente com as doses de 25, 50, 100 e 200 mg/kg, i.p. e submetidos aos testes de convulsões induzidas quimicamente (Pilocarpina, PTZ e Estriquinina), tempo de sono induzido por barbitúrico (para avaliar ação sedativa), campo aberto e *rota rod* (para avaliar atividade locomotora e coordenação motora), labirinto em cruz elevado e nado forçado (para avaliar atividades ansiolítica e antidepressiva, respectivamente). Os resultados mostraram que no modelo de convulsões induzidas por pilocarpina os efeitos nos animais machos foram mais proeminentes com Cc (200 mg/kg), que aumentou a latência da primeira convulsão (2.2 vezes) e a latência de morte (3.9) quando comparado aos controles. Nas fêmeas um efeito maior foi observado com Cw (200 mg/kg) na latência de morte (aumento 3.9). Ambos os OEs foram mais eficazes no modelo de convulsões induzidos por PTZ, aumentando nos machos a latência da primeira convulsão em 5.9 (Cc) e 2.9 (Cw) e a latência de morte em 15.6 (Cc) e 21.1 (Cw). Efeitos semelhantes, porém menores, foram observados nas fêmeas. Somente o OE de Cw foi de algum modo mais eficaz nas convulsões induzidas por estriquinina e os efeitos foram observados principalmente na latência de morte. Ambos os OEs diminuíram significativamente o tempo de latência para dormir e a duração do sono no teste do sono induzido por barbitúrico, indicativo de atividade sedativa. O efeito das drogas neste último parâmetro foi dose-dependente e o OE de Cw mostrou-se mais potente. Os OEs diminuíram a atividade locomotora principalmente em suas doses mais elevadas, como avaliada pelos testes de campo aberto e *rota rod*, respectivamente. A menos que para a diminuição no número de entrada nos braços abertos com doses mais elevadas nenhum outro efeito foi detectado no teste do labirinto em cruz elevado usado para a avaliação de efeitos ansiolíticos. Os efeitos depressores do SNC de ambos os OEs foram confirmados pelo teste do nado forçado onde os OEs e a imipramina usada como droga de referência aumentaram o tempo de imobilidade. Nos testes *in vitro* os OEs de Cc e Cw diminuíram drasticamente a liberação da mieloperoxidase MPO (um biomarcador de inflamação) dos neutrófilos humanos, sugerindo uma potente ação antiinflamatória em doses muito baixas como 0.01 µg/ml. Entretanto, os OEs não apresentaram atividade sequestradora de radicais livres no ensaio de DPPH. Os resultados mostraram que os OEs de Cc e Cw apresentaram efeitos sedativos e hipnóticos nas doses usadas, sendo consideradas potentes drogas depressoras do SNC. Adicionalmente, alguns de seus efeitos tais como o efeito anticonvulsivante parece está associado a uma ação de GABAérgica.

Palavras-chave: *Cymbopogon citratus*. *Cymbopogon winterianus*. Óleos essenciais. Efeito anticonvulsivante. Efeito sedativo. Efeito antidepressivo.

ABSTRACT

COMPARATIVE STUDY OF THE EFFECT OF THE ESSENTIAL OILS FROM *Cymbopogon citratus* AND *Cymbopogon winterianus* (POACEAE) IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM OF MICE.

The main objective of the present work was to study in a comparative manner the effect of two essential oils, isolated from the leaves of *Cymbopogon citratus* (Cc) and *Cymbopogon winterianus* (Cw), medicinal herbs that belong to the Poaceae family and are common to the Northeast Region of Brazil. Their EOs effects were studied on the mice central nervous system (CNS). For that mice from both sexes (25 g) were acutely treated with the doses of 25, 50, 100 and 200 mg/kg, i.p., and submitted to the tests of chemically induced convulsions (pilocarpine, PTZ and strychnine-induced convulsions), barbiturate-induced sleeping time (to evaluate sedative actions), open field and rota rod (to evaluate locomotor activity and motor coordination), plus maze and forced swimming tests (to assess anxiolytic and antidepressant activities respectively). The results showed that in the model of pilocarpine-induced convulsions the effects in males were more prominent with Cc (200 mg/kg) that increased the latency to the 1st convulsion (2.2 times) and the latency to death (3.9) as compared to controls. In females a greater effect was observed with Cw (200 mg/kg) on the latency to death (3.9 increase). Both EO were more efficacious on the PTZ-induced convulsion model, increasing in males the latency to the 1st convulsion in 5.9 (Cc) and 2.9 (Cw) and in 15.6 (Cc) and 21.1 (Cw) times the latency to death. Similar, but lower effects were seen in females. Interestingly, only Cw was somehow more effective on the strychnine-induced convulsions and effects were mainly on the latency to death. Both EOs significantly decreased the latency time to sleep and sleep duration in the barbiturate-induced sleeping time test, indicative of sedative action. The drug's effect in this last parameter was dose-dependent and Cw was somehow more potent. The EOs decreased the locomotor activity mainly at their highest doses, which also lead to falls, as assessed by the open field and rota rod tests, respectively. Unless for the decrease in the number of entrance in the open arms with higher doses no other effects were detected in the elevated plus maze test used for the evaluation of anxiolytic effects. The CNS depressant effects of both EOs were further confirmed by the forced swimming test where the EOs, unlikely imipramine used as the reference drug, increased the immobility time. In tests in vitro Cc and Cw drastically decreased the myeloperoxidase MPO (a biomarker for inflammation) release from human neutrophils suggesting a potent anti-inflammatory action at doses as low as 0.01 µg/ml. However, neither of the EOs present any radical scavenging activity in the DPPH assay. All together the results showed that the EOs of Cc and Cw present indeed sedative and hypnotic effects and at the range of doses used are potent CNS depressant drugs, making them potentially useful drugs, especially as sedative and hypnotic. Besides, some of their effects such as the anticonvulsant one seems to be associated to a GABAergic action similar to that of a DZP-type compound.

Key-words: *Cymbopogon citratus*. *Cymbopogon winterianus*. Essential oils. Anticonvulsant effect. Sedative effect. Antidepressant effect.

LISTA DE FIGURAS

1. Biossíntese de Terpenos.	23
2. Biossíntese dos Fenilpropanóides.	23
3. <i>Cymbopogon citratus</i> .	24
4. <i>Cymbopogon winterianus</i> .	27
5. Cromatograma do óleo essencial de <i>C. citratus</i> .	57
6. Cromatograma do óleo essencial de <i>C. winterianus</i> .	58
7. Camundongos Swiss machos receberam o veículo (água destilada + Cremofor 0.5%) ou diferentes doses do óleo essencial de <i>C. citratus</i> (50, 100 e 200 mg/kg, i.p.), 30 min antes de Pilocarpina (350 mg/kg i.p.).	60
8. Camundongos Swiss machos receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de <i>C. winterianus</i> i.p., 30 min antes de Pilocarpina (350 mg/kg i.p.).	61
9. Camundongos Swiss fêmeas receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do óleo essencial de <i>C. citratus</i> (50, 100 e 200 mg/kg, i.p.) 30 min antes de (350 mg/kg i.p.).	63
10. Camundongos Swiss fêmeas receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de <i>C. winterianus</i> , i.p., 30 min antes de (350 mg/kg i.p.).	64
11. Camundongos Swiss machos receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de <i>C. citratus</i> , i.p., 30 min antes de PTZ (85 mg/kg i.p.).	66
12. Camundongos Swiss machos receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de <i>C. winterianus</i> , i.p., 30 min antes de PTZ (85 mg/kg i.p.).	67
13. Camundongos Swiss fêmeas receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de <i>C. citratus</i> , i.p., 30 min antes de PTZ (85 mg/kg i.p.).	69
14. Camundongos Swiss fêmeas receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de <i>C. winterianus</i> , i.p., 30 min antes de PTZ (85 mg/kg i.p.).	70
15. Camundongos Swiss machos receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de <i>C. citratus</i> , i.p., 30 min antes de Estriquinina (2mg/kg i.p.).	72

- 16.** Camundongos Swiss machos receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de *C. winterianus*, i.p., 30 min antes de Estriquinina (2mg/kg i.p.). 73
- 17.** Camundongos Swiss fêmeas receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de *C. citratus*, i.p., 30 min antes de Estriquinina (2mg/kg i.p.). 75
- 18.** Camundongos Swiss fêmeas receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de *C. winterianus*, i.p., 30 min antes de Estriquinina (2mg/kg i.p.). 76
- 19.** Camundongos Swiss machos receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses dos OEs + DZP, i.p., 30 min antes de PTZ (85 mg/kg i.p.). 78
- 20.** Efeito do tratamento agudo com OE de *C. citratus*, 30 min após sua administração intraperitoneal, na duração do sono barbitúrico (tiopental sódico 40 mg/kg i.p.) avaliado em camundongos machos (n=40). A duração do teste foi de no máximo 180 min. 80
- 21.** Efeito do tratamento agudo com OE de *C. winterianus*, 30 min após sua administração intraperitoneal, na duração do sono barbitúrico (tiopental sódico 40 mg/kg i.p.) avaliado em camundongos machos (n=40). A duração do teste foi de no máximo 180 min. 81
- 22.** Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus* no modelo do campo aberto avaliado em camundongos machos (n=48). 83
- 23.** Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus* sobre o número de *grooming* no modelo do campo aberto avaliado em camundongos machos (n=48). 84
- 24.** Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus* sobre o número de *rearing* no modelo do campo aberto avaliado em camundongos machos (n=48). 85
- 25.** Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus*, sobre o número de entradas no braço aberto (NEBA) no modelo do labirinto em cruz elevado avaliado em camundongos machos (n=48). 87
- 26.** Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus*, sobre o número de entradas no braço fechado (NEBF) no modelo do labirinto em cruz elevado avaliado em camundongos machos (n=48). 88
- 27.** Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus*, sobre o número de entradas no braço aberto (NEBA) no modelo do labirinto em cruz elevado avaliado em camundongos machos (n=48). 89

winterianus, sobre o tempo de permanência no braço aberto (TPBA) no modelo do labirinto em cruz elevado avaliado em camundongos machos (n=48).

28. Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus*, sobre o tempo de permanência no braço fechado (TPBF) no modelo do labirinto em cruz elevado avaliado em camundongos machos (n=48). 90

29. Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus* no Teste do Nado Forçado avaliado em camundongos machos (n=48). 94

30. Avaliação dos Efeitos dos OEs de *C. citratus* (Cc) e *C. winterianus* (Cw), nas concentrações de 200 e 400 µg/mL na avaliação da capacidade seqüestradora de radicais livres determinada por ensaios de DPPH. 95

31. Efeitos dos OEs de *C. citratus* (Cc) e *C. winterianus* (Cw), nas concentrações de 1, 10 e 100 µg/mL, na liberação de LDH de neutrófilos humanos *in vitro*, indicando a ausência de citotoxicidade. 96

32. Efeitos dos OEs de *C. citratus* (Cc) e *C. winterianus* (Cw), nas concentrações de 0.01, 0.1 e 1 µg/mL, inibindo a liberação de MPO de neutrófilos humanos *in vitro*. 97

LISTA DE QUADROS

1. Modelos experimentais de Epilepsia.	34
2. Esquema do Modelo de Convulsão.	48
3. Esquema do Teste de Campo Aberto.	49
4. Esquema do Teste do Labirinto em Cruz Elevado.	50
5. Esquema do Teste de <i>Rota Rod</i> .	51
6. Esquema do Teste do Nado Forçado.	52
7. Esquema do Teste de Sono induzido por barbitúrico.	53

LISTA DE TABELAS

1. Constituintes químicos e suas respectivas porcentagens no óleo essencial das folhas frescas de *Cymbopogon citratus*. 57
2. Constituintes químicos e suas respectivas porcentagens no óleo essencial das folhas frescas de *Cymbopogon winterianus*. 58
3. Efeitos dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* nas convulsões induzidas com Pilocarpina em camundongos machos. 59
4. Efeitos dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* nas convulsões induzidas com Pilocarpina em camundongos fêmeas. 62
5. Efeitos dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* nas convulsões induzidas com PTZ em camundongos machos. 65
6. Efeitos dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* nas convulsões induzidas com PTZ em camundongos fêmeas. 68
7. Efeitos dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon winterianus* nas convulsões induzidas com Estriquinina em camundongos machos. 71
8. Efeitos dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon winterianus* nas convulsões induzidas com Estriquinina em camundongos fêmeas. 74
9. Efeitos da potencialização com DZP no tratamento com os óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* nas convulsões induzidas com PTZ em camundongos machos. 77
10. Avaliação da coordenação motora – Teste do *Rota Rod* em camundongos. 92

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

±	Mais ou menos
%	Porcentagem
°C	Grau (s) Centígrado (s)
µg	Micrograma
α	Alfa
β	Beta
ANOVA	Análise de variância
CBZ	Cabarmazepina
Cc	<i>Cymbopogon citratus</i>
CG	Cromatografia gasosa
CO₂	Gás carbônico
Cw	<i>Cymbopogon winterianus</i>
DMAPP	Dimetilalilpirofosfato
DPPH	Radical 1,1- difenil-2-picrilhidrazila
DZP	Diazepam
EM	Espectrômetro de massa
FAL	Fenilalanina amonialiase
HMGCCoA	3-hidróxi-3-metilglutaril-CoA
IPP	Isopentenil-pirofosfato
LDH	Lactato desidrogenase
LPPN	Laboratório de Pesquisa de Plantas Mediciniais
MPO	Mieloperoxidase
OE	Óleo essencial
OMS	Organização Mundial da Saúde
PTZ	Pentilenotetrazol
P350	Pilocarpina
SNC	Sistema nervoso central
STR	Estriquinina
TR	Tempo de retenção
VAL	Ácido valpróico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 Óleos essenciais	19
1.1.1 Biossíntese e caracterização	22
1.2 <i>Cymbopogon citratus</i>	24
1.3 <i>Cymbopogon winterianus</i>	27
1.4 Distúrbios Neurológicos	30
1.4.1 Epilepsia	30
1.4.1.1 Modelos experimentais de epilepsia	32
1.4.2 Ansiedade	35
1.4.3 Depressão	36
1.4.3.1 Modelos experimentais de ansiedade e depressão	38
2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA	39
2.1 Relevância e justificativa	40
3 OBJETIVOS	42
3.1 Objetivo geral	43
3.2 Objetivos específicos	43
4 MATERIAL E MÉTODOS	44
4.1 Material vegetal	45
4.2 Extração do óleo essencial	45
4.3 Identificação dos constituintes	46
4.4 Animais	46
4.5 Drogas	46
4.6 Protocolos experimentais	47
4.6.1 Convulsões induzidas por Pilocarpina, Pentilenotetrazol e Estriquinina	47
4.6.2 Teste do Campo aberto	48
4.6.3 Teste do Labirinto em cruz elevado	49
4.6.4 Teste do <i>Rota rod</i>	50
4.6.5 Teste do Nado forçado	51
4.6.6 Teste de Indução do sono por barbitúrico	51
4.6.7 Determinação da capacidade sequestradora do radical DPPH <i>in vitro</i>	53
4.6.8 Teste de citotoxicidade em neutrófilos humanos: atividade da Lactato desidrogenase (LDH)	54
4.6.9 Liberação da enzima Mieloperoxidase (MPO) em neutrófilos humanos	54
4.6.10 Análise estatística	55
5 RESULTADOS	56
5.1 Composição Química dos Óleos Essenciais de <i>Cymbopogon citratus</i> (Cc) e <i>Cymbopogon winterianus</i> (Cw)	57
5.2 Estudo Comportamental	59

5.2.1 Convulsões induzidas por Pilocarpina em camundongos pré-tratados ou não com os óleos essenciais de <i>C. citratus</i> e <i>C. winterianus</i>	59
5.2.2 Convulsões induzidas por Pentilenotetrazol (PTZ) em camundongos pré-tratados ou não com os óleos essenciais de <i>C. citratus</i> e <i>C. winterianus</i>	65
5.2.3 Convulsões induzidas por Estriquinina em camundongos pré-tratados ou não com os óleos essenciais de <i>C. citratus</i> e <i>C. winterianus</i> .	71
5.2.4 Efeito da potencialização com Diazepam no tratamento agudo dos óleos essenciais de <i>C. citratus</i> e <i>C. winterianus</i> no teste de convulsões induzidas por Pentilenotetrazol (PTZ) em camundongos machos	77
5.2.5 Avaliação da atividade hipnótico/sedativa, ansiolítica e antidepressiva dos óleos essenciais de <i>C. citratus</i> e <i>C. winterianus</i>	79
5.2.5.1. Efeito do tratamento agudo dos óleos essenciais de <i>C. citratus</i> e <i>C. winterianus</i> no sono Induzido por barbitúrico	79
5.2.6 Estudo dos efeitos comportamentais dos óleos essenciais de <i>C. citratus</i> e <i>C. winterianus</i> no teste do Campo Aberto	82
5.2.7 Avaliação do efeito comportamental dos OEs de <i>C. citratus</i> e <i>C. winterianus</i> no Teste de Labirinto em Cruz Elevado	86
5.2.8 Avaliação da coordenação motora – Teste do <i>Rota Rod</i>	91
5.2.9 Avaliação da atividade antidepressiva – Nado Forçado	93
5.2.10 Capacidade seqüestradora de radicais livres dos óleos essenciais de <i>C. citratus</i> e <i>C. winterianus</i> determinada por ensaios de DPPH <i>in vitro</i> .	95
5.2.11 Efeitos dos óleos essenciais de <i>C. citratus</i> e <i>C. winterianus</i> na liberação de Lactato desidrogenase (LDH) de neutrófilos humanos <i>in vitro</i>	96
5.2.12 Efeitos dos óleos essenciais de <i>C. citratus</i> e <i>C. winterianus</i> na liberação de Mieloperoxidase (MPO) em neutrófilos humanos <i>in vitro</i>	97
6 DISCUSSÃO	98
7 CONCLUSÃO	110
REFERÊNCIAS	112

1 INTRODUÇÃO

1.1 Óleos essenciais

Óleos essenciais são compostos orgânicos de estrutura química heterogênea que se apresentam, em certos gêneros de plantas superiores e inferiores. São líquidos viscosos e podem ou não exalar odor (BELL; CHARWOOD, 1980; SARTORATTO et al., 2004).

As denominações atribuídas a esses óleos devem-se às suas características físico-químicas. Como evaporam quando expostos ao ar, em temperaturas comuns, sua principal característica, são chamados óleos voláteis e por apresentarem aroma intenso e na maioria das vezes agradável constituindo verdadeiras “essências”, óleos essenciais. Por fim, devido ao fato de serem solúveis em solventes orgânicos, como o éter, por exemplo, podem ser denominados de óleos etéreos (ROBBERS et al., 1997; SIMÕES et al., 2000; VITTI; BRITO, 2003).

O termo “óleo volátil”, conforme Busatta (2006) tem sido mais usado devido à relação com as propriedades físico-químicos da planta, já que “óleo essencial” pode designar também produtos odorantes não formados no vegetal, obtidas através da hidrólise enzimática de heterosídeos. São originados do metabolismo secundário das plantas e possuem composição química complexa, destacando-se a presença de terpenos e fenilpropanóides, preponderando os terpenóides (GONÇALVES et al., 2003; SILVA et al., 2003).

Para Morais (2006) os óleos essenciais constituem, de forma geral, uma mistura muito complexa de hidrocarbonetos, álcoois e compostos aromáticos, existentes em todo tecido vivo das plantas (normalmente na casca, caule, flores, folhas, frutos, rizomas e sementes). Segundo Simões e Spitzer (1999), embora todos os órgãos de uma planta possam acumular óleos essenciais, sua composição pode variar conforme a localização, a exemplo do óleo das cascas de canela que é rico em aldeído cinâmico, enquanto, que as folhas e raízes dessa planta são ricas, respectivamente, em eugenol e cânfora.

Siqui et al. (2000) ressaltam que esses óleos constituem os elementos essenciais contidos em muitos órgãos vegetais e estão relacionados com diversas funções necessárias à sobrevivência vegetal exercendo papel fundamental na defesa contra microrganismos. A composição química do óleo essencial pode ser

bastante variável, de acordo com a diversidade genética, o habitat e os tratos culturais (LEAL et al., 2001).

Óleos essenciais apresentam normalmente, um ou dois compostos majoritários na sua constituição. São produzidos no metabolismo secundário das plantas, variando a intensidade e a composição de acordo com a espécie e fatores ambientais, geralmente específicos para um determinado órgão e característico para o estágio de desenvolvimento da mesma. Podem ser encontrados em pêlos glandulares (Lamainaceae), canais oleíferos (Apiaceae), bolsas lisígenas ou esquisolisígenas (Pinaceae, Rutaceae) e células parenquimáticas diferenciadas (Lauraceae, Piperaceae, Poaceae), e podem estar presentes em diferentes órgãos da planta, como flores, caules, raízes, frutos e folhas, entre outros (SIMÕES; SPITZER, 2004).

O ambiente no qual o vegetal se desenvolve e o tipo de cultivo influi na composição química dos óleos essenciais. A temperatura, umidade relativa do ar, duração total da exposição ao sol e o regime de ventos exercem influência direta, principalmente nas espécies que possuem estruturas histológicas de estocagem de óleos na superfície. O grau de hidratação do terreno e a presença de nutrientes também podem influenciar na composição deles (SIMÕES; SPITZER, 2004).

Os óleos essenciais podem ser obtidos através de diferentes processos, dependendo da localização no vegetal, quantidade e das características requeridas para o produto final. Os processos usuais são: prensagem ou expressão; destilação por arraste a vapor; hidrodestilação; extração com solventes voláteis e CO₂ supercrítico (SEMEN, 2005).

Dentre as técnicas supracitadas, destacam-se a destilação por arraste a vapor e extração com solventes voláteis, por serem de extrema simplicidade e reduzido custo. Outros métodos podem ser utilizados para a obtenção desses óleos, como por exemplo: extração por soxhlet; extração por maceração e a extração por ultrassom (BUSATTA, 2006; WATENABE et al., 2006). Para a avaliação da composição química dos óleos essenciais tem-se que os avanços das técnicas analíticas instrumentais, aliadas à simplicidade, precisão e rapidez, tornaram a cromatografia gasosa (CG) um dos processos mais difundidos para análises químicas, por ser uma técnica de separação eficiente para esclarecer uma determinada estrutura, tanto na indústria quanto nos laboratórios de pesquisa científica. Diversos pesquisadores destacam a cromatografia gasosa entre as

melhores ferramentas analíticas e de extrema utilidade na análise de misturas complexas (FALSENJAK et al., 1987; KUSTRAK; VELICKOVIC et al., 2002; RADULESCU et al., 2004; VÁGI et al., 2005; AVATO et al., 2005).

No que concerne à qualidade e ao acondicionamento de um óleo essencial, especial atenção deve ser reservada quando da sua aquisição para evitar um produto adulterado. Quanto ao acondicionamento por serem fotossensíveis devem ficar armazenados em frascos de cor âmbar (mais comum) ou azul cobalto. A observação minuciosa da cor e odor é de suma importância (BRUNETON, 1993; LAVABRE, 1997).

Os óleos essenciais são produtos de toxicidade elevada, tornando o uso abusivo e sem orientação inaceitável. O grau da toxicidade dependerá da dose utilizada de óleo, em alguns casos dosagens baixas acarretam intoxicação levando a uma sensibilidade individual que pode provocar desde sensibilização, num primeiro momento, alergias, por contatos consecutivos, e reações de fotossensibilidade até problemas mais graves, principalmente quando utilizados por via oral (SIMÕES, 1999; MORAIS, 2006).

Estudos indicam que a toxicidade de alguns componentes dos óleos voláteis constitui uma proteção contra predadores e infestantes. O mentol e a mentona são inibidores de crescimento de vários tipos de larvas. Além disso, alguns óleos essenciais podem causar irritações em alguns predadores fazendo-os desistir do ataque. Os óleos essenciais são empregados para diversas finalidades, no entanto, apesar de apresentar várias características benéficas, não podem ser descartados os efeitos tóxicos acarretados por estas substâncias que podem acarretar desde uma simples reação cutânea a efeitos psicotrópicos (ROBBERS et al., 1997; SIMÕES et al., 2000).

O uso terapêutico de óleos essenciais tem se expandido por todo o mundo, sendo amplamente utilizados contra várias doenças inflamatórias, alérgicas, reumáticas e artrite. Até então tem sido estabelecido cientificamente que cerca de 60% dos óleos essenciais possuem propriedades antifúngicas e 35% exibem propriedades antibacterianas (MARUYAMA et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2006).

Dentre as espécies produtoras de óleos essenciais que contribuem significativamente no volume mundial comercializado, pode-se destacar a menta (*Mentha piperita*), a citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.), o capim-santo

(*Cymbopogon citratus*), o eucalipto (*Eucalyptus sp.*), a rosa (*Rosa damascena*), o gerânio (*Pelargonium graveolens*), a lavanda (*Lavandula officinalis*), a camomila (*Chamomilla recutita*), o sândalo (*Santalum album*), a manjerona (*Origanum majorana*) e sálvia (*Salvia officinalis*) (GIRARD, 2005).

1.1.1 Biossíntese e caracterização

As plantas possuem dois tipos de metabolismo. O primário constitui a formação das principais macromoléculas, isto é, das proteínas, dos carboidratos, lipídeos e ácidos nucleicos. O metabolismo secundário produz múltiplos compostos que não são considerados essenciais, porém, garantem vantagem para a sobrevivência da planta. Esses metabólicos têm principalmente função de atração e de defesa (SANTOS, 2004).

Os constituintes dos óleos essenciais são agrupados em duas classes quimicamente distintas: terpenóides e fenilpropanóides. Os terpenóides são constituídos de duas ou mais moléculas de isopreno e ocorrem de forma mais abundante nas espécies produtoras de óleo essencial, sendo mais freqüente os monoterpenos (cerca de 90% dos óleos essenciais) e sesquiterpenos (SIMÕES; SPTIZER, 2004).

Os terpenóides são sintetizados via mevalonato no citoplasma, o qual é formado por condensação de uma unidade da acetoacetyl-CoA com a acetyl-CoA, seguida de uma hidrólise, formando o 3-hidróxi-3-metilglutaril-CoA (HMGCoA). Em seguida, o HMG-CoA é reduzido por um processo que depende de NADPH e é catalisado pela HMGCoA-redutase a mevalonato que, por sua vez, é convertido em isopentenil-pirofosfato (IPP) e seu isômero dimetilalilpirofosfato (DMAPP). O IPP e o DMAPP condensam-se formando o transgeranilpirofosfato, que dará origem aos monoterpenos e sesquiterpenos. Com a polimerização, são formadas cadeias crescentes de cinco em cinco átomos de carbono, conforme a figura 1 (SANTOS, 2004).

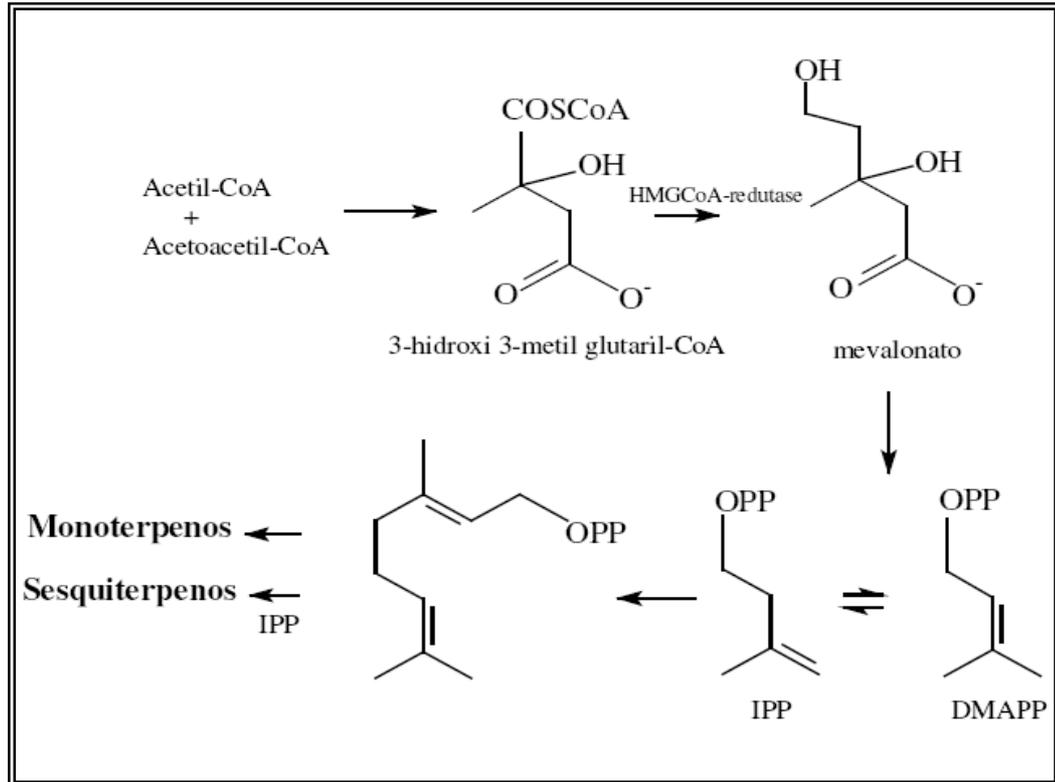


Figura 1. Biossíntese de Terpenos.

Os fenilpropanóides são derivados da rota que inicia com a formação do ácido chiquímico, dando origem à fenilalanina e a tirosina que, por sua vez, com a ação da enzima fenilalanina amonialiase (FAL), perde uma molécula de amônia resultando na formação dos ácidos cinâmico e *p*-cumárico, respectivamente (Figura 2). Portanto, por meio de várias reações são formados os fenilpropanóides, tais como eugenol e aldeído cinâmico, entre outros (ROBBERS et al., 1997).

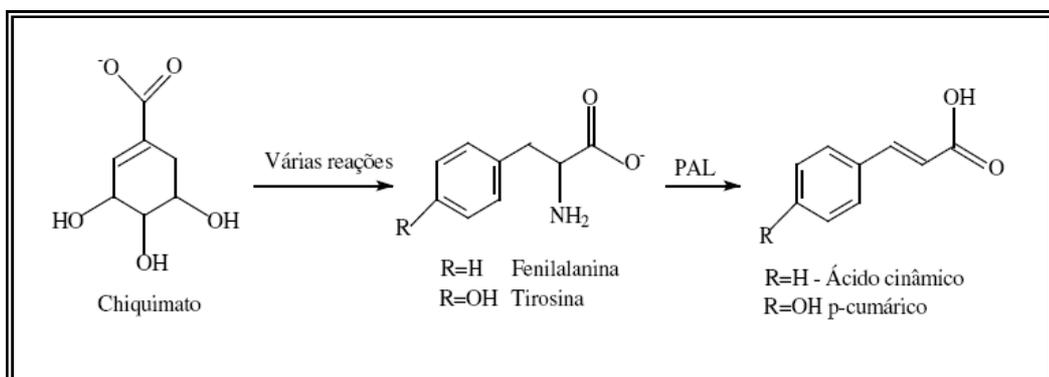


Figura 2. Biossíntese dos Fenilpropanóides.

Lima et al. (2003) avaliando a influência de fatores abióticos na produção de terpenóides, constataram que a baixa intensidade luminosa diminuiu a produção de

monoterpenos. Também concluíram que pequenas variações diárias de temperaturas estimularam a produção de terpenóides, enquanto que valores extremos causaram sua redução e o aumento do teor de nitrogênio e fósforo no solo favoreceram um maior rendimento.

Castro et al. (2004) analisando cinco amostras de mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) em localidades diferentes do estado de Minas Gerais, nas mesmas condições de cultivo, observaram que houve uma diferença significativa na quantidade e na composição do óleo essencial estudado. Atribuíram o fato a vários fatores, como constituição genética das plantas que influenciam na produção de determinados metabólicos, época de colheita, idade da planta, horário do dia da coleta, variedades das espécies, condições climáticas e de solo.

1.2 *Cymbopogon citratus*

O *Cymbopogon citratus* é uma espécie vegetal originária da Índia pertencente à família Poaceae (Gramineae). Constitui em uma erva perene (Figura 3), que forma touceiras compactas e robustas de até 1,20 m de altura, com rizoma semi-subterrâneo e sua propagação é assexuada por divisão de touceiras e realizada a campo (COSTA et al., 2005).



Figura 3. *Cymbopogon citratus*.

A planta tem sido cultivada no Brasil de forma artesanal em pequenos canteiros. Nos últimos anos, entretanto, a abrupta expansão da medicina alternativa provocou o rápido crescimento na demanda por folhas frescas e secas do *Cymbopogon*. Esses fatores fizeram com que as áreas para cultivo dessa gramínea se expandissem na mesma proporção para atender essa demanda (VIDA et al., 2006).

Diversos clones de *Cymbopogon citratus* são cultivados para produção comercial de óleo essencial, conhecido internacionalmente como óleo de “Lemon grass”. Essa essência é largamente empregada como agente aromatizante em perfumaria, indústria cosmética e alimentícia por seu forte odor de limão, bem como para obtenção do citral, seu principal constituinte. Atualmente, o óleo essencial dessa planta vem sendo utilizado também como feromônio artificial para captura de abelhas, pois proporciona um aumento real na captura e povoamento deles, o qual se torna de suma importância visto que a aquisição de novos enxames possui altos valores comerciais (CARVALHO et al., 2005).

O componente mais importante do óleo essencial do *Cymbopogon citratus* é o citral (47% a 85%), este constituinte é uma mistura de isômeros, geranial (α -citral) e neral (β -citral), acompanhado em menor quantidade pelo mirceno (SIDIBE et al., 2001).

Batista-Pereira et al. (2006) e Tapia et al. (2007) afirmaram que em menor proporção já foram identificados outros compostos como: canfeno, citronelal, citronelol, farnesol, geraneol, limoneno, linalol, mentol, α -pineno, β -pineno e terpineal. Nascimento et al. (2003) salientaram que são usados para fins de obtenção de óleo essencial, as folhas tanto frescas quanto secas e o seu rendimento é de 0,28 a 0,50% da massa fresca. Os autores recomendam que a colheita do *Cymbopogon citratus* seja realizada no horário de 08:00 às 13:00 horas quando é observado uma maior concentração de citral, pois as altas temperaturas influenciam na qualidade do óleo.

Dentre as atividades biológicas registradas da espécie *Cymbopogon citratus* destacam-se: efeito hipotensor e antiinflamatório da infusão das suas folhas testado em ratos (VIANA et al., 2000), ação fungicida do óleo essencial obtido das suas folhas contra *Aspergillus Níger* (BARATTA et al., 1998), *Aspergillus fumigatus* e *Cladosporium trichoides* (KISHORE et al., 1993), *Didymella bryoniac* (FIORI et al., 2000), *Aspergillum flavius* (MISHRA; DUBEY et al., 1994), sendo que esse último

mostrou efeito superior ao promovido pelos fármacos fungicidas sintéticos, tais como, Agrosan, Cerosan, Agrosim, Bavistin e Emison, bem como ação antibacteriana contra organismos g-positivos e g-negativos (ONAWUNMI; OGULANA et al., 1986).

A composição química e o rendimento em óleo essencial de *C. citratus* podem ser variáveis, a depender da variabilidade genética intra-específica, habitat, horário de colheita e os cuidados com o cultivo (LEAL et al., 2001).

Por outro lado, a agricultura orgânica é conceituada como a produção de alimentos oriundos dos vegetais e animais sem a utilização de agrotóxicos, fertilizantes sintéticos, reguladores de crescimento e aditivos para a alimentação animal e/ou outros agentes contaminantes, através de um conjunto de sistemas de produção com enfoque holístico, que buscam a maximização dos benefícios sociais, a auto-sustentação, a redução/eliminação da dependência de insumos, energia não renovável e a preservação do ambiente mediante a otimização do uso de recursos naturais e socioeconômicos disponíveis (MELLO et al., 2003).

Já o manejo biodinâmico trata a planta não só nas suas necessidades físicas, mas procurando alimentar seu campo energético com preparados biodinâmicos (KEMP, 2004).

Lavabre (1997) cita como ações farmacológicas reconhecidas do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*: antihipertensivo, antiespasmódico, antiasmático, antiséptico, antiparasitário, antitérmico, antireumático, miorrelaxante e repelente para insetos. O autor ainda afirma que não deve ser utilizado em pessoas com ulcerações de quaisquer etiologias. Quanto às vias de administração do supracitado óleo, as mais utilizadas são oral e tópica, e as especificações devem ser estritamente a critério médico. Estudos realizados acerca da avaliação toxicológica do óleo demonstraram que as manifestações de toxicidade foram mais evidentes quando ocorreu superdosagem que desencadeou congestão vascular no estômago e infiltrado hemorrágico focal na lâmina própria do fígado (SILVA et al., 1995).

1.3 *Cymbopogon winterianus*

A citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.) é originária da Índia, e foi introduzida no Brasil em meados do século XVIII. É uma planta pertencente à família Poaceae (CRONQUIST, 1988; GOMES; NEGRELLE, 2003), que apresenta uma das maiores famílias de plantas englobando cerca de 500 gêneros e aproximadamente 8.000 espécies essencialmente herbáceas, denominadas genericamente de Gramíneas (UNIVERSITY OF HAWAI, 2003).



Figura 4. *Cymbopogon winterianus*.

O gênero *Cymbopogon* inclui cerca de 30 espécies de gramíneas perenes aromáticas, sendo a maioria destas nativas da região tropical do Velho Mundo (TRIPPLEBROOKFARM, 2003).

A citronela de Java é uma erva perene, herbácea, cespitosa, de 0,80 a 1,20 m de altura. Os colmos são eretos lisos, semilenhosos de cor verde-clara e entrenós longos. Possui caule rizomatoso e curto, semi-subterrâneo, nodoso, com inúmeras raízes fortes, fibrosas e longas. Deste rizoma emerge brotações achatadas firmadas pelas bainhas compridas de inúmeras folhas (CASTRO; CHEMALE, 1995).

A espécie é composta por folhas planas, inteiras, lanceoladas, estreitas e longas, invaginantes, de bordos ásperos e cortantes, nervuras paralelas e ápice acuminado (CASTRO; RAMOS, 2003). Possui aroma intenso que lembra o eucalipto (*Eucaliptus citriodora*) (CASTRO; CHEMALE, 1995).

A citronela adapta-se bem em clima tropical ou subtropical, não suportando frio. No seu período de crescimento é exigente em chuvas, porém, na colheita o excesso de chuvas pode baixar o teor de óleo essencial. É uma cultura exigente em luz e em calor. Desenvolve-se bem em solos areno-argilosos a francos, permeáveis e férteis, preferindo solos altos, secos e sem umidade excessiva (CASTRO; CHEMALE, 1995).

A citronela apresenta problemas quanto à contaminação por *Fusarium*, um gênero de fungo que também ataca o capim-limão (*Cymbopogon citratus*) ocasionando grandes perdas aos produtores destas espécies. Em se tratando de espécies medicinais e aromáticas o uso de produtos químicos para o combate de pragas é desaconselhável, visto que os mesmos podem interferir na composição química dos princípios ativos das plantas em questão. Tal fato é justificado pela ausência de produtos registrados para tais espécies (MARTINS et al., 2000).

Normalmente as plantas medicinais apresentam boa resistência ao ataque de pragas, no entanto, qualquer desequilíbrio que possa ocorrer, a resistência fica prejudicada. Um fator que pode gerar o desequilíbrio é o estado nutricional das plantas (MARTINS et al., 2000).

Portanto, a monitoração do ambiente onde as plantas são cultivadas, o conhecimento sobre as exigências nutricionais e os tratos culturais são de extrema importância para a obtenção de plantas com qualidade fitoquímica e sanitárias. O uso da citronela se dá em diversos setores e sem dúvidas o mais conhecido é a propriedade repelente contra insetos, que se deve ao alto teor de citronelal. A citronela de Java é a espécie que possui maiores teores de citronelal (LÁSZLÓ, 2000). Além do citronelal, a citronela é constituída pelo geraniol, juntos eles produzem um aroma rosa-floral cítrico. Além destes, contribuem na constituição da planta grupos menores como canfeno (cânfora), borneol (tipo camomila) e metileugenol, todos combinando num aroma muito peculiar lembrando uma vegetação campestre úmida (SIMON, 1990).

Além do seu uso como repelente, a citronela pode ser uma boa opção para higienizar ambientes e também eliminar germes e bactérias de frutas e legumes. As folhas da citronela eram utilizadas como cataplasma para febre e dores e para acelerar curas, podendo também ser utilizadas no tratamento de LER (lesão por esforço repetitivo). Além disso, na China a citronela também é utilizada para dores reumáticas (LÁSZLÓ, 2000).

Na aromaterapia é utilizada para aumentar a acuidade mental no combate a enxaquecas e dores de cabeça, além de ser um condicionador cutâneo. Propriedades antidepressivas, anti-sépticas, tônicas e estimulantes também foram verificadas (LÁSZLÓ, 2000).

Segundo Tawatsin et al. (2001), o óleo essencial de citronela associado a 5% de vanilina numa pesquisa laboratorial repeliu três espécies de mosquitos: o *Aedes aegypti*, o *Culex quin-quefasciatus* e o *Anopheles*, por mais de 8 horas. Foram eficazes contra o *A. aegypti*, mosquito causador da dengue, velas com 3% de óleo essencial de citronela e incensos a 5%. Coleiras com citronela também têm sido eficazes para afastar pulgas, carrapatos e mosquitos de cachorros.

Labinas e Crocomo (2003) observaram que o óleo essencial de citronela de Java também apresenta ação inseticida e de repelência sobre lagartas de *Spodoptera frugiperda*, uma espécie que causa grandes prejuízos as lavouras de milho. Martins (2006) realizou experimentos com diversas concentrações do óleo essencial de citronela sobre teleóginas e larvas do carrapato *Boophilus microplus*, bem como frente à postura e a eclosão de seus ovos e observou que na concentração de 10% o óleo essencial de citronela inibiu a postura das teleóginas e também a eclosão dos ovos. A citronela também pode ser utilizada para combater cólicas em animais e, além disso, sua beleza exótica pode harmonizar ambientes, ajudando também no combate a erosão do solo (CASTRO; CHEMALE, 1995).

Além dessas propriedades, a citronela é utilizada na culinária chinesa e seu bagaço é aproveitado como ração animal, sendo provado que animais que se alimentam deste bagaço desenvolvem uma maior resistência a doenças (BARSOTTI, 2005).

1.4 Distúrbios Neurológicos

1.4.1 Epilepsia

A epilepsia do lobo temporal é uma doença crônica que pode interferir em inúmeros aspectos sociais e psicológicos do paciente (GILLIAM et al., 2004), e ainda está freqüentemente associada a um estímulo inicial precipitante, tais como: estado epiléptico, trauma e convulsões febris prolongadas (ENGEL, 2001; DODRILL, 2004). Sendo um dos distúrbios neurológicos mais comuns, apresenta uma taxa de prevalência de 5% (DE LORENZO et al., 2001). Aproximadamente, 30 a 50% dos pacientes epilépticos são sintomáticos, e esta condição pode ser adquirida através de um *stress* ambiental (DE LORENZO et al., 2000).

Pode ser definida como uma afecção crônica de etiologia diversa, caracterizada por crises repetidas, devido a uma descarga excessiva dos neurônios cerebrais em diferentes estruturas e associada eventualmente com diversas manifestações clínicas, podendo ocorrer também quando há um aumento do nível basal de excitação do sistema nervoso central (SNC), superior ao limiar da convulsão (ENGEL, 2001). De Lorenzo e colaboradores (2001) demonstraram ainda, que a atividade convulsiva pode ocorrer após a perda suficiente e duradoura de neurônios em diferentes regiões cerebrais.

As crises convulsivas podem ser associadas às diversas mudanças bioquímicas em algumas áreas cerebrais afetando vários neurotransmissores (monoaminas, aminoácidos e peptídeos), o metabolismo dos carboidratos, os sistemas de segundos mensageiros (AMPc, DAG e IP₃) e a expressão gênica, que poderiam estar envolvidos na fisiopatologia responsável pelas alterações ao longo do tempo dos neurônios (MICHOTTE et al., 2000).

O epiléptico pode ser mais susceptível a outras doenças psiquiátricas, uma vez que, a modulação neuronal da ansiedade e emoção está relacionada a semelhantes substratos neuronais em diferentes estruturas cerebrais que podem estar envolvidos na evolução das convulsões parciais complexas e em particular na convulsão do lobo temporal. Essas patologias podem ser associadas às mudanças neuroquímicas primárias e secundárias que são observadas durante as convulsões límbicas (POST, 2004).

Embora drogas antiepiléticas sejam comumente usadas para controlar e prevenir convulsões, seu uso prolongado carrega um risco considerável de

morbidade. A decisão de iniciar uma terapia com anticonvulsivantes é tomada apenas quando os riscos de novas convulsões superam os riscos do tratamento (SIRVEN, 2002).

Desta forma, novos medicamentos antiepilépticos eficazes são necessários para melhorar a qualidade de vida de muitas pessoas acometidas pela epilepsia e o estudo de drogas anticonvulsivantes com baixa toxicidade, poucos efeitos colaterais e grande potencial terapêutico podem contribuir sobremaneira para o tratamento da epilepsia, melhorando a qualidade de vida e restabelecimento físico e mental dos portadores dessa doença em todo o mundo. Substâncias com propriedades anticonvulsivantes têm sido exaustivamente estudadas na tentativa de se conhecer drogas com eficácia para tipos específicos de convulsão, bem como os mecanismos controladores do aparecimento dessas convulsões (TURSKI et al., 1987).

A fisiopatologia da epilepsia ainda não está completamente definida. Os modelos de convulsão em animais reproduzem alterações comportamentais e eletroencefalográficas que são semelhantes à epilepsia em humanos. Estes modelos são utilizados para estudar o envolvimento dos sistemas de neurotransmissores como moduladores da epileptogênese, como também permitem observar as alterações comportamentais, histopatológicas e outros dados neuroquímicos relacionados ao processo convulsivo (COSTA-LOTUFO et al., 2002).

É um distúrbio do encéfalo caracterizado por predisposição persistente a gerar crises epilépticas e conseqüências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais. Essa patologia requer a manifestação de pelo menos uma crise epiléptica, que é definida pela ocorrência de sinais e/ou sintomas devido à atividade anormal excessiva ou sincrônica de neurônios encefálicos (MICHOTTE et al., 2000).

A epilepsia afeta aproximadamente 1 a 2% da população mundial. A faixa etária mais acometida é a infantil, principalmente abaixo dos dois anos, seguida pelos idosos com mais de 65 anos e com predomínio nos homens em relação às mulheres, sendo de 1,1 a 1,7 vezes. A gravidade das crises varia de episódios de perda de atenção até convulsões graves, associadas à perda de consciência. Esses episódios ocorrem periodicamente, de maneira imprevisível na maioria dos casos clínicos, comprometendo a realização de atividades como condução de veículos ou tarefas do trabalho cotidiano, além da ocorrência de ferimentos durante as crises convulsivas (ENGEL, 2001).

Existem muitos tipos de epilepsias ou síndromes epiléticas caracterizadas por diferentes tipos de crise, etiologia, anatomia, fatores precipitantes, idade de início, gravidade, cronicidade, comportamento circadiano, prognóstico e características eletroencefalográficas (COSTA-LOTUFO et al., 2002).

Nas últimas décadas, a pesquisa sobre os seus mecanismos etiopatológicos, eletroencefalográficos e farmacológicos trouxe descobertas como o envolvimento de genes associados a diversas síndromes, bem como aos aspectos de neuroplasticidade envolvidos no desenvolvimento de maior susceptibilidade a crises convulsivas em pacientes pós - lesão encefálica – trauma craniano ou acidentes vasculares encefálicos. Apesar disso, ainda não existe tratamento algum que possa impedir o desenvolvimento da epilepsia. A farmacoterapia ainda é o principal tratamento para epilepsia, sendo que a sua abordagem é direcionada para o controle dos sintomas, isto é, supressão das crises (LEES, 2000).

A esses compostos, damos o nome de fármacos anticonvulsivantes. O objetivo da terapia com fármacos anticonvulsivantes é manter o paciente livre de crises com a menor interferência na função encefálica normal. A seleção do medicamento anticonvulsivante é baseada primariamente na sua eficácia para os diferentes tipos de epilepsias (BROWN, 2001).

1.4.1.1 Modelos experimentais de Epilepsia

Na tentativa de aproximar os modelos animais dos fenômenos observados em humanos, várias técnicas têm sido desenvolvidas mimetizando tipos específicos de epilepsia. Para que um modelo experimental seja classificado como um modelo de epilepsia ele deve preencher os seguintes requisitos: demonstrar a presença de atividade epileptiforme nos registros eletroencefalográficos e clinicamente apresentar uma atividade semelhante àquelas observadas durante uma crise epilética (FISHER, 1998).

Desde a década de 1960, esses modelos experimentais servem como *screening* farmacológico de drogas antiepiléticas (WHITE, 1997), contribuindo paralelamente como informações a respeito dos mecanismos envolvidos na gênese e manutenção das crises. A partir das décadas de 1970 e 1980, com o aparecimento

dos modelos experimentais crônicos induzidos, sendo o principal destes o modelo de *kindling*, os estudos das drogas antiepilépticas voltaram-se para a identificação de agentes capazes de prevenir a epileptogênese e/ou diminuir os déficits comportamentais de longa duração decorrentes das crises (QUEIROZ et al., 2002).

Nas décadas de 1980 e 1990, dois outros modelos foram extensamente utilizados: o modelo da pilocarpina e o modelo do ácido caínico, ambos replicam características fenomenológicas das epilepsias do lobo temporal (TURSKI et al., 1987).

A administração oral ou sistêmica desses compostos resulta em um padrão de crise límbica duradoura bastante característica (*status epilepticus*), que após um período conhecido como silencioso (de 3 a 14 dias), leva o animais a apresentar crises espontâneas e recorrentes (TURSKI et al., 1983a). A lesão cerebral induzida pelo *status epilepticus* nesses modelos pode ser considerada como equivalente a um evento epileptogênico no ser humano, como, por exemplo, uma convulsão febril. No quadro estão alguns modelos experimentais e sua relação com as diferentes formas de epilepsia no ser humano. Ao lado do modelo num parêntese encontra-se o ano de sua descrição (QUEIROZ et al., 2002).

Quadro 1. Modelos experimentais de Epilepsia.

Modelo Experimental	Tipo de Epilepsia	Situação
Injeção ou aplicação tópica de metais		
Cobalto (1960)	Epilepsia focal	Semicrônico
Ácido túngstico (1960)	Epilepsia focal, grande mal	Agudo
Estimulação química		
Penicilina (1945)	Pequeno mal mioclônico, epilepsia corticoreticular generalizada	Agudo
Estricnina (1900)	Crises com foco cortical	Agudo
Pentilenotetrazol (1960)	Pequeno mal e crises generalizadas	Agudo
Picrotoxina (1960)	Epilepsia do lobo temporal	Agudo e Crônico
Bicuculina (1970)	Epilepsia de longa duração	Agudo e Crônico
Substâncias Colinomiméticas (1949)	Epilepsias focais e do lobo temporal	Agudo e Crônico
Hidrazinas e Piridoxais (1940)	Crises generalizadas	Agudo
Insulina (1940)	Crises metabólicas	Agudo
Oxigênio hiperbárico (1943)	Crises de grande mal	Agudo
Modelos com predisposição genética		
Crise audiogênica (1942)	Crises tônico-clônicas	Agudo
Fotossensibilidade genética (1966)	Crises centro-encefálicas	Agudo
Estimulação elétrica		
Eletrochoque (1870)	Epilepsia focal	Agudo
<i>Kindling</i> (1969)	Crises parciais e generalizadas	Agudo e Crônico
Neurotoxinas		
Ácido caínico (1970)	Epilepsia do lobo temporal	Agudo e Crônico

Fonte: Queiroz et al., 2002

1.4.2 Ansiedade

A ansiedade é uma emoção semelhante ao medo, porém, enquanto no medo há uma ameaça definida, na ansiedade, a fonte do perigo é incerta ou desconhecida. A ansiedade manifesta-se em diferentes planos: psicológico, fisiológico e comportamental (GRAEFF, 1997).

A sensação caracteriza-se por um sentimento difuso, desagradável, e vago de apreensão, freqüentemente, acompanhado por sintomas autonômicos, como cefaléia, palpitações, aperto no peito e leve desconforto abdominal. A constelação particular de sintomas presentes durante a ansiedade tende a variar entre as pessoas. A ansiedade é uma resposta a uma ameaça desconhecida, interna, vaga ou de origem conflituosa. Quando considerada simplesmente como um sinal de alerta, pode ser encarada como uma emoção semelhante ao medo, podendo preparar o indivíduo para tomar medidas necessárias, para evitar a ameaça ou, pelo menos, atenuar suas conseqüências (PRUT, 2003).

A ansiedade pode ser benéfica, pois conduz uma mobilização e preparo para melhor enfrentar situações. Torna-se patológica quando muito intensa ou desproporcional ao estímulo que a originou, ou quando surge sem que haja um motivo para isso. No estudo da psicobiologia da ansiedade os modelos animais são extremamente úteis, auxiliando na compreensão da sua fisiopatologia e tratamento. Um dos modelos é o labirinto em cruz elevado, que inicialmente foi criado para ratos por Pellow e colaboradores (1985) e que foi adaptado para camundongos por Lister (1987). No labirinto em cruz elevado é possível verificar o grau de “ansiedade” do animal, que é corroborado pela verificação de um grande número de drogas ansiolíticas (diazepam, clordiazepóxido), que aliviam a ansiedade no homem e parece ter efeito semelhante nos ratos e camundongos neste modelo animal.

Pode-se concluir que os chamados transtornos de ansiedade são um conjunto de transtornos heterogêneos, com quadros clínicos e tratamentos diferentes, assim como os diferentes modelos animais de ansiedade abordam diferentes transtornos de ansiedade.

1.4.3 Depressão

A depressão é o mais comum dos distúrbios afetivos (distúrbios do humor ao invés de distúrbios de pensamento ou da cognição); pode variar de uma condição muito branda, beirando a normalidade, a uma depressão severa (psicótica) acompanhada por alucinações e delírios. Os sintomas da depressão incluem componentes emocionais e biológicos. Dentre os componentes emocionais estão a apatia e o pessimismo, a baixa auto-estima, sentimentos de culpa, de inadaptação e feiúra, assim como a indecisão e a perda de motivação. Os sintomas biológicos incluem o retardo de pensamento e de ação, a perda da libido, distúrbio do sono e perda do apetite (RANG et al., 2003).

Para explicar a patogenia da depressão surgiu a hipótese das monoaminas, que afirma que a depressão é causada por um déficit funcional das monoaminas transmissoras em certos locais do cérebro, enquanto a mania resulta de um excesso funcional (MANJI et al., 2001). Esta hipótese surgiu originalmente das associações entre os efeitos clínicos de vários fármacos que causam ou aliviam os sintomas da depressão e seus efeitos neuroquímicos conhecidos sobre a transmissão monoaminérgica no cérebro. Um exemplo disso foi a introdução da reserpina, no início da década de 50, quando se tornou evidente que a droga era capaz de induzir depressão em pacientes em tratamento da hipertensão e da esquizofrenia, bem como em indivíduos normais. Nos anos subsequentes, os estudos farmacológicos revelaram que o principal mecanismo de ação da reserpina consistia em inibir o armazenamento de neurotransmissores amínicos, como a serotonina e a noradrenalina, nas vesículas das terminações nervosas pré-sinápticas. A reserpina induzia depressão e provocava depleção dos neurotransmissores amínicos; por esse motivo raciocinou-se que a depressão devia estar associada a uma diminuição da transmissão sináptica funcional amino-dependente (KATZUNG, 2003).

Apesar da teoria das monoaminas, foi sugerido que a dopamina também participa da depressão (BROWN et al., 1993; KAPUR; MANN, 1992). A dopamina está implicada na regulação do humor (BROWN et al., 1993) e foi mostrado que em modelos animais de depressão, os níveis de monoaminas extracelular no cérebro

estavam diminuídos (ROSSETTI et al., 1993). Além disso, tem se considerado que a dopamina está envolvida com os efeitos antidepressivos de drogas (JOCA et al., 2000), pois a bupropiona, um inibidor seletivo da recaptação de dopamina, é clinicamente usado em humanos como um antidepressivo ou na terapia de retirada da nicotina (RICHMOND; ZWAR, 2003).

Em modelos animais de depressão, como por exemplo, o nado forçado e a suspensão da cauda, verifico-se que agonistas dos receptores de dopamina aumentam o efeito antidepressivo (JOCA et al., 2000) e, que este efeito parece está relacionado com a ativação de receptores dopaminérgicos do tipo D₂ (WILLNER, 2002).

A principal objeção da hipótese dopaminérgica da depressão é que clinicamente os antidepressivos efetivos inibem a recaptação de serotonina ou noradrenalina, mas não dopamina. Existe uma aparente contradição no mecanismo de ação desses antidepressivos, pois, apesar do bloqueio da recaptação de serotonina e noradrenalina ocorrer imediatamente após o tratamento agudo, o efeito clínico dos antidepressivos acontece apenas após duas ou quatro semanas de tratamento. Essa afirmativa pode fortalecer a hipótese dopaminérgica, pois estudos mostram que o tratamento crônico com todos os inibidores da recaptação serotonina e noradrenalina potenciam a transmissão dopaminérgica no núcleo *accumbens* (SERRA et al., 1992).

1.4.3.1 Modelos experimentais de Ansiedade e Depressão

Modelos animais são usados em pesquisas de ansiedade e depressão por dois principais motivos: para a verificação de novos agentes terapêuticos e como simuladores para facilitar o entendimento dos mecanismos psicobiológicos envolvidos na gênese e tratamento desses distúrbios neurológicos.

Esses modelos animais devem ter validade preditiva, mas também validade de face e validade de construto. Validade preditiva se refere à sensibilidade do modelo em reconhecer ansiolíticos e ansiogênicos, mas não outros tipos de agentes. Validade de face implica que o modelo produz reações como o medo em animais e que são análogas ao comportamento de ansiedade observada em humanos. Validade de construto é mais difícil, pois implica homologia, ou correspondência direta, entre o modelo animal e a condição sendo modelada (RODGERS et al., 1995).

Os modelos podem ser divididos em duas grandes categorias: modelos animais de respostas não-condicionadas e de respostas condicionadas. Os modelos condicionados são aqueles que requerem treinamento dos animais, privação de água ou comida, ou uso de choque elétrico como estímulo aversivo. Os modelos não condicionados são aqueles baseados em comportamentos espontâneos, apresentando alto grau de validade etiológica. Os modelos não condicionados (espontâneos) geralmente têm maiores valores de validade ecológicos, são menos suscetíveis a fatores de interferência como aprendizado/memória, fome/sede ou mecanismos nociceptivos. Os modelos mais utilizados são:

- De respostas não condicionadas: baterias de testes de defesa/ansiedade, labirinto em cruz elevado, exploração livre, *hole board*, exploração claro-escuro, *rota rod*, campo aberto, interação social, enterrar objetos não condicionado e neofobia.

- De respostas condicionadas: esquiva ativa/passiva, nado forçado, resposta emocional condicionada, aversão condicionada ao sabor, testes de conflito, enterrar objetos condicionados, teste das quatro placas e vocalização ultra-sônica de ratos adultos (RODGERS et al., 1995).

2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

2.1 Relevância e Justificativa

O estudo de diversos psicofármacos e de seus mecanismos de ação é extremamente importante para o entendimento dos mecanismos de regulação endógena de distúrbios neurológicos como, epilepsia, ansiedade e depressão.

A epilepsia é uma condição neurológica grave de maior prevalência no mundo e que pode induzir a dificuldade na execução das atividades profissionais do paciente (GILLIAM et al., 2004). A incidência da epilepsia varia de acordo com a localização geográfica. Ela ocorre com maior frequência nos países em desenvolvimento, onde há maior índice de desnutrição, doenças infecciosas, deficiência no atendimento médico e carência no tratamento (DE LORENZO et al., 2001).

Em países mais desenvolvidos, a incidência é de aproximadamente 1%, ou seja, cinquenta milhões de pessoas são portadoras dessa condição, aumentando para 2% em nações menos desenvolvidas, tornando-se um grave problema de saúde pública (BEAGLEHOLE et al., 1996).

Nos países em desenvolvimento, 60 a 90% das pessoas com epilepsia não recebem tratamento devido às deficiências do sistema de saúde e ao próprio estigma social, prejudicando seriamente a qualidade de vida do epilético e suas atividades profissionais (GILLIAM et al., 2004).

A epilepsia, como já se sabe é um grave problema de saúde pública em quase todos os países, havendo, assim, uma real necessidade de se conhecer o processo convulsivo, e isto têm sido feito através de estudos experimentais utilizando diferentes animais. Esses modelos são necessários, pois permitem o conhecimento da atividade epilética e propiciam novas descobertas de alternativas terapêuticas para humanos através desses achados.

Inúmeras pesquisas visam descobrir novas estratégias farmacológicas antiepiléticas a partir de novos compostos eficazes para epilepsia de difícil controle ou de compostos com menos toxicidade para aquelas já tratadas pelo

arsenal terapêutico atualmente disponível (BOECK et al., 2004; PISANI et al., 2004; EYAL et al., 2004)

A ansiedade e a depressão também são transtornos que apresentam elevada incidência mundial. Na clínica a ansiedade é diagnosticada e avaliada principalmente pelo relato dos pacientes, indicando a natureza subjetiva dos transtornos de ansiedade, o que traz uma limitação aparentemente intransponível aos modelos animais de ansiedade. Entretanto, apesar desta limitação, o desenvolvimento dos modelos animais recebeu impulso importante pelo advento de novas drogas ansiolíticas e pela compreensão da neurobiologia da ansiedade.

Os transtornos do humor, especialmente em suas formas depressivas, encontram-se entre as doenças mais comuns, afetando pelo menos 10 a 25% das mulheres e 5 a 12% dos homens em algum momento da vida, sendo que 25% desses pacientes sofrerão com a recorrência da sintomatologia e 15% dos casos cronicam ou culminam em suicídio (BARKLAGE, 1991).

Estudos comportamentais, farmacológicos e neuroquímicos foram realizados com a finalidade de fornecer subsídios para esclarecer os mecanismos neuronais distintos envolvidos durante a fase aguda do processo convulsivo e contribuir para investigação de novas formulações antiepilépticas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O objetivo principal do estudo foi comparar os efeitos dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon winterianus* no sistema nervoso central utilizando modelos experimentais já padronizados, de convulsão, sedação, ansiedade e depressão em camundongos, que possam dar suporte ao potencial terapêutico dessas espécies. Desta forma, acreditamos contribuir para o conhecimento farmacológico das propriedades terapêuticas destas espécies, visando melhor caracterizar suas atividades.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a atividade anticonvulsivante dos óleos essenciais, em três modelos de convulsão, pilocarpina, pentilenotetrazol e estriquinina em camundongos;
- Avaliar a atividade sedativo-hipnótica dos óleos essenciais no modelo de tempo de sono induzido por barbitúrico;
- Avaliar a atividade motora dos óleos essenciais nos modelos de campo aberto e *rota rod*;
- Avaliar a atividade ansiolítica dos óleos essenciais no modelo de labirinto em cruz elevado;
- Avaliar a atividade antidepressiva dos óleos essenciais no modelo de nado forçado;
- Analisar os mecanismos pelos quais os óleos essenciais exercem suas atividades farmacológicas no SNC.

- Avaliar a capacidade seqüestradora de radicais livres dos óleos essenciais por meio do monitoramento do radical DPPH *in vitro*;

- Avaliar o grau de citotoxicidade dos óleos essenciais através da enzima Lactato desidrogenase (LDH) *in vitro*;

- Avaliar o envolvimento dos óleos essenciais no processo de inflamação, através da atividade da enzima Mieloperoxidase (MPO) em neutrófilos humanos *in vitro*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material vegetal

Foram utilizadas folhas de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon winterianus*, todas coletadas no horto de plantas medicinais do Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais – LPPN da Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato - CE. As coletas foram realizadas no período da manhã, em torno de 9:00 horas, no terço médio da planta, em dias ensolarados e ausentes de chuva, no período de janeiro a março. As exsiccatas de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon winterianus* foram preparadas e depositadas no Herbário Prisco Bezerra, do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará - UFC, para a confirmação de suas espécies, cujos números de registro são 41.832 e 43.194 respectivamente.

4.2 Extração do óleo essencial

O processo de extração do óleo essencial foi realizado no Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais – LPPN da Universidade Regional do Cariri - URCA. As folhas das duas espécies, após terem sido coletadas, foram higienizadas, picadas e pesadas (300g). Os óleos essenciais foram obtidos pela técnica “hidrodestilação”, utilizando-se um aparelho de Clevenger modificado (CRAVEIRO, 1981). A extração foi realizada durante duas horas, coletou-se o hidrolato e separou-se a fase aquosa e orgânica (óleo essencial) por filtração. O óleo foi coletado com o auxílio de uma micropipeta, pesado e colocado em um frasco de vidro âmbar, devidamente limpo e envolto com papel alumínio, para posterior acondicionamento. Os rendimentos dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* foram equivalentes a 0,46% e 0,49% respectivamente, calculados utilizando a massa das folhas frescas.

4.3 Identificação dos constituintes

A identificação dos constituintes dos óleos essenciais foi realizada no Laboratório de Química de Produtos Naturais na Universidade Federal do Piauí. O óleo foi submetido à cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (EM), em equipamento Shimadzu, modelo CG 17A, com detector seletivo de massa, modelo QP 5000. A coluna cromatográfica utilizada foi do tipo capilar de sílica fundida com fase estacionária DB – 5, de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, utilizando hélio como gás carreador. As temperaturas foram de 220°C no injetor e 300°C no detector. A temperatura do forno foi programada de 60°C a 240°C, com acréscimo de 3°C a cada minuto. A identificação dos compostos foi feita por comparações entre os espectros de massas obtidos com os espectros existentes na biblioteca (Wiley 140) e pelo índice de Kovat.

4.4 Animais

Os experimentos foram conduzidos utilizando-se camundongos albinos Swiss machos e fêmeas, pesando entre 20 e 30 gramas, pertencentes ao Biotério da Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte - FMJ. Os camundongos foram mantidos em gaiolas plásticas, com assoalho coberto por serragem, 20 animais por caixa, em ciclo claro-escuro de 12 horas (luzes acesas às 7:00 horas), temperatura controlada (22±2°C) e livre acesso a ração e água. Os animais foram manipulados apenas para pesagem, administração das drogas e limpeza das caixas. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) desta universidade.

4.5 Drogas

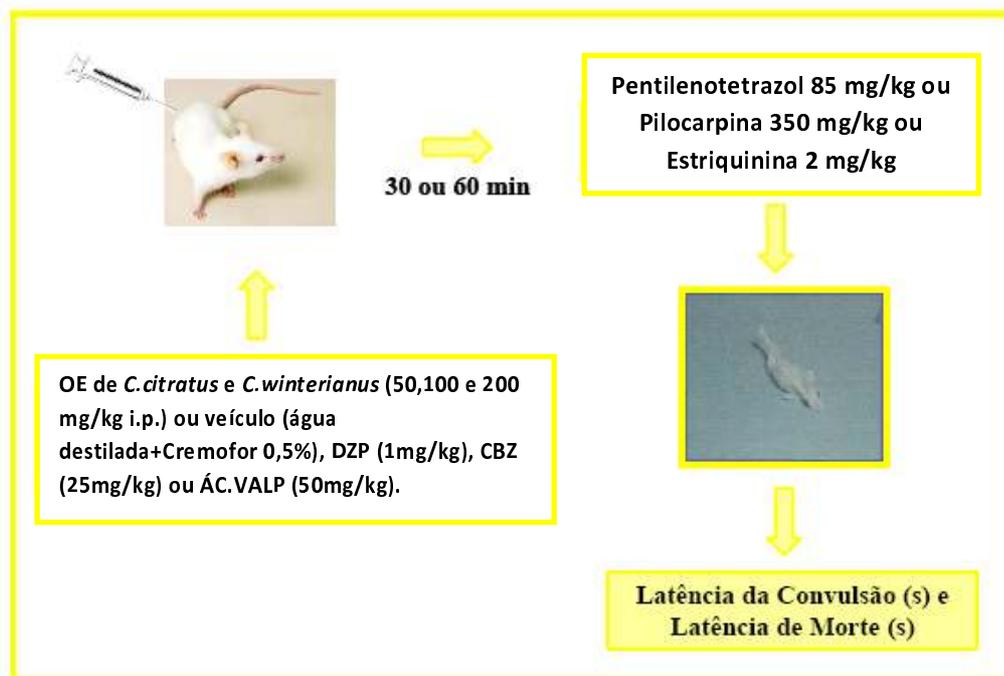
As drogas utilizadas nos experimentos foram: Pilocarpina (Sigma), Pentilenotetrazol (Sigma), Estriquinina (Sigma), Tiopental (Abbot), Imipramina (Imipra®, Cristália), Diazepam (União Química Brasil), Ácido Valpróico (Depakene) e Carbamazepina (Teuto). Todas as drogas foram injetadas intraperitonealmente em um volume constante (1ml/kg).

4.6 Protocolos Experimentais

4.6.1 Convulsões induzidas por Pilocarpina, Pentilenotetrazol e Estriquinina

Esse teste foi utilizado com a finalidade de avaliar o potencial anticonvulsivante dos óleos essenciais. Após 30 minutos do tratamento intraperitoneal com os óleos essenciais em estudo, nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg ou do veículo de dissolução dessa droga (água destilada + cremofor 0,5%), Diazepam (1 mg/kg i.p.), Carbamezepina (25 mg/kg v.o.) ou Ácido Valpróico (50 mg/kg v.o.), em cada modelo, os agentes convulsivantes (Pilocarpina 350 mg/kg; PTZ 85 mg/kg; Estriquinina 2 mg/kg) foram injetados por via intraperitoneal e os animais colocados em caixas plásticas para as observações contendo 2 animais em cada e mantidos em ambiente reservado.

Todos os grupos experimentais foram observados durante 2 horas após a injeção do agente anticonvulsivante, de acordo com o tratamento previsto. Os seguintes parâmetros foram observados: latência da primeira convulsão, latência de morte e percentual de sobrevivência. Depois desse período de observação, os animais que sobreviveram foram mantidos nas gaiolas por mais 24 horas para analisar-se o percentual de sobrevivência.

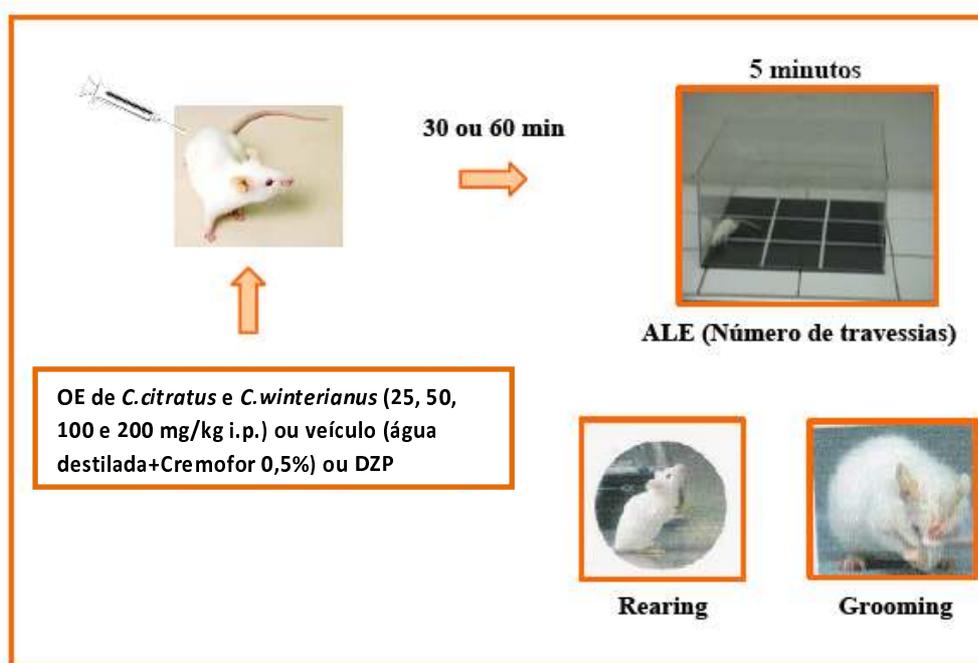
Quadro 2. Esquema do Modelo de Convulsão.

4.6.2 Teste do Campo Aberto

O campo aberto foi utilizado para avaliar a atividade exploratória do animal, de acordo com o método de Archer (1973). O teste consistia numa arena quadrada dividida em nove quadrantes onde o animal foi colocado no centro e durante 5 minutos pôde andar livremente. Durante o teste registrou-se o número de quadrantes cruzados pelo animal, bem como o número de respostas de levantar (*rearing*) e autolimpeza (*grooming*). A tendência natural do animal em um ambiente novo é a de explorá-lo, apesar do conflito com o medo provocado pelo ambiente novo (MONTGOMERY, 1958).

Assim, esse teste permite uma avaliação da atividade estimulante ou depressora de uma dada droga e/ou procedimento. No intervalo entre cada animal o aparelho foi limpo com papel e pano umedecido em álcool 5%, procedimento que foi adotado para todos os subseqüentes testes comportamentais. Após 30 minutos do tratamento intraperitoneal com os óleos essenciais em estudo, nas doses de 25, 50, 100 e 200 mg/kg, do veículo de dissolução dessa droga (água destilada - cremofor 0,5%) ou Diazepam (2 mg/kg i.p.).

Quadro 3. Esquema do Teste de Campo Aberto.

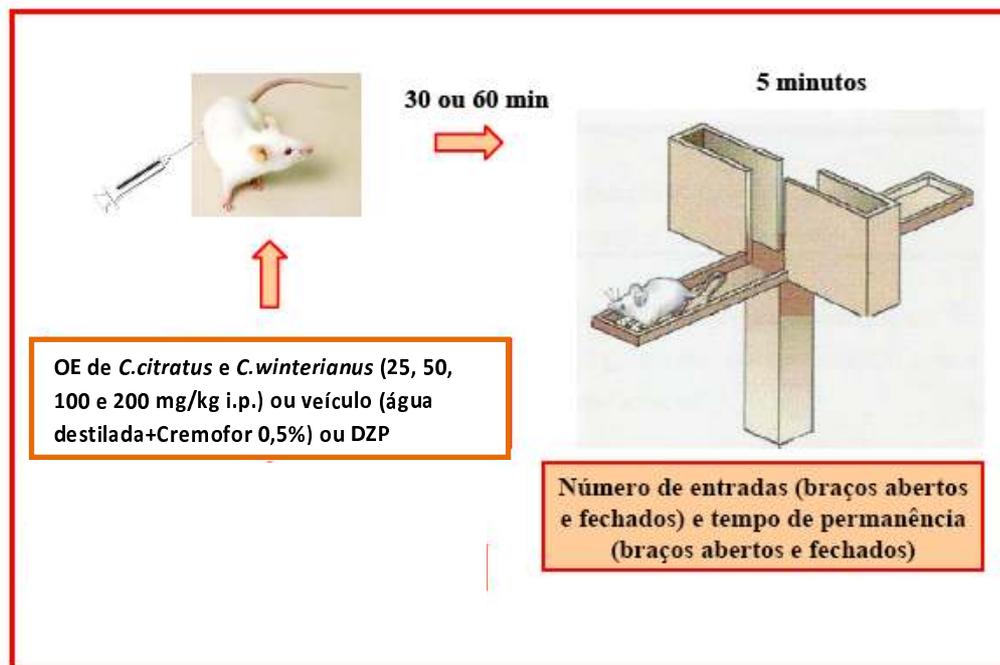


4.6.3 Teste do Labirinto em Cruz Elevado

Neste teste, drogas e/ou procedimentos com atividade ansiolítica aumentam a frequência de entradas e/ou tempo gasto nos braços abertos, enquanto que procedimentos ou drogas ansiogênicas fazem o inverso. A frequência de entradas nos braços fechados, tido como parâmetro de atividade locomotora, geralmente não é afetada (PELLOW et al., 1985). Após 30 minutos do tratamento intraperitoneal com os óleos essenciais em estudo, nas doses de 25, 50, 100 e 200 mg/kg, veículo de dissolução dessa droga (água destilada - cremofor 0,5%) ou Diazepam (2 mg/kg i.p.)

O aparelho construído em acrílico e coberto por fórmica preta consiste de quatro braços elevados 51 cm do chão, sendo dois braços abertos (50 cm / 10 cm / 1 cm) perpendiculares a dois braços fechados (50 cm / 10 cm / 40 cm). No centro do labirinto existe um quadrado central (10 cm / 10 cm) onde o animal é colocado com a cabeça voltada para um dos braços fechados no início do procedimento. Durante cinco minutos foram registrados o tempo e número de entradas nos braços abertos e fechados. Os experimentos foram realizados com baixa iluminação.

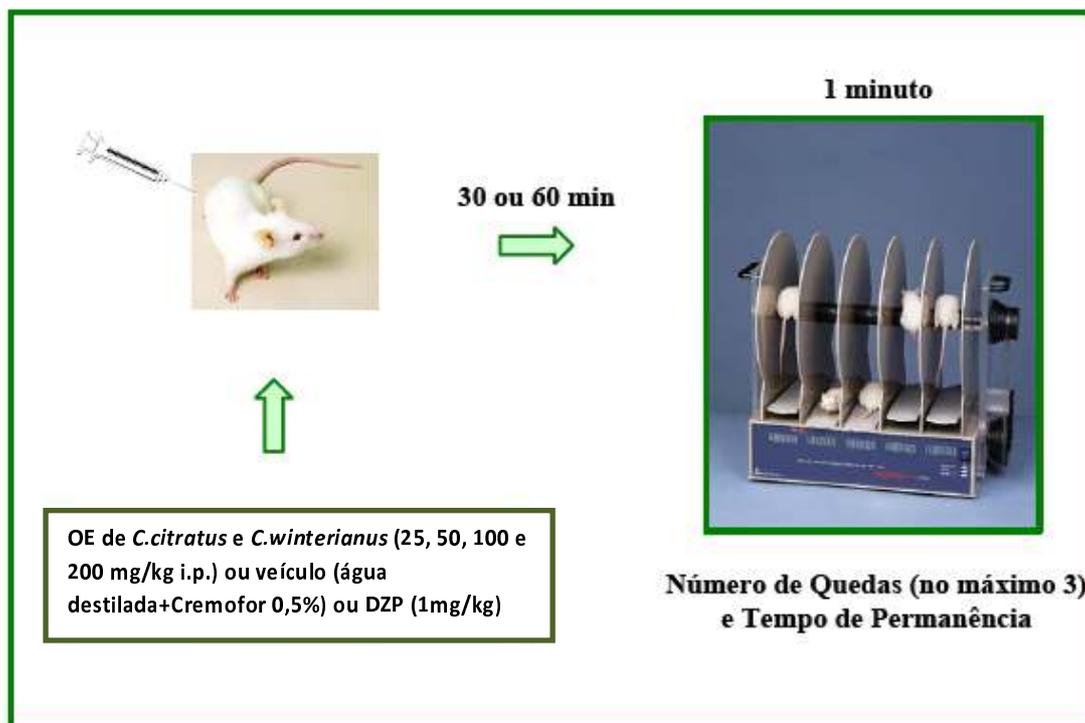
Quadro 4. Esquema do Teste do Labirinto em Cruz Elevado.



4.6.4 Teste do *Rota rod*

O teste do *rota rod* mede o efeito de relaxamento muscular ou incoordenação motora produzidos por drogas no animal (CARILINI; BURGOS, 1979). Grupos de oito camundongos foram colocados no *rota rod* 30 minutos após os tratamentos com veículo, OE (25, 50, 100 e 200mg/kg) ou diazepam (2 mg/kg), sendo avaliados o número de quedas e o tempo de permanência na barra giratória. O número máximo de quedas permitidas foi de três sendo que, após a terceira, o animal não mais era reconduzido no *rota rod*. O tempo máximo de permanência permitido no *rota rod* foi de 1 minuto.

Quadro 5. Esquema do Teste de *Rota rod*.



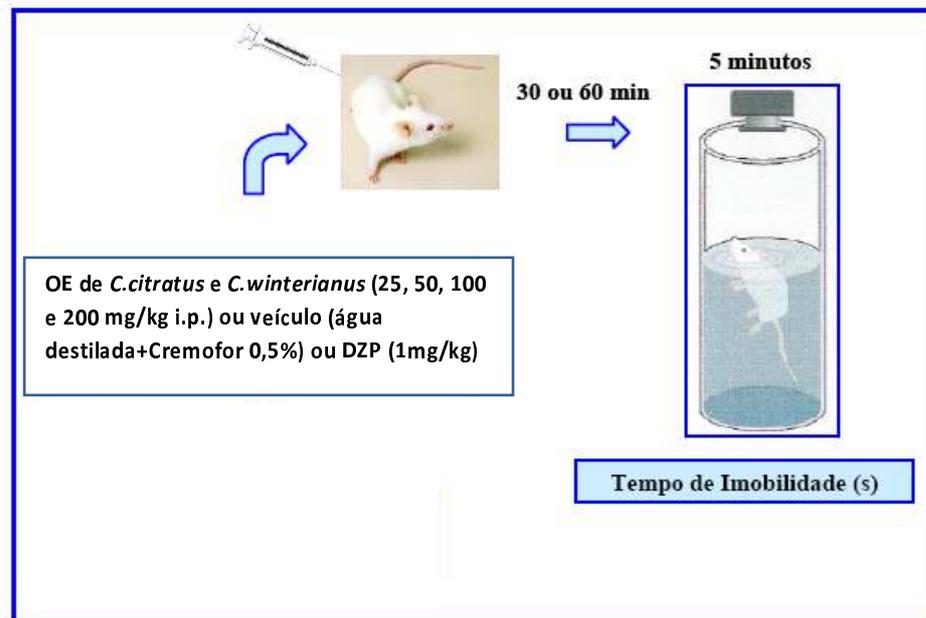
4.6.5 Teste do Nado Forçado

O teste do nado forçado produz medidas relacionadas à depressão, por isso é utilizado para avaliar atividade anti-depressiva ou ansiolítica de determinadas drogas. Consiste em colocar os animais, individualmente, em um cilindro (40 cm de altura por 28 cm de diâmetro) contendo água mantida a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ por 15 minutos, sendo que após 24 horas, os animais serão re-submetidos ao teste, porém por apenas 5 minutos. O parâmetro registrado é o tempo de imobilidade, ou seja, o tempo que o animal permanece flutuando, fazendo apenas movimentos necessários para manter a cabeça fora da água.

Os animais que são colocados no cilindro com água pela primeira vez, permanecem mais tempo nadando e atingem um platô – média de 80% de imobilidade por minuto em cerca de 7 minutos. Além disso, relatam que uma única exposição de 15 minutos é suficiente para produzir um nível relativamente consistente de imobilidade no teste subsequente, sendo que a re-submissão do animal ao cilindro com água reproduz de maneira resumida o comportamento do

pré-teste, porém alcançando o platô de imobilidade já no terceiro minuto. O tratamento intraperitoneal foi feito com os OEs, nas doses de 25, 50, 100 e 200 mg/kg ou do veículo de dissolução dessa droga e IMI (30 mg/kg v.o.) (PORSOLT et al. 1977).

Quadro 6. Esquema do Teste do Nado Forçado.

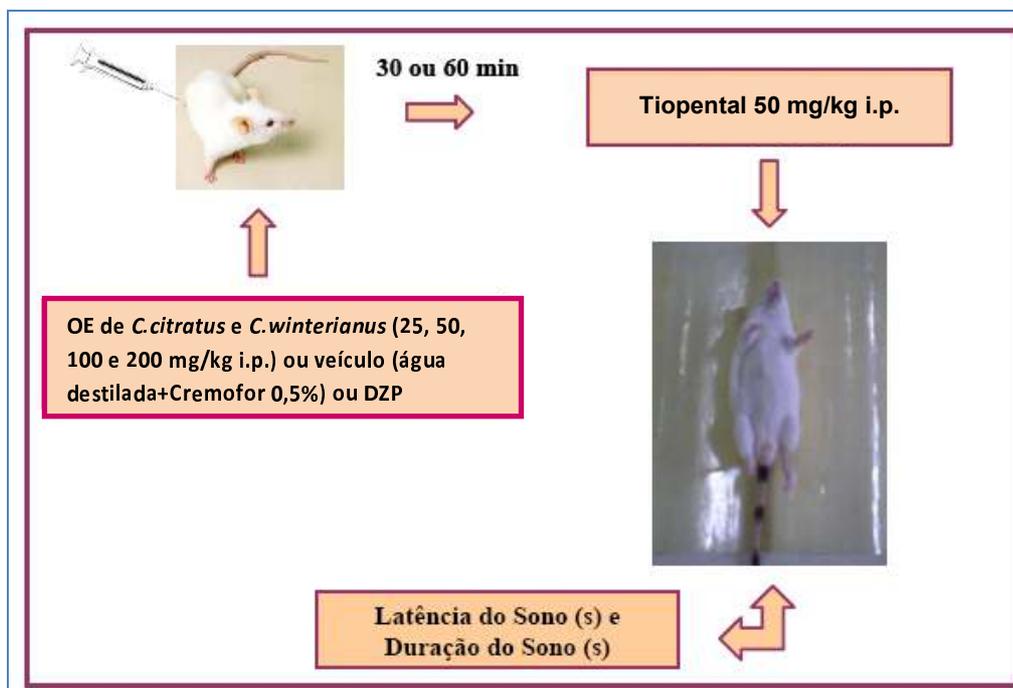


4.6.6 Indução do sono por barbitúrico

O teste de indução do sono por barbitúrico é utilizado com a finalidade de avaliar a atividade hipnótico/sedativa de determinadas drogas. Foram utilizados grupos de até 8 camundongos tratados previamente pela via intraperitoneal com veículo, com OE (25, 50, 100 e 200 mg/kg) ou diazepam (2 mg/kg). Após 30 minutos dos tratamentos, os animais receberam Tiopental 50 mg/kg i.p. Foram cronometrados os tempos entre a perda e a recuperação do reflexo postural. A latência e a duração da perda do reflexo postural dos animais foram registradas após a injeção do tiopental, colocando-os em decúbito dorsal para registro da duração do sono. A recuperação da postura normal (três tentativas) foi considerada como o término do período do sono. Cada animal foi observado por um tempo máximo de 60 min consecutivos. Os resultados foram expressos com o tempo de

recuperação (minutos) do sono de cada grupo experimental comparativamente ao grupo controle experimental (CARLINI; BURGOS, 1979).

Quadro 7. Esquema do Teste de Sono induzido por barbitúrico.



4.6.7 Determinação da capacidade sequestradora do radical DPPH *in vitro*

O radical DPPH (1,1-difenil-2-picril hidrazina) é considerado um radical estável e tem sua absorção máxima em 517 nm. Este radical é utilizado como ferramenta para estudar a ação de compostos como sequestradores de radicais livres, sendo uma técnica independente de qualquer atividade enzimática. Quando o DPPH recebe um elétron ou um átomo de hidrogênio para se tornar um composto mais estável, sua absorção diminui.

O método foi descrito por Saint-Cricq de Gaulejac et al. (1999) uma alíquota (0,1 ml) da suspensão dos óleos essenciais (200 e 400 µg/ml) ou do α-tocoferol (50 µg/ml) foram misturados com 3,9 ml de DPPH (0,3 mM numa solução de metanol-etanol 1:1), as soluções foram misturadas em vortex por 1 minuto, mantidas em uma temperatura ambiente por 30 minutos e a absorbância foi determinada em 517 nm.

O percentual de inibição foi calculado de acordo com a seguinte equação: % inibição = $[A_0 - (A_c / A_0)] \times 100$, onde A_0 é a absorvância do controle (sem os OEs) e A_c é a absorvância da solução com óleo essencial.

4.6.8 Teste de citotoxicidade em neutrófilos humanos: atividade da Lactato desidrogenase (LDH)

A Lactato desidrogenase é uma enzima presente numa grande variedade de organismos, incluindo plantas e animais. Depois de isoladas, as células (5.0×10^6 /ml) foram incubadas numa suspensão contendo os óleos essenciais (1, 10 e 100 μ g/ml) ou indometacina (100 μ M, como droga de referência), veículo ou Triton-X 0,5% (causa lise celular e é usado como controle positivo), por 15 minutos numa temperatura de 37°C. A atividade da lactato desidrogenase foi determinada de acordo com instruções do fabricante (LDH liquiforme do Labtest Diagnósticos, MG, Brasil). O aumento da liberação de LDH foi expresso pela diminuição da absorvância, determinada em 340 nm.

4.6.9 Liberação da enzima Mieloperoxidase (MPO) em neutrófilos humanos

A mieloperoxidase (MPO) é uma enzima contida nos grânulos primários dos neutrófilos. Mais de 95% da MPO está presente nos grânulos dos neutrófilos, existindo os restantes 5% nos monócitos circulantes. Esta enzima catalisa a oxidação de substâncias na presença de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e de um halogênio, constituindo a ligação peróxido de hidrogênio-halogênio-MPO um sistema altamente tóxico para os microorganismos.

Segundo Lucisano e Mantovani (1984), 2.5×10^6 de leucócitos humanos, obtidos segundo descrição no item anterior, foram suspensos e tamponados com solução balanceada de Hanks, contendo cálcio e magnésio. As preparações continham predominantemente neutrófilos ($85.0 \pm 2.8\%$) e a viabilidade das células foi determinada pelo Teste de Trypan azul, $97.7 \pm 0.94\%$. As células foram incubadas com os óleos essenciais (0.01, 0.1 e 1 μ g/ml) por 15 minutos numa temperatura de 37°C. Os neutrófilos humanos foram estimulados pela adição de acetato de miristato de forbol (PMA, 0.1 μ g/mL) por 15 minutos numa temperatura de

37°C. A suspensão foi centrifugada por 10 min, 2.000 g em 4°C. Alíquotas (50 µL) do sobrenadante foram adicionadas a salina tampão-fosfato (100 µL), tampão-fosfato (50 µL, pH 7.0) e H₂O₂ (0.012%). Após 5 minutos numa temperatura de 37°C, tetrametil benzidina (1.5 mM, 20 µL) foi adicionado e a reação foi interrompida pela adição de 30 µL de acetato de sódio (1.5 M, pH 3.0). A absorbância foi determinada em 620 nm.

4.6.10 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do software *Graph Pad Prism* versão 3.0 para Windows. Os resultados foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) seguido pelo Teste de Student Newman Keuls (*post hoc*) para comparações múltiplas. Em todas as análises estatísticas, os valores foram representados pela Média ± Erro Padrão da Média (EPM) e foi considerado o nível crítico para rejeição da hipótese de nulidade menor que 0,05 ($p < 0,05$). Os asteriscos (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$) caracterizam o grau de significância, assim como os símbolos a e b.

5 RESULTADOS

5.1 Composição química dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon winterianus*

O vasto campo de aplicação dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* por indústrias de alimentos, cosmética e farmacêutica tem motivado ininterruptas pesquisas sobre essas espécies. O rendimento dos óleos essenciais foi calculado e obtivemos valores equivalentes a 0,46% e 0,48% para os OEs de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon winterianus* respectivamente.

Na figura 5, tem-se o perfil cromatográfico do óleo essencial de *C. citratus* e a tabela 1 demonstra seus componentes e respectivas porcentagens obtidos por cromatografia a gás com detector de massas (CG/EM). Como a composição química é um dos parâmetros que agrega valor ao óleo essencial, de acordo com Souza et al. (2006), avaliaram-se os constituintes químicos do óleo essencial de *C. citratus*.

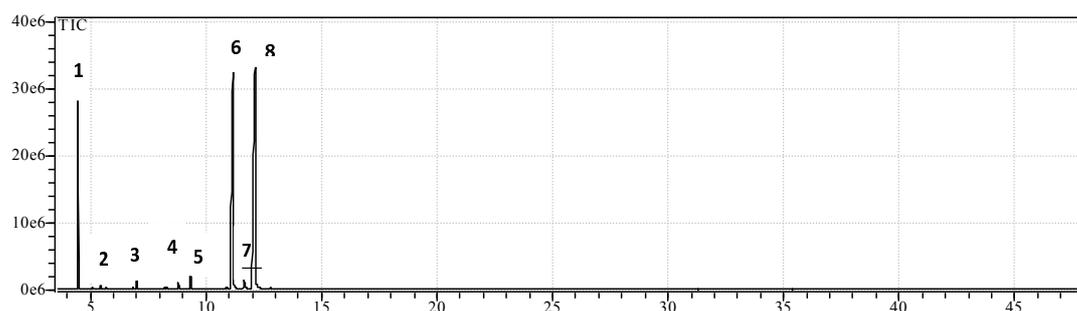


Figura 5. Cromatograma do óleo essencial de *C. citratus*.

Tabela 1. Constituintes químicos e suas respectivas porcentagens no óleo essencial das folhas frescas de *Cymbopogon citratus*.

Picos	TR (min)*	Composto	%
1	4,52	Mirceno	14.4
2	5,33	Citronelal	0.10
3	7,15	Linalol	0.24
4	8,99	β -(E)-Ocimeno	0.24
5	9,24	Terpineol-4-ol	1.24
6	11,20	Neral	37.42
7	11,88	α -(E)-Ocimeno	0.32
8	12,06	Geranial	45.47
TOTAL			99.43

*Tempo de retenção relativo da Literatura (ADAMS 2001).

Na figura 6, tem-se o perfil cromatográfico do óleo essencial de *C. winterianus*. Seus componentes e respectivas porcentagens obtidos empregando-se um cromatógrafo a gás com detector de massas (CG/EM) são demonstrados na tabela 2.

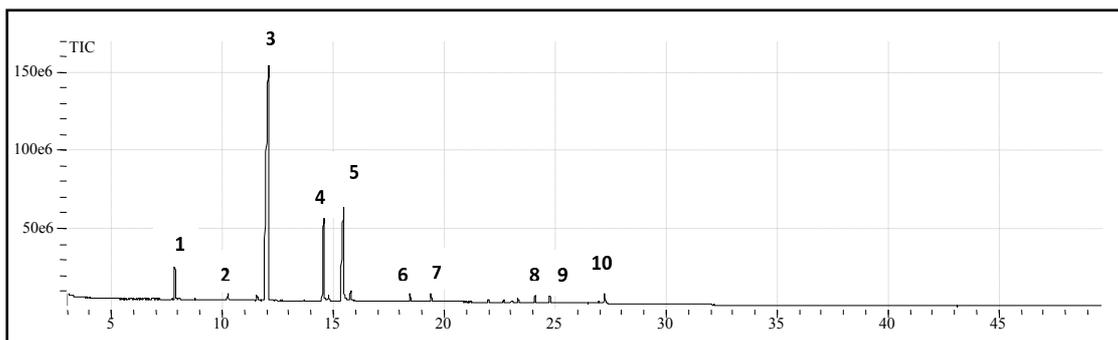


Figura 6. Cromatograma do óleo essencial de *C. winterianus*.

Tabela 2. Constituintes químicos e suas respectivas porcentagens no óleo essencial das folhas frescas de *Cymbopogon winterianus*.

Picos	TR (min)*	Composto	%
1	8,02	Limoneno	2.25
2	10,22	Acetato de Citronelil	0.69
3	11,05	Citronelal	60.96
4	14,61	Citronelol	11.52
5	15,40	Geraniol	19.03
6	18,55	Linalol	0.54
7	19,48	Geranial	0.87
8	24,13	Isopulegol	0.57
9	24,90	Acetato de Neril	0.76
TOTAL			97.19

*Tempo de retenção relativo da Literatura (ADAMS 2001).

5.2 Estudo Comportamental

5.2.1 Convulsões induzidas por Pilocarpina em camundongos pré-tratados ou não com os óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus*

Após a administração de Pilocarpina 350 mg/kg (i.p.), os animais mostraram sinais colinérgicos periféricos (piloereção, diarreia, tremores, salivação), seguidos por convulsões motoras límbicas. O processo convulsivo persistiu e evoluiu para *status epilepticus*. A administração do OE de *C. citratus*, 30 min antes da pilocarpina, promoveu um aumento significativo na latência da primeira convulsão e de morte na dose de 200 mg/kg comparado com o controle. O óleo essencial de *C. winterianus* não expressou resultado significativo neste modelo. No entanto, registrou-se um percentual de sobrevivência crescente de acordo com as doses administradas deste óleo (Tabela 3).

Tabela 3. Efeitos dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* nas convulsões induzidas com Pilocarpina em camundongos machos.

Grupos	Latência de 1 ^a Convulsão	% de Convulsão	Latência de Morte	% de Sobrevivência
Veículo (H ₂ O i.p.)	585.7±27.1	100	838.0±71.2	0
CBZ (25 mg/kg v.o.)	788.3±170.8	100	3229±897.6*	53.12
ÁC. VAL. (50 mg/kg v.o.)	984.1±132.6	100	4957±933.7***	65.62
<i>C. citratus</i> (i.p.)				
50 mg/kg	626.0±46.3	100	1785±698.7	15.62
100 mg/kg	686.0±79.6	100	1860±461.7	12.5
200 mg/kg	1310±147.3***	100	3257±546.4**	21.87
Veículo (H ₂ O i.p.)	671.2±51.5	100	1077±105.0	0
CBZ (25 mg/kg v.o.)	1130±75.9**	100	1599±281.3	75.0
ÁC. VAL. (50 mg/kg v.o.)	1203±140.2***	100	2034±286.3	89.6
<i>C. winterianus</i> (i.p.)				
50 mg/kg	647.8±28.5	100	1305±172.6	0
100 mg/kg	907.4±77.1	100	1368±165.6	25.0
200 mg/kg	902.6±104.6	100	1588±273.5	28.12

Camundongos Swiss machos (n=48) receberam o veículo ou diferentes doses do OE (50, 100 e 200 mg/kg, i.p.) 30 min antes de Pilocarpina (350 mg/kg i.p.). Os animais foram observados durante 2 horas após a injeção de P350. Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: **p<0.01; ***p<0.001.

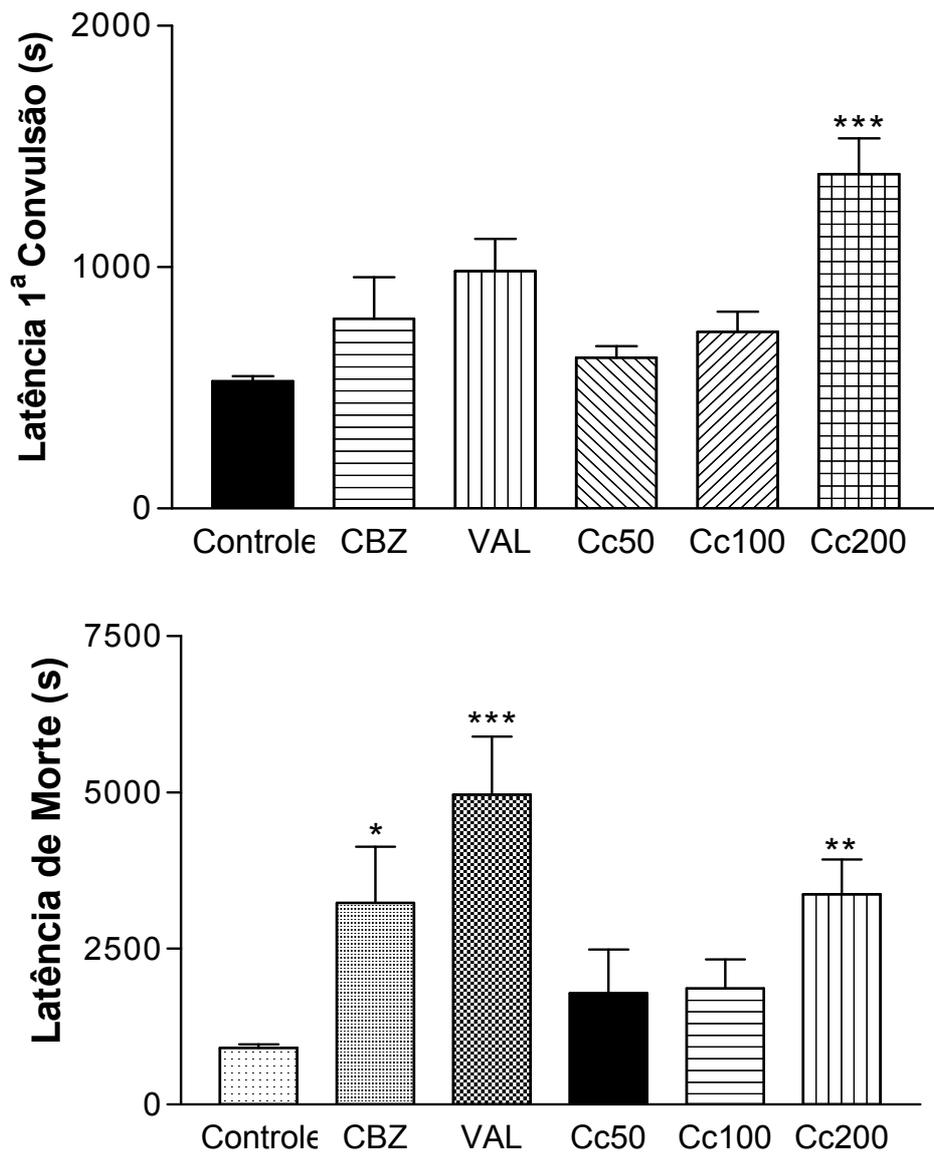


Figura 7. Camundongos Swiss machos receberam o veículo (água destilada + Cremofor 0.5%) ou diferentes doses do óleo essencial de *C.citratus* (50, 100 e 200 mg/kg, i.p.), 30 min antes de Pilocarpina (350 mg/kg i.p.).

Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

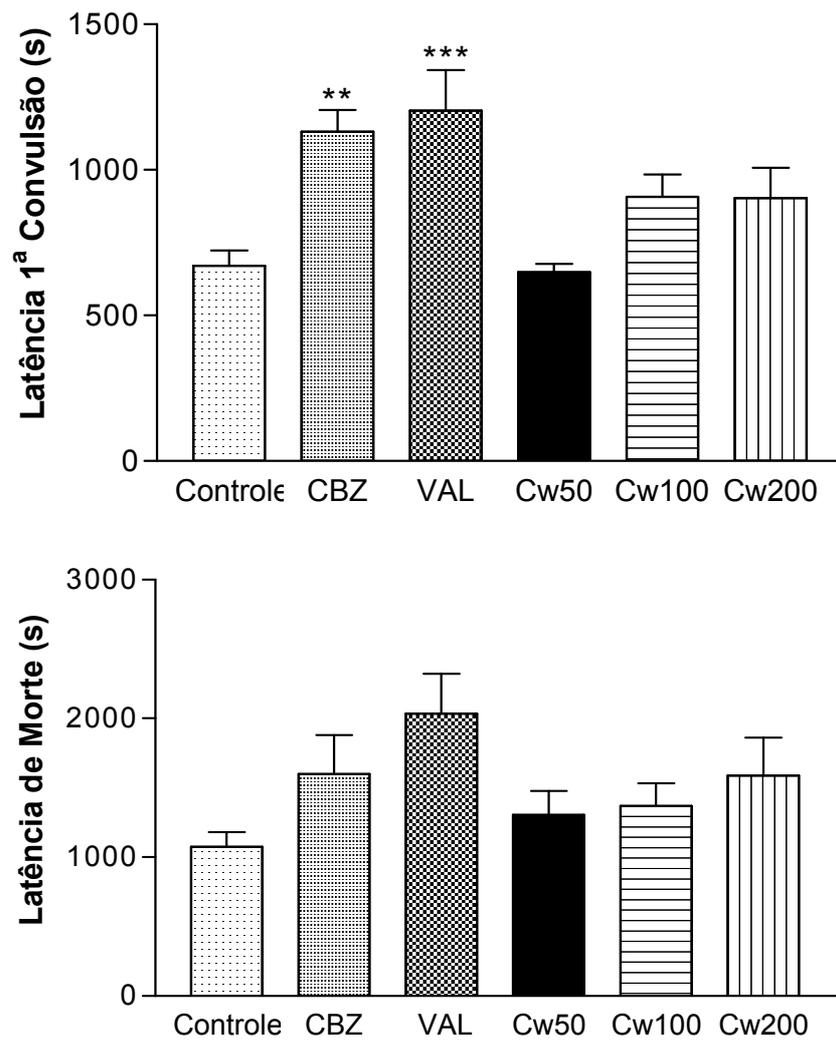


Figura 8. Camundongos Swiss machos receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de *C. winterianus* i.p., 30 min antes de Pilocarpina (350 mg/kg i.p.).
Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Camundongos fêmeas tratados, por via intraperitoneal, com doses de 50, 100 e 200 mg/kg dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* apresentaram alterações significativas na latência da primeira convulsão somente na dose de 200 mg/kg comparado com o controle. Observou-se aumento na latência de morte apenas na concentração de 200 mg/kg do OE de *C. citratus* (Tabela 4).

Tabela 4. Efeitos dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* nas convulsões induzidas com Pilocarpina em camundongos fêmeas.

Grupos	Latência de 1 ^a Convulsão	% de Convulsão	Latência de Morte	% de Sobrevivência
Veículo (H ₂ O i.p.)	515.8±36.60	100	827.6±39.56	6.25
CBZ (25 mg/kg v.o.)	825.9±82.83	100	3376±823.2***	34.37
ÁC. VAL. (50 mg/kg v.o.)	1025±163.7*	100	4567±789.0***	53.12
<i>C. citratus</i> (i.p.)				
50 mg/kg	801.9±101.7	100	1018±78.94	12.5
100 mg/kg	811.5±157.7	100	1738±328.7	15.62
200 mg/kg	1163±196.5**	100	1796±389.9	21.87
Veículo (H ₂ O i.p.)	525.2±34.82	100	795.1±50.78	0
CBZ (25 mg/kg v.o.)	903.9±87.03**	100	3880±692.4*	25.0
ÁC. VAL. (50 mg/kg v.o.)	1105±132.1***	100	4873±711.9**	50.0
<i>C. winterianus</i> (i.p.)				
50 mg/kg	578.0±42.09	100	1447±645.3	6.25
100 mg/kg	655.1±50.98	100	2465±810.8	9.37
200 mg/kg	910.8±62.92**	100	3207±764.5	15.62

Camundongos Swiss fêmeas (n=48) receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE, i.p., 30 min antes de Pilocarpina (350 mg/kg i.p.). Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: **p<0.01; ***p<0.001.

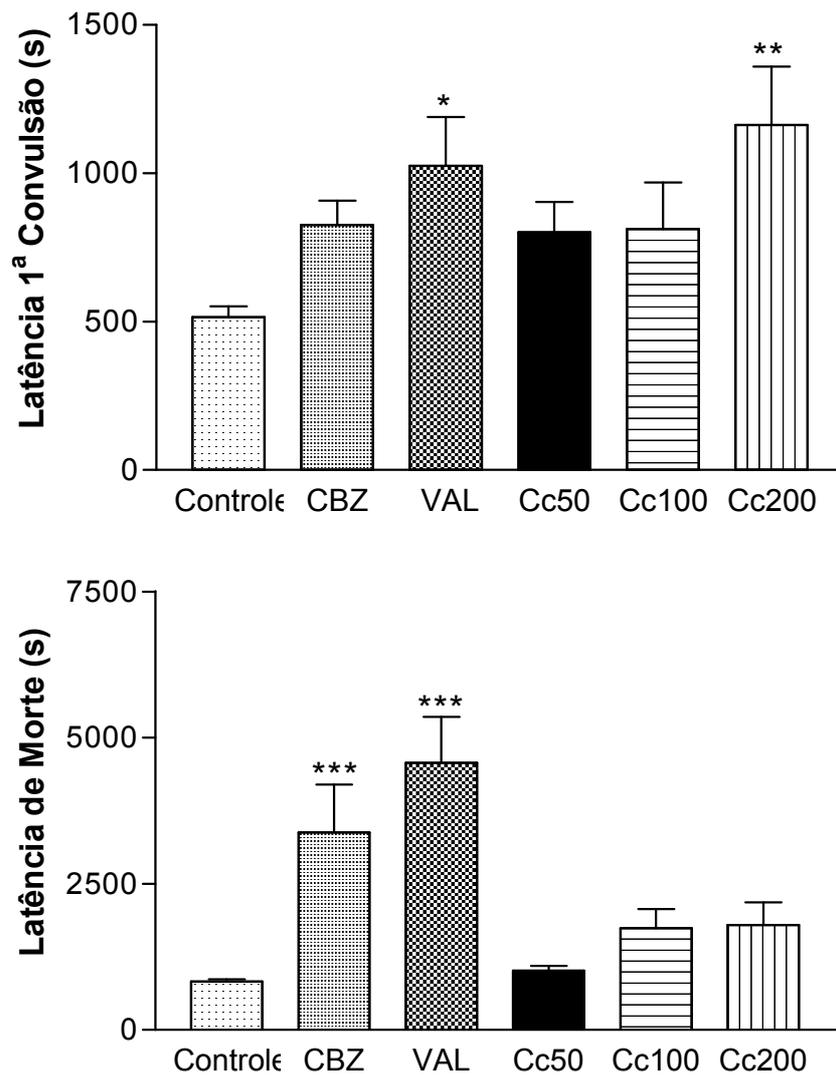


Figura 9. Camundongos Swiss fêmeas receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do óleo essencial de *C. citratus* (50, 100 e 200 mg/kg, i.p.) 30 min antes de (350 mg/kg i.p.).

Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

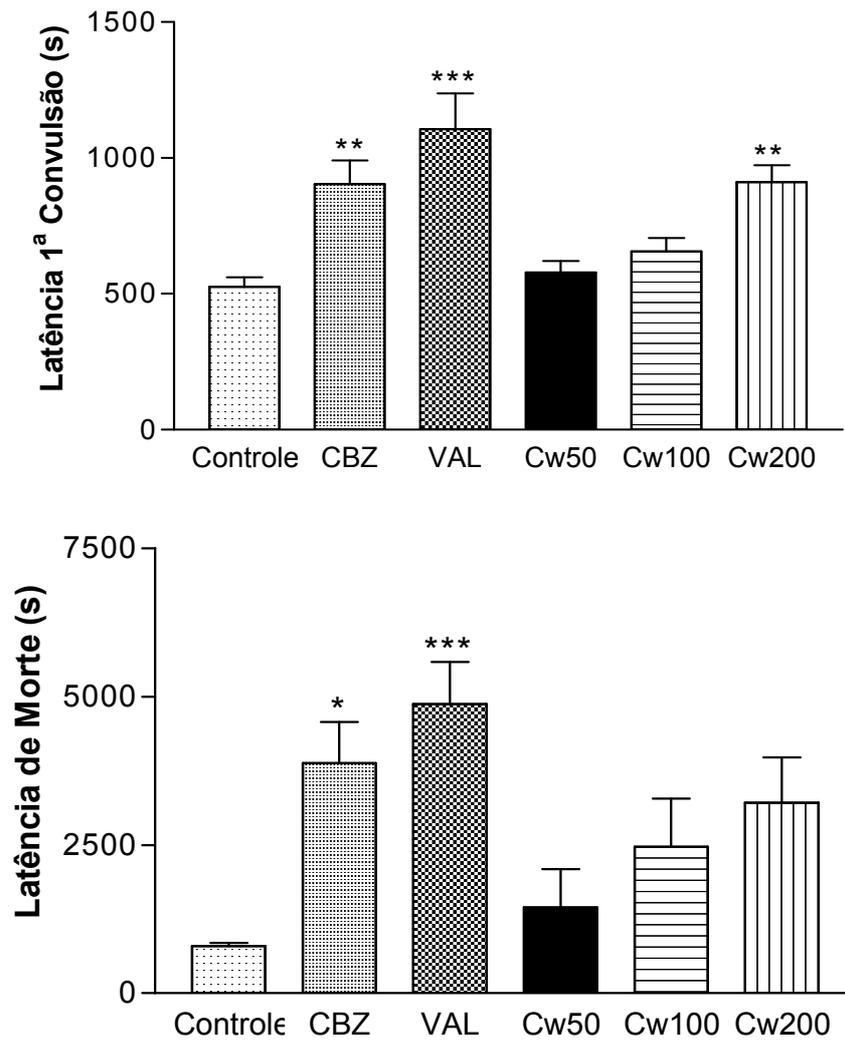


Figura 10. Camundongos Swiss fêmeas receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de *C. winterianus*, i.p., 30 min antes de (350 mg/kg i.p.).
Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

5.2.2 Convulsões induzidas por Pentilenotetrazol (PTZ) em camundongos pré-tratados ou não com os óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus*

A tabela 5 mostra os resultados da administração intraperitoneal com os óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* (50, 100 e 200mg/Kg) e da administração de diazepam 1,0 mg/kg (i.p.) nas convulsões induzidas pelo PTZ (85mg/Kg). Verificamos que houve diferença estatística significativa do grupo controle (DZP) e dos grupos tratados quanto ao início da latência de primeira convulsão e latência de morte. Nas figuras 11 e 12 está apresentada a severidade das convulsões em duas horas de observação dos animais, após tratamento de PTZ (85 mg/ kg, i.p.). A administração de diazepam (1mg/kg i.p.) diminuiu de maneira significativa a latência da primeira convulsão, o número de convulsões e a severidade de convulsões, comparado ao grupo controle, após o tratamento intraperitoneal de PTZ, como esperado.

Tabela 5. Efeitos dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* nas convulsões induzidas com PTZ em camundongos machos.

Grupos	Latência de 1 ^a Convulsão	% de Convulsão	Latência de Morte	% de Sobrevivência
Veículo (H ₂ O i.p.)	155.3±28.7	100	321.1±59.8	0
DZP (1 mg/kg i.p.)	1800±0***	0	7200±0***	100.0
<i>C. citratus</i> (i.p.)				
50 mg/kg	309.3±84.7	100	2500±1032*	31.25
100 mg/kg	730.6±179.5**	100	3315±799.9**	53.12
200 mg/kg	916.9±148.4***	100	5002±734.9***	62.5
Veículo (H ₂ O i.p.)	133.5±30.7	100	476.4±38.6	3.12
DZP (1 mg/kg i.p.)	1639±111.2***	0	7200±0***	100.0
<i>C. winterianus</i> (i.p.)				
50 mg/kg	126.8±18.9	100	3339±682.1***	43.75
100 mg/kg	134.2±16.6	100	3956±678.7***	56.25
200 mg/kg	446.7±140.4**	100	6776±424.3***	93.75

Camundongos Swiss machos (n=40) receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses dos óleos essenciais (50, 100 e 200 mg/kg, i.p.) 30 min antes de PTZ (85 mg/kg i.p.). Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: **p<0.01; ***p<0.001.

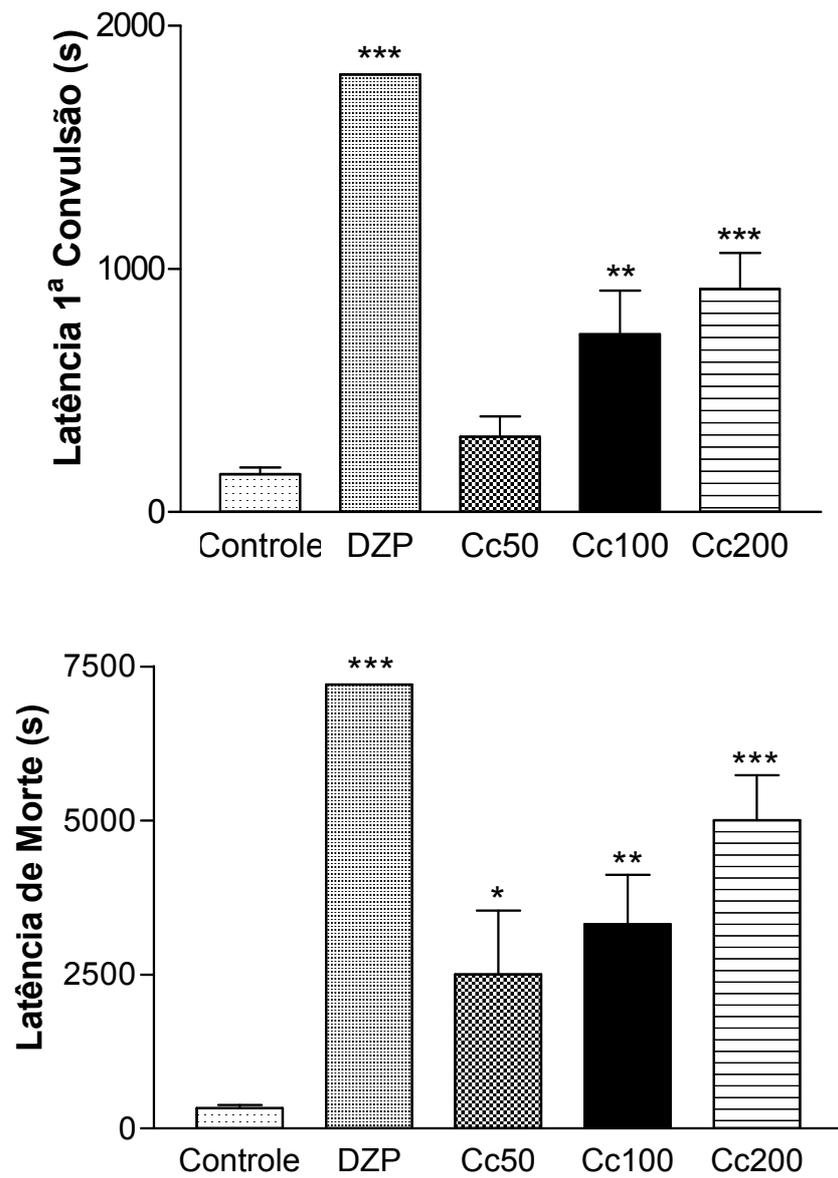


Figura 11. Camundongos Swiss machos receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de *C. citratus*, i.p., 30 min antes de PTZ (85 mg/kg i.p.).
Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

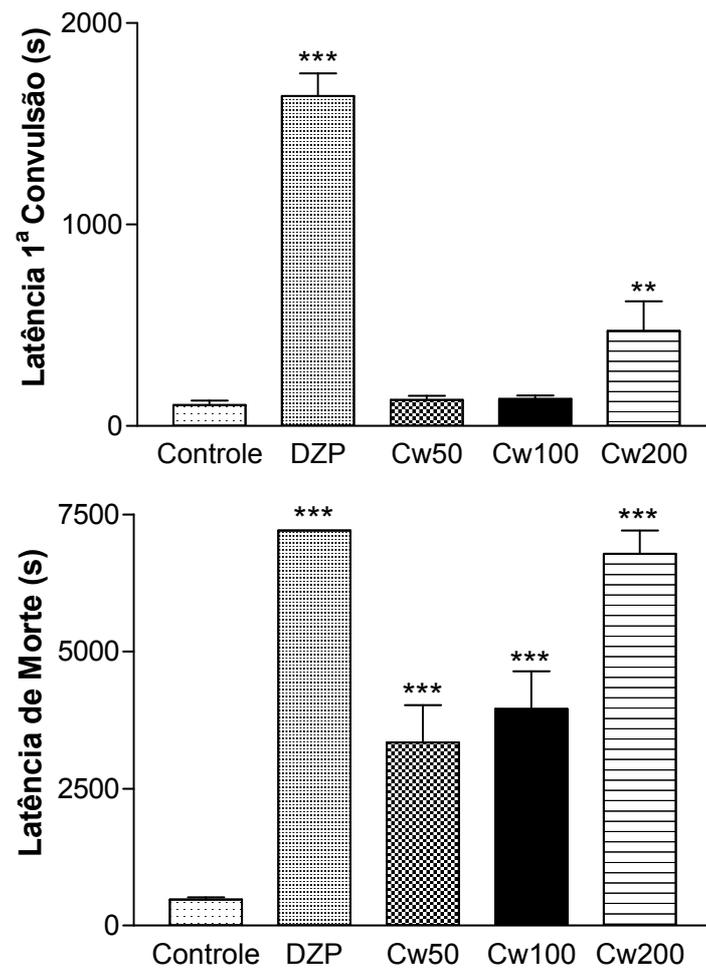


Figura 12. Camundongos Swiss machos receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de *C. winterianus*, i.p., 30 min antes de PTZ (85 mg/kg i.p.).
Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Nos experimentos conduzidos com camundongos fêmeas observamos aumento significativo somente na latência de morte, em todas as doses do óleo essencial de *C. citratus* e nas doses de 100 e 200 mg/kg do óleo essencial de *C. winterianus* comparado com o controle (Tabela 6).

Tabela 6. Efeitos dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* nas convulsões induzidas com PTZ em camundongos fêmeas.

Grupos	Latência de 1ª Convulsão	% de Convulsão	Latência de Morte	% de Sobrevivência
Veículo (H ₂ O i.p.)	120.0±12.3	100	419.4±57.1	3.12
DZP (1 mg/kg i.p.)	1800±0***	0	7200±0***	100.0
<i>C. citratus</i> (i.p.)				
50 mg/kg	257.3±71.3	100	3509±842.3***	28.12
100 mg/kg	344.7±98.1	100	4174±687.0***	34.37
200 mg/kg	388.9±114.3*	93.75	4858±635.6***	40.62
Veículo (H ₂ O i.p.)	129.3±12.1	100	561.6±78.2	0
DZP (1 mg/kg i.p.)	1800±0***	0	7200±0***	100.0
<i>C. winterianus</i> (i.p.)				
50 mg/kg	135.5±25.7	100	1551±821.7	40.62
100 mg/kg	178.3±15.0	100	3736±791.8***	34.37
200 mg/kg	334.2±109.8	100	4589±682.7***	53.12

Camundongos Swiss fêmeas (n=40) receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE, i.p., 30 min antes de PTZ (85 mg/kg i.p.). Os animais foram observados durante 2 horas após a injeção de PTZ. Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: **p<0.01; ***p<0.001.

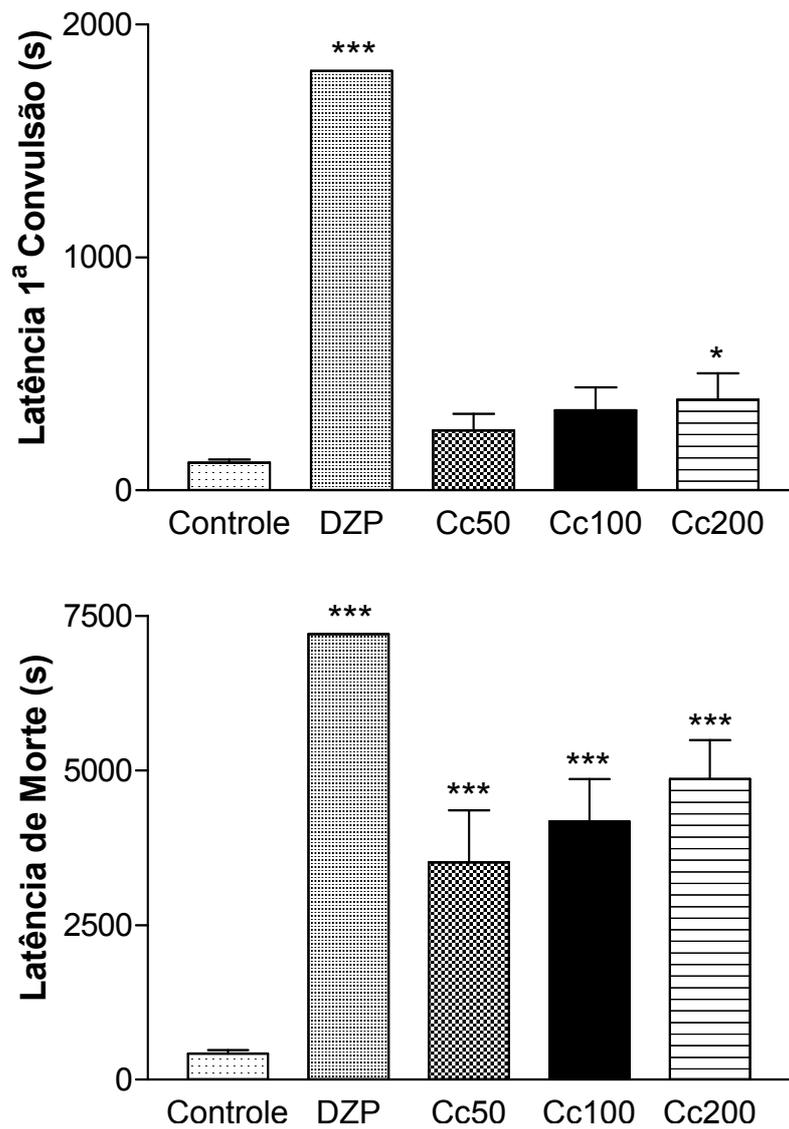


Figura 13. Camundongos Swiss fêmeas receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de *C. citratus*, i.p., 30 min antes de PTZ (85 mg/kg i.p.).

Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

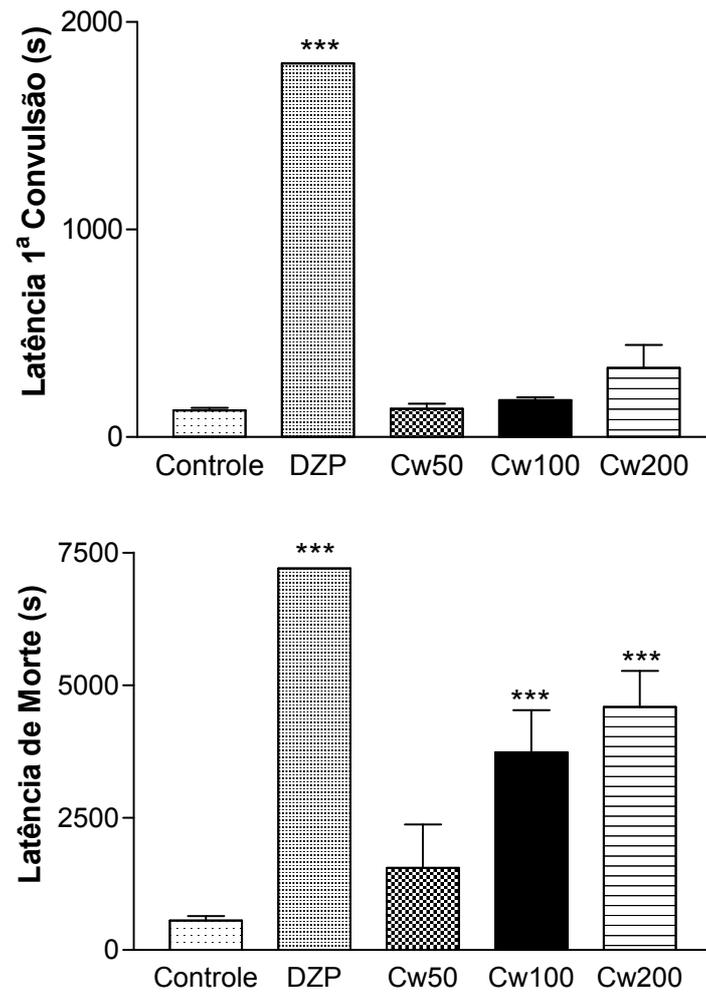


Figura 14. Camundongos Swiss fêmeas receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de *C. winterianus*, i.p., 30 min antes de PTZ (85 mg/kg i.p.).
Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

5.2.3 Convulsões induzidas por Estriquinina em camundongos pré-tratados ou não com os óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus*

Os animais tratados via intraperitoneal com os OEs de *C. citratus* e *C. winterianus* nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg apresentaram aumento significativo na latência de primeira convulsão apenas na dose de 200 mg/kg comparado com o controle. No entanto, na latência de morte não se observou nenhuma alteração significativa (Tabela 7). A administração de diazepam (1mg/kg i.p.) diminuiu de maneira significativa a latência da primeira convulsão, o número de convulsões e a severidade de convulsões, comparado ao grupo controle, após o tratamento intraperitoneal de PTZ, como esperado.

Tabela 7. Efeitos dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon winterianus* nas convulsões induzidas com Estriquinina em camundongos machos.

Grupos	Latência de 1 ^a Convulsão	% de Convulsão	Latência de Morte	% de Sobrevivência
Veículo (H ₂ O i.p.)	110.9±10.3	100	164.1±17.0	0
DZP (1 mg/kg i.p.)	186.1±13.9***	100	4225±946.0***	68.75
<i>C. citratus</i> (i.p.)				
50 mg/kg	117.5±7.3	100	196.9±16.1	0
100 mg/kg	134.5±9.1	100	176.1±10.1	9.37
200 mg/kg	139.9±11.2	100	177.3±9.9	18.75
Veículo (H ₂ O i.p.)	138.9±12.5	100	185.6±12.2	0
DZP (1 mg/kg i.p.)	359.9±29.6***	100	4059±1188***	37.5
<i>C. winterianus</i> (i.p.)				
50 mg/kg	146.1±11.0	100	247.4±14.4	0
100 mg/kg	170.9±13.4	100	274.3±27.0	0
200 mg/kg	344.9±25.4***	100	395.0±18.1	12.5

Camundongos Swiss machos (n=40) receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE, i.p., 30 min antes de Estriquinina (2mg/kg i.p). Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: **p<0.01; ***p<0.001.

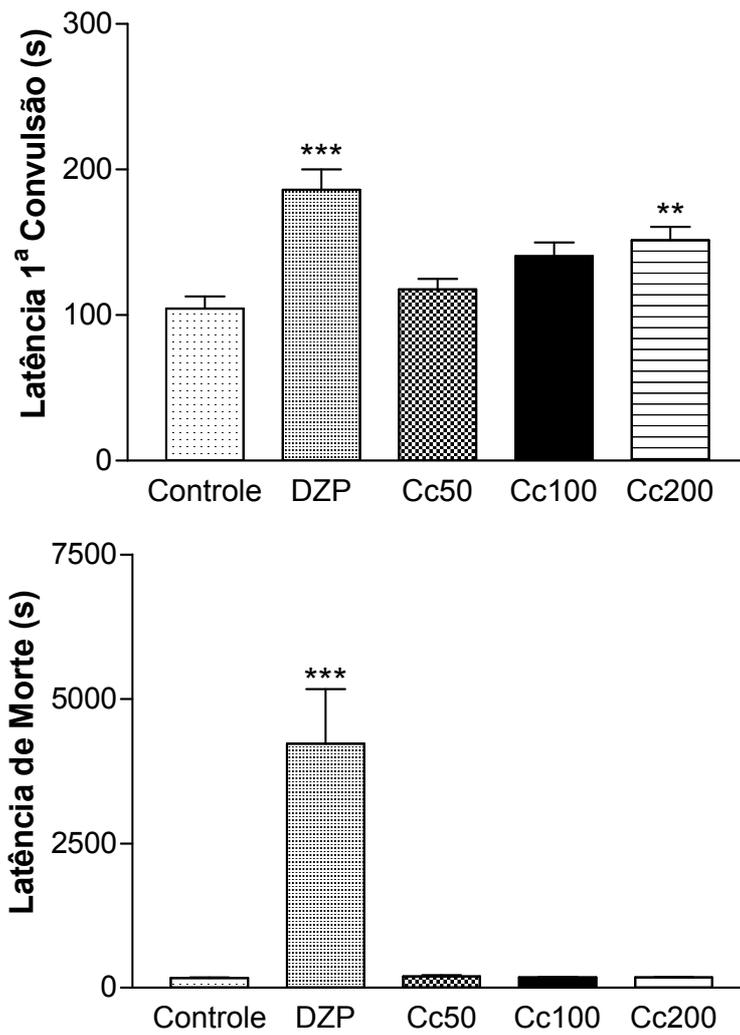


Figura 15. Camundongos Swiss machos receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de *C. citratus*, i.p., 30 min antes de Estriquinina (2mg/kg i.p). Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

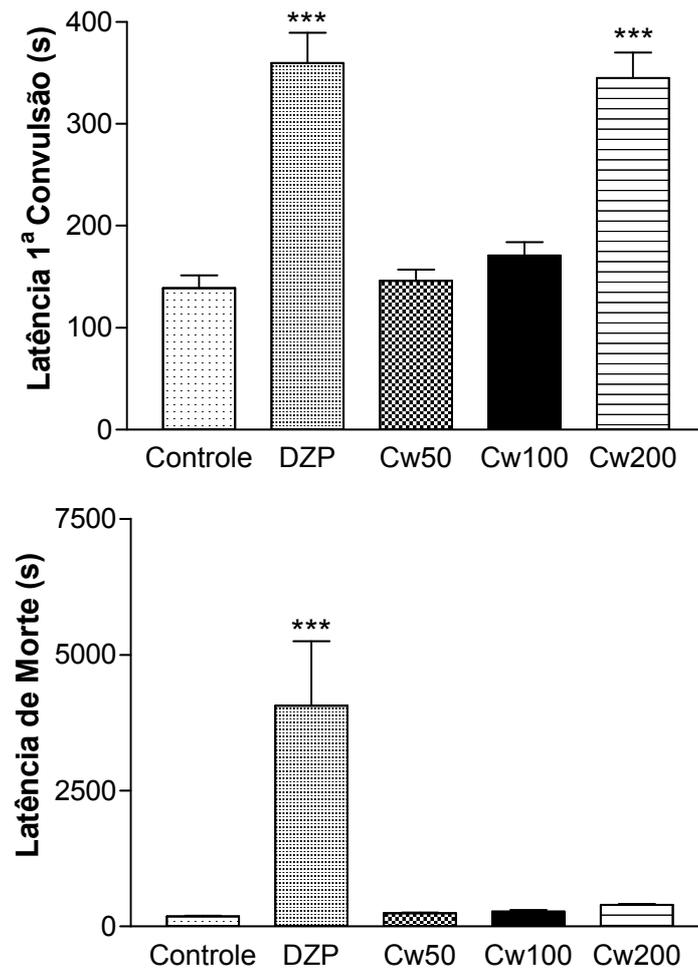


Figura 16. Camundongos Swiss machos receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de *C. winterianus*, i.p., 30 min antes de Estriquinina (2mg/kg i.p.).
Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Nos experimentos utilizando camundongos fêmeas, os animais receberam doses de 50, 100 e 200 mg/kg dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* via intraperitoneal. Verificamos alterações significativas somente do OE de *C. winterianus* nas doses de 100 e 200 mg/kg aumentando somente a latência da primeira convulsão, comparado com o controle (Tabela 8).

Tabela 8. Efeitos dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon winterianus* nas convulsões induzidas com Estriquinina em camundongos fêmeas.

Grupos	Latência de 1 ^a Convulsão	% de Convulsão	Latência de Morte	% de Sobrevivência
Veículo (H ₂ O i.p.)	130.7±8.7	100	158.6±13.9	0
DZP (1 mg/kg)	233.0±10.7***	100	6059±787.3***	43.75
<i>C. citratus</i> (i.p.)				
50 mg/kg	136.1±10.7	100	201.7±17.7	0
100 mg/kg	144.0±8.5	100	258.8±31.6	0
200 mg/kg	139.8±10.5	100	244.8±27.4	15.62
Veículo (H ₂ O i.p.)	134.6±12.9	100	246.9±29.5	0
DZP (1 mg/kg)	233.0±10.7**	100	4326±1107***	56.25
<i>C. winterianus</i> (i.p.)				
50 mg/kg	176.9±15.6	100	297.9±25.9	0
100 mg/kg	207.2±20.9**	100	322.5±44.9	9.37
200 mg/kg	203.0±10.0**	100	820.4±136.5	12.5

Camundongos Swiss fêmeas (n=40) receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE, i.p., 30 min antes de Estriquinina (2mg/kg i.p.). Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: **p<0.01; ***p<0.001.

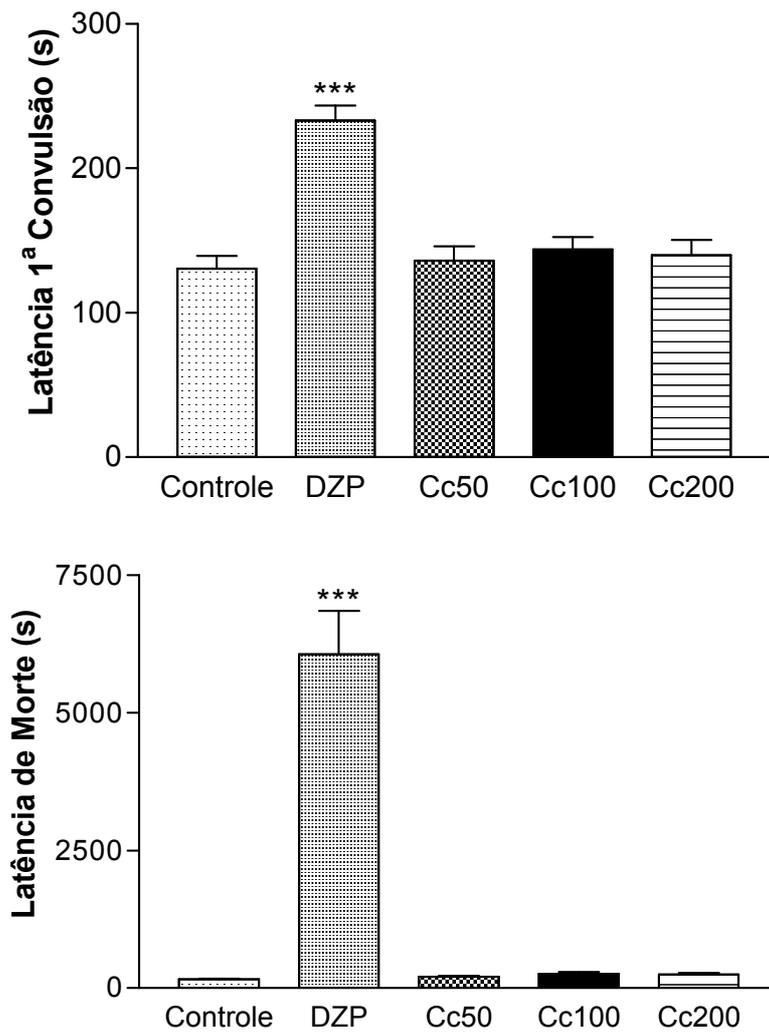


Figura 17. Camundongos Swiss fêmeas receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de *C. citratus*, i.p., 30 min antes de Estriquinina (2mg/kg i.p.).
Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

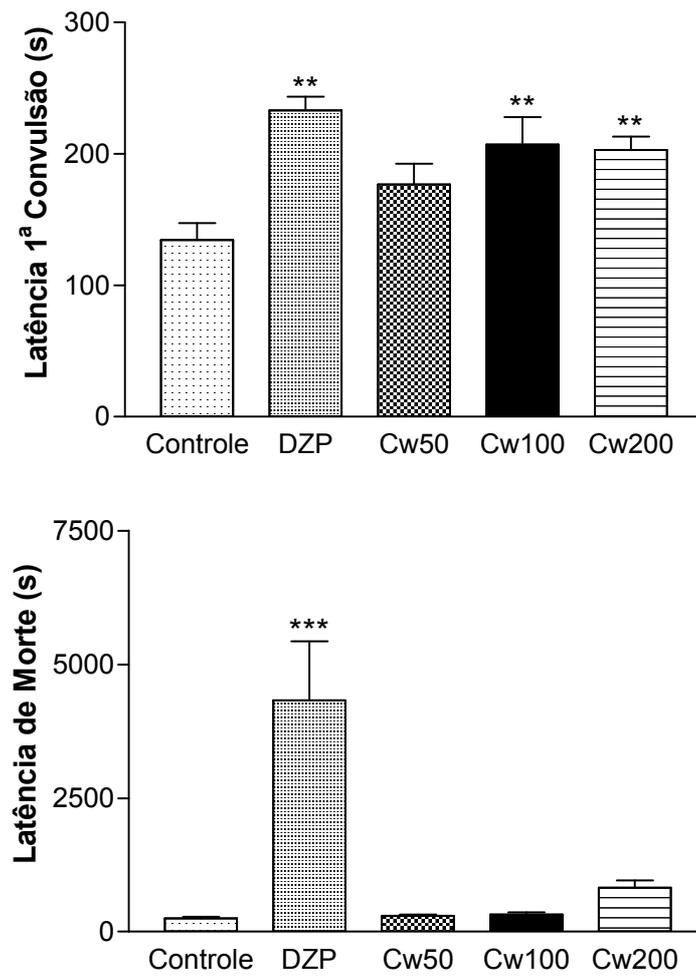


Figura 18. Camundongos Swiss fêmeas receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE de *C. winterianus*, i.p., 30 min antes de Estriquinina (2mg/kg i.p.).

Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

5.2.4 Efeito da potencialização com Diazepam no tratamento agudo dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* no teste de convulsões induzidas por Pentilenotetrazol (PTZ) em camundongos machos

Os animais tratados por via intraperitoneal com os OEs de *C. citratus* e *C. winterianus* na dose de 50 mg/kg juntamente com 0,25 mg/kg de Diazepam, apresentaram alterações significativas tanto na latência da primeira convulsão como na latência de morte comparado com o controle (Tabela 9).

Tabela 9. Efeitos da potencialização com DZP no tratamento com os óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* nas convulsões induzidas com PTZ em camundongos machos.

Grupos	Latência de 1 ^a Convulsão	% de Convulsão	Tempo de Morte	% de Sobrevivência
Veículo (H ₂ O i.p.)	112.7±19.2	100	376.9±63.6	0
DZP (0,25 mg/kg i.p.)	416.4±84.8	100	824.3±63.9**	65
<i>C. citratus</i> (50 mg/kg i.p.)	108.0±6.4	100	583.8±76.4	0
<i>C. winterianus</i> (50 mg/kg i.p.)	152.8±42.7	100	603.4±59.6	0
<i>C. citratus</i> + DZP (i.p.)	626.1±171.2**	83	874.9±78.7**	100
<i>C. winterianus</i> + DZP (i.p.)	826.3±215.2***	66	935.9±154.6***	85

Camundongos Swiss machos (n=48) receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses do OE, i.p., 30 min antes de PTZ (85 mg/kg i.p.). Os animais foram observados durante 2 horas após a injeção de PTZ. Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: **p<0.01; ***p<0.001.

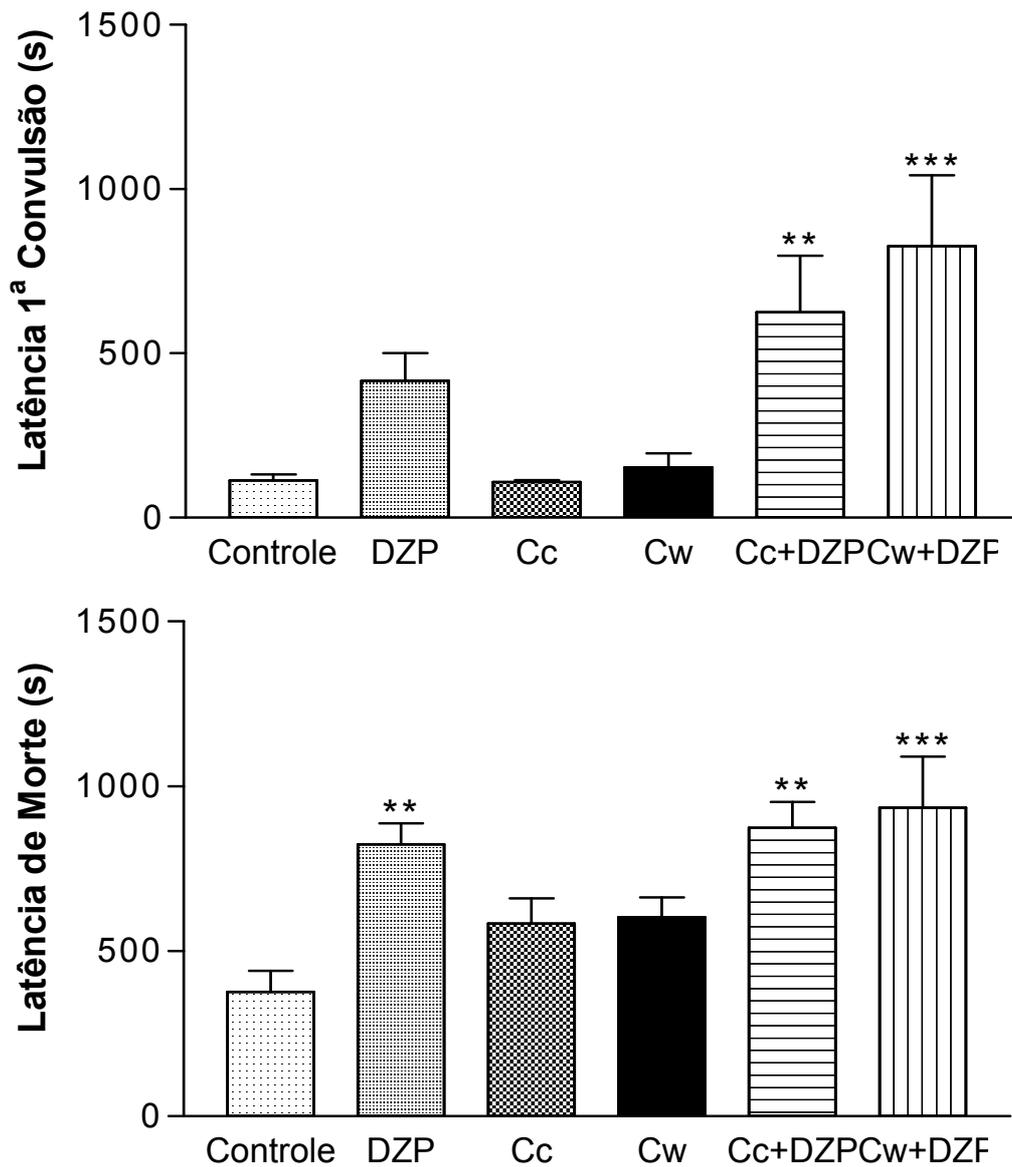


Figura 19. Camundongos Swiss machos receberam o veículo (água destilada + Cremophor 0.5%) ou diferentes doses dos OEs + DZP, i.p., 30 min antes de PTZ (85 mg/kg i.p.).

Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

5.2.5 Avaliação da atividade hipnótico/sedativa, ansiolítica e antidepressiva dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* em camundongos

5.2.5.1 Efeito do tratamento agudo dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* no sono Induzido por barbitúrico

Na figura 20 estão os resultados deste experimento 30 minutos após a administração por via intraperitoneal do veículo ou dos óleos essenciais nas concentrações de 50, 100 e 200 mg/kg e de diazepam (2,0 mg/kg). Houve potencialização na duração do efeito hipnosedativo do tiopental na concentração de 40 mg/kg e, como esperado, do diazepam em comparação ao grupo controle. O óleo essencial de *C. citratus* diminuiu o tempo em que os animais levaram para adormecer nas doses de 100 (168.2 ± 8.6) e 200 mg/kg (150.7 ± 8.3) comparado com o controle (254.3 ± 27.1), além de prolongar o tempo de sono nos animais induzidos por tiopental na dose de 40 mg/kg na dose de 200 mg/kg (4820 ± 791.9) comparado com o controle (2440 ± 1051).

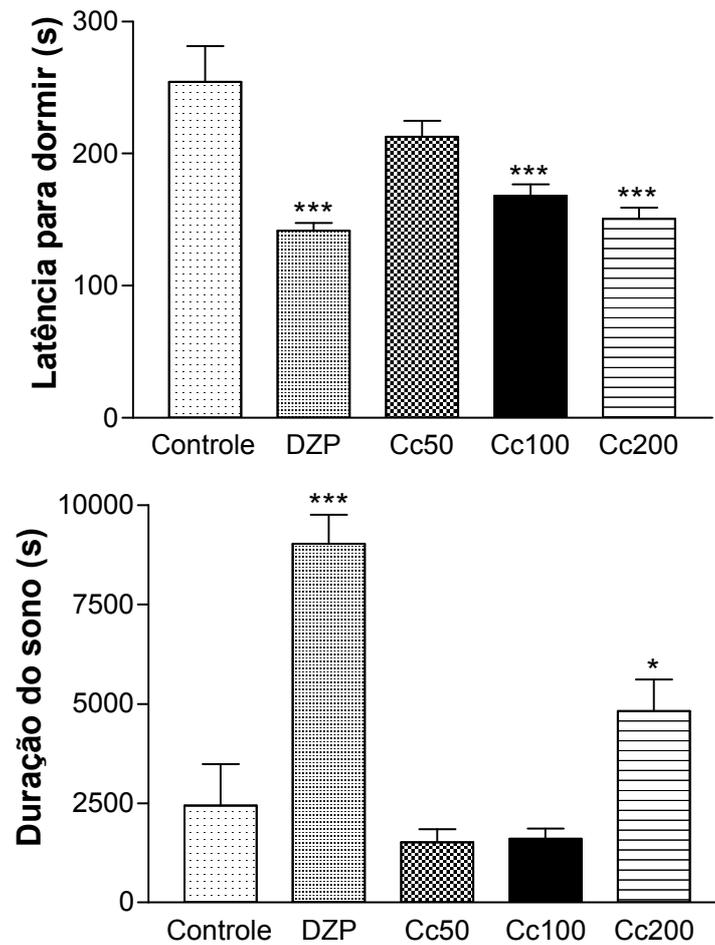


Figura 20. Efeito do tratamento agudo com OE de *C. citratus*, 30 min após sua administração intraperitoneal, na duração do sono barbitúrico (tiopental sódico 40 mg/kg i.p.) avaliado em camundongos machos (n=40). A duração do teste foi de no máximo 180 min.

Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

O tratamento agudo do óleo essencial de *C. winterianus* não apresentou efeito no tempo em que o animal levou para adormecer, contudo observou-se um prolongamento do sono nos animais pré-tratados nas concentrações de 100 (5460±703.6) e 200 mg/kg (7503±697.5) comparado com o controle (2264±456.7) como podemos observar na figura 21.

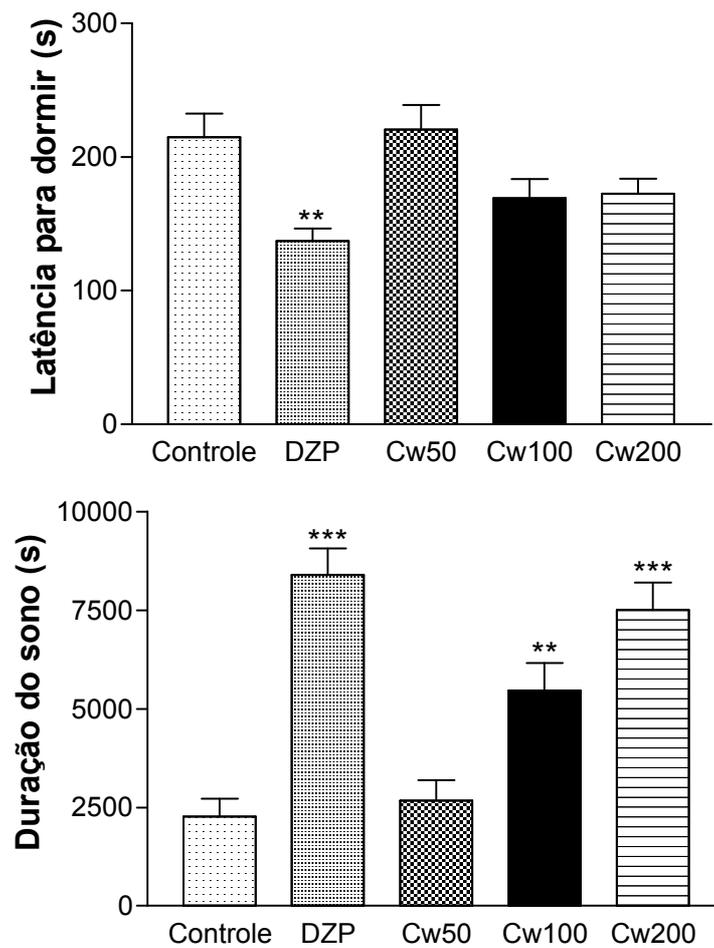


Figura 21. Efeito do tratamento agudo com OE de *C. winterianus*, 30 min após sua administração intraperitoneal, na duração do sono barbitúrico (tiopental sódico 40 mg/kg i.p.) avaliado em camundongos machos (n=40). A duração do teste foi de no máximo 180 min.

Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: **p<0.01; ***p<0.001.

5.2.6 Estudo dos efeitos comportamentais dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* no teste do Campo Aberto

A atividade locomotora espontânea, *grooming* e *rearing* foram os parâmetros analisados e os resultados foram expressos como número de cruzamentos, *grooming* e *rearing*. Os dados apresentados na figura 30 mostram que a administração dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus*, nas concentrações de 25, 50, 100, 200 mg/kg, não promoveu diferenças estatísticas significantes na movimentação espontânea dos animais registrada no campo aberto, quando comparado ao grupo controle ($p > 0,05$; C = 53 ± 2.9 ; DZP = 77.87 ± 5.1 ; Cc25 = 62.7 ± 4.4 ; Cc50 = 63.25 ± 2.8 ; Cc100 = 56.22 ± 6.2 ; Cc200 = 27.21 ± 5.3) e ($p > 0,05$; C = 58.91 ± 3.4 ; DZP = 111.3 ± 14.4 ; Cw25 = 65.0 ± 3.3 ; Cw50 = 63.0 ± 2.9 ; Cw100 = 49.13 ± 6.6 ; Cw200 = 26.88 ± 3.5) respectivamente, visto que os animais apresentaram sedação na concentração de 200 mg/kg de ambos os óleos essenciais. O grupo tratado com o diazepam (2 mg/kg i.p.) mostrou um aumento significativo da movimentação espontânea dos animais no campo aberto, validando o teste (Figura 22).

O número de *grooming* diminuiu de forma significativa após o tratamento intraperitoneal do óleo essencial de *C. citratus* na dose de 200 mg/kg (3.563 ± 0.44) comparado com o controle (7.563 ± 0.88), o diazepam 2 mg/kg (3.25 ± 0.42) também reduziu este parâmetro comparado com o controle. Enquanto que o óleo essencial de *C. winterianus* conseguiu diminuir o número de *grooming* nas doses de 100 mg/kg (5.0 ± 0.73) e 200 mg/kg (3.625 ± 0.56) comparado com o controle (9.188 ± 0.9) (Figura 23).

A figura 24 mostra que os óleos essenciais também diminuíram o número de *rearing*. O OE de *C. citratus* diminuiu este parâmetro na dose de 200 mg/kg (16.25 ± 1.55) comparado com o controle (24.63 ± 2.5) e o OE de *C. winterianus* conseguiu diminuir o número de *rearing* nas doses de 100 mg/kg (17.56 ± 1.33) e 200 mg/kg (10.19 ± 1.1) comparado com o controle (22.31 ± 1.4)

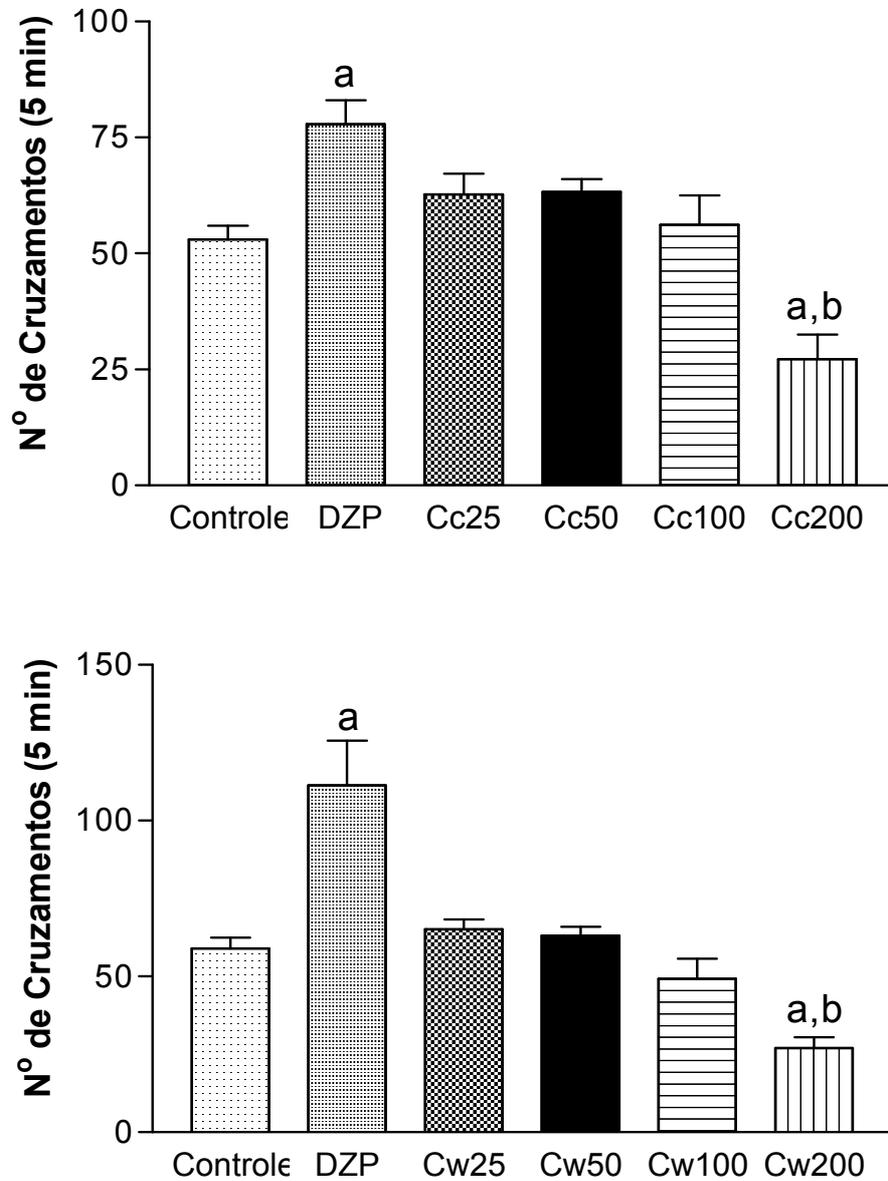


Figura 22. Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus* no modelo do campo aberto avaliado em camundongos machos (n=48).

Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: a: $p < 0.001$ comparado ao controle; b: $p < 0.001$ comparado ao DZP.

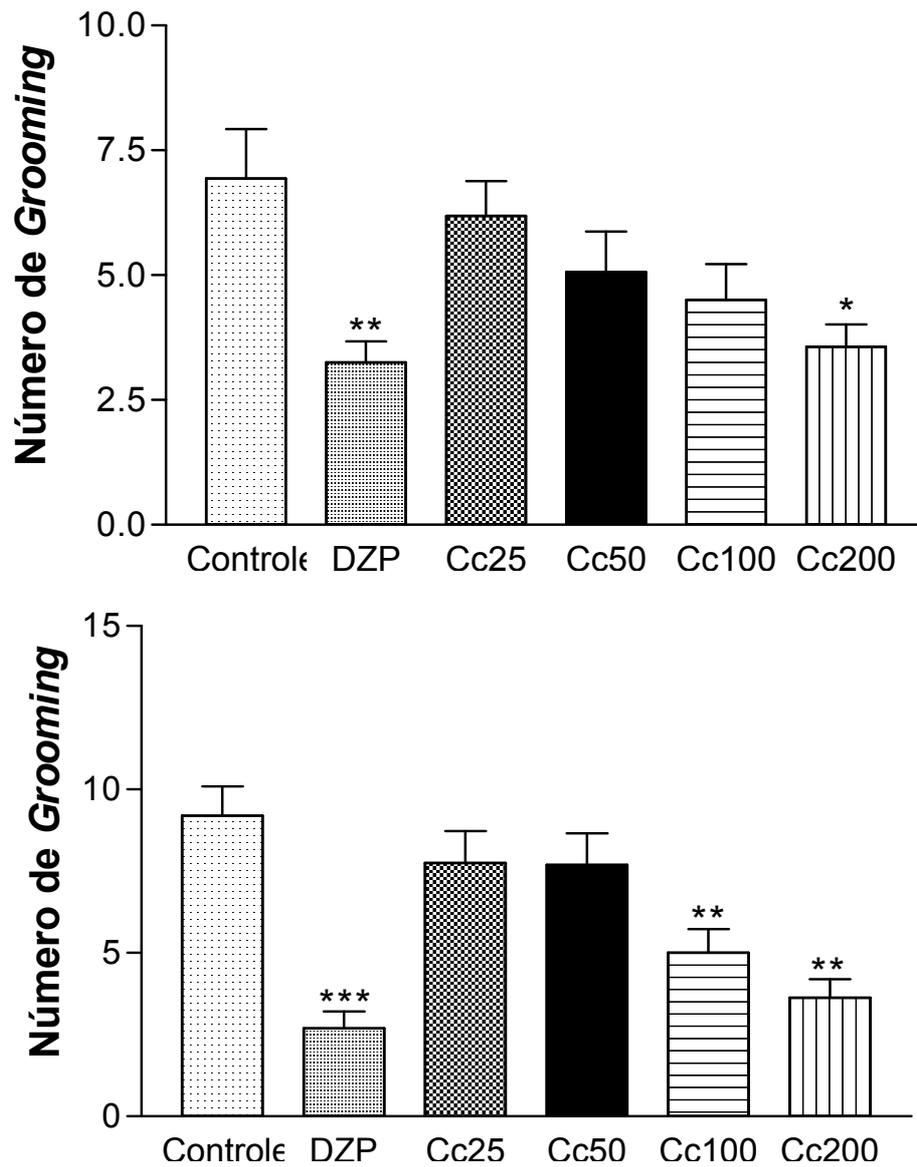


Figura 23. Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus* sobre o número de *grooming* no modelo do campo aberto avaliado em camundongos machos (n=48).

Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

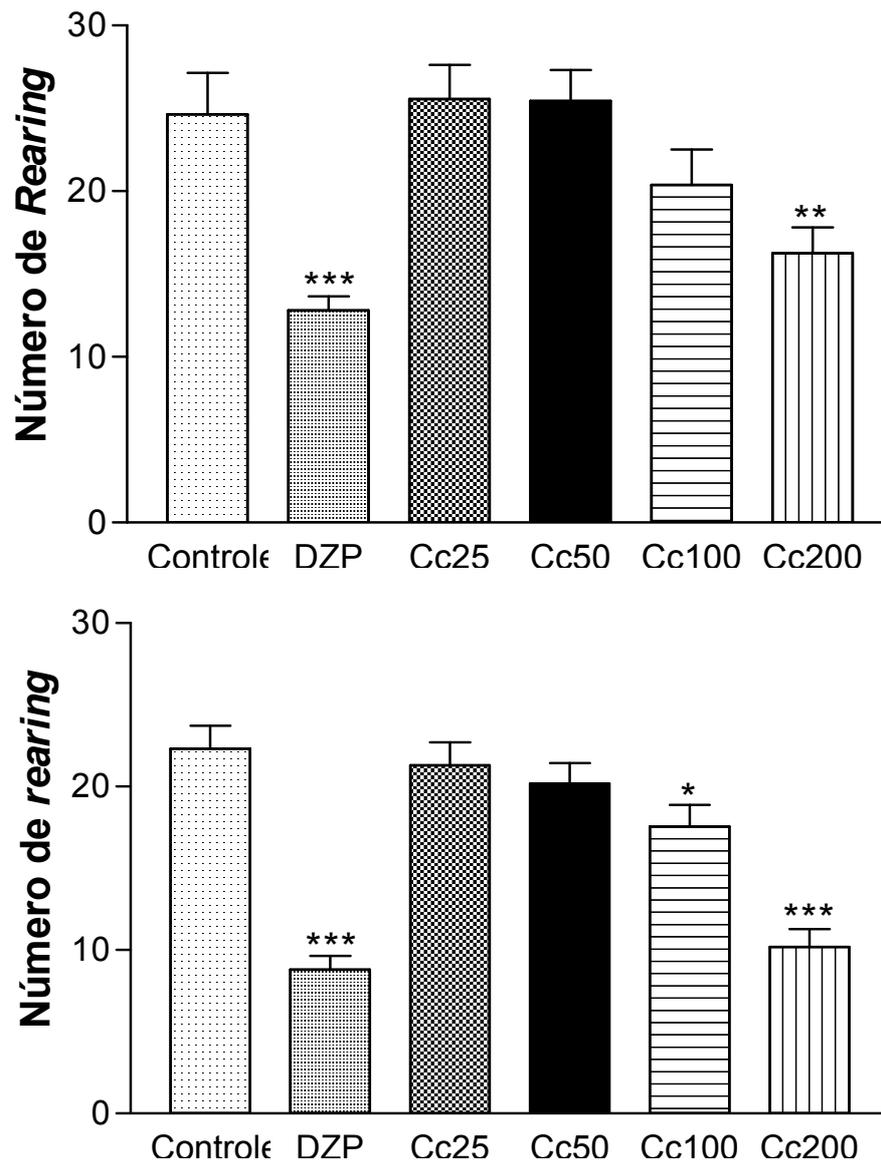


Figura 24. Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus* sobre o número de *rearing* no modelo do campo aberto avaliado em camundongos machos (n=48).

Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

5.2.7 Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus* no Teste de Labirinto em Cruz Elevado

O tratamento agudo dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* por via intraperitoneal, nas concentrações de 25, 50, 100 e 200 mg/kg não modificou significativamente a frequência de entradas nos braços abertos ($p > 0,05$; C = 2.3 ± 0.25 ; DZP = 5.0 ± 0.5 ; Cc25 = 3.3 ± 0.2 ; Cc50 = 3.3 ± 0.4 ; Cc100 = 2.6 ± 0.4 ; Cc200 = 1.3 ± 0.2) e ($p > 0,05$; C = 3.8 ± 0.5 ; DZP = 14.3 ± 0.9 ; Cw25 = 5.3 ± 0.3 ; Cw50 = 5.8 ± 0.7 ; Cw100 = 3.7 ± 0.5 ; Cw200 = 2.0 ± 0.4), porém nas doses de 100 e 200 mg/Kg de ambos os óleos essenciais os animais apresentaram forte sedação (Figura 25). O tempo de permanência no braço aberto também foi alterado somente nas doses maiores ($p > 0,05$; C = 40.13 ± 7.5 ; DZP = 100.7 ± 9.5 ; Cc25 = 38.69 ± 4.5 ; Cc50 = 55.94 ± 5.3 ; Cc100 = 90.38 ± 11.74 ; Cc200 = 105.3 ± 19.27) e ($p > 0,05$; C = 42.81 ± 5.4 ; DZP = 152.3 ± 9.1 ; Cw25 = 49.19 ± 6.0 ; Cw50 = 48.06 ± 5.6 ; Cw100 = 52.13 ± 6.9 ; Cw200 = 119.4 ± 21.42) comparado com o controle (Figura 26). Houve diferença estatística significativa entre o grupo controle e o grupo em que foi administrado com o Diazepam (2 mg/kg i.p.), no qual foi observado aumento tanto na frequência de entradas nos braços aberto quanto no tempo de permanência nestes braços, mostrando a validade do experimento.

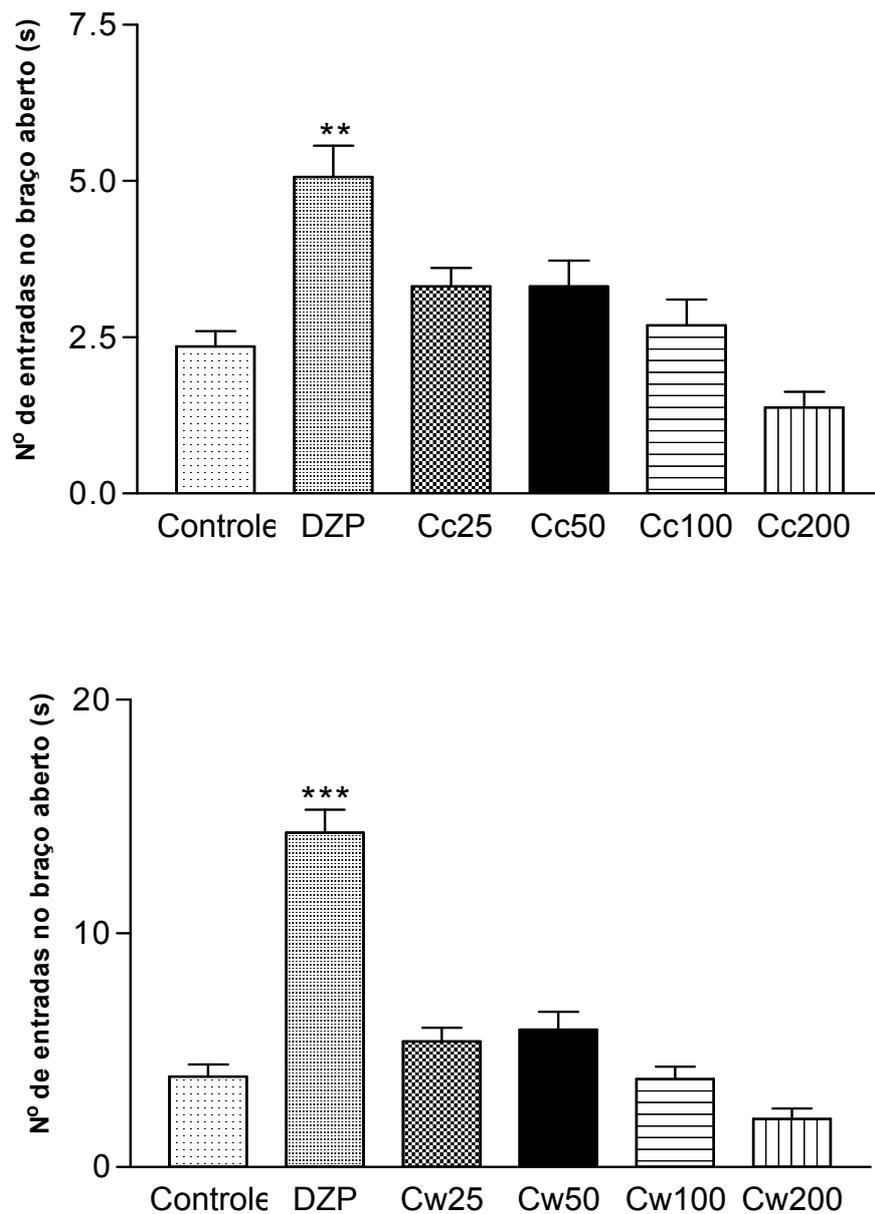


Figura 25. Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus*, sobre o número de entradas no braço aberto (NEBA) no modelo do labirinto em cruz elevado avaliado em camundongos machos (n=48).

Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

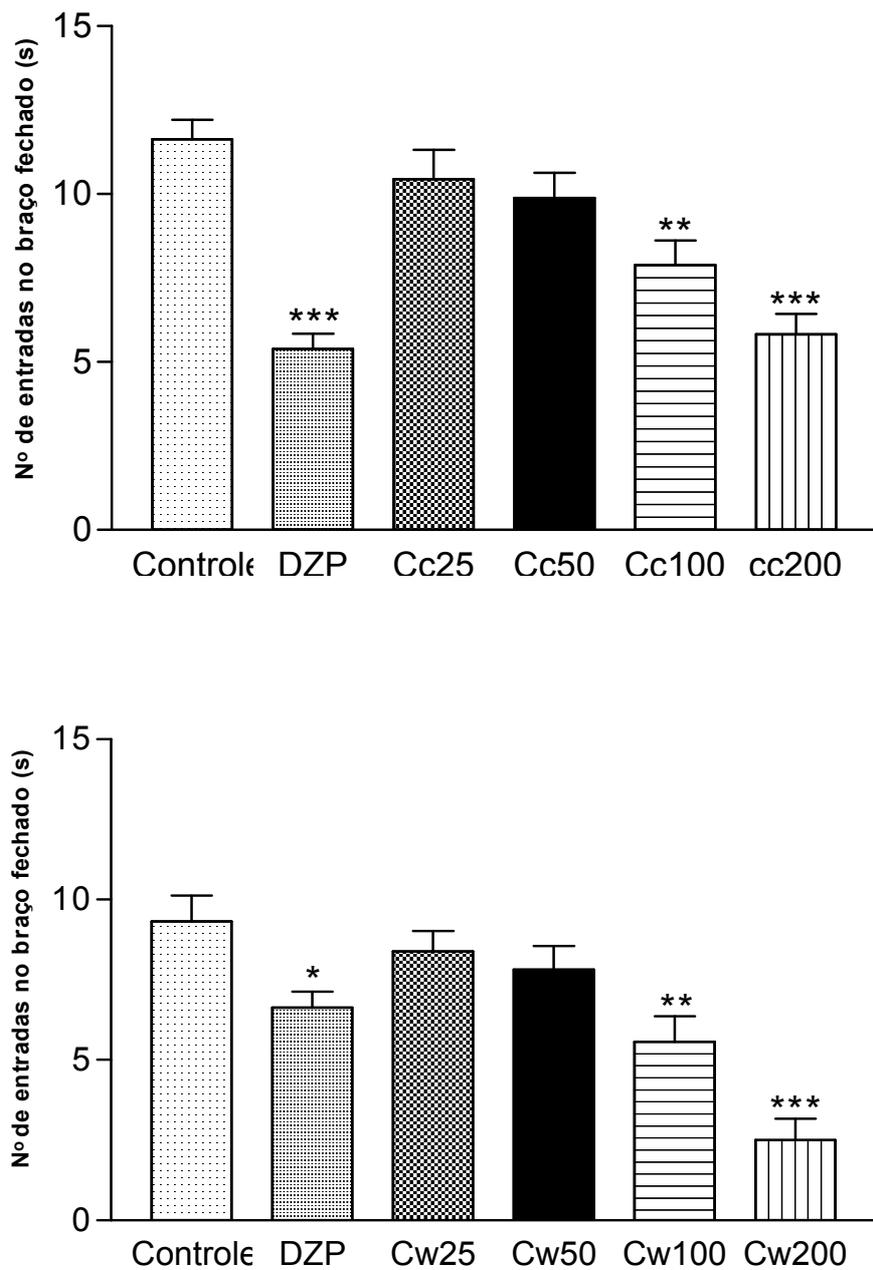


Figura 26. Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus*, sobre o número de entradas no braço fechado (NEBF) no modelo do labirinto em cruz elevado avaliado em camundongos machos (n=48).

Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: **p<0.01; ***p<0.001.

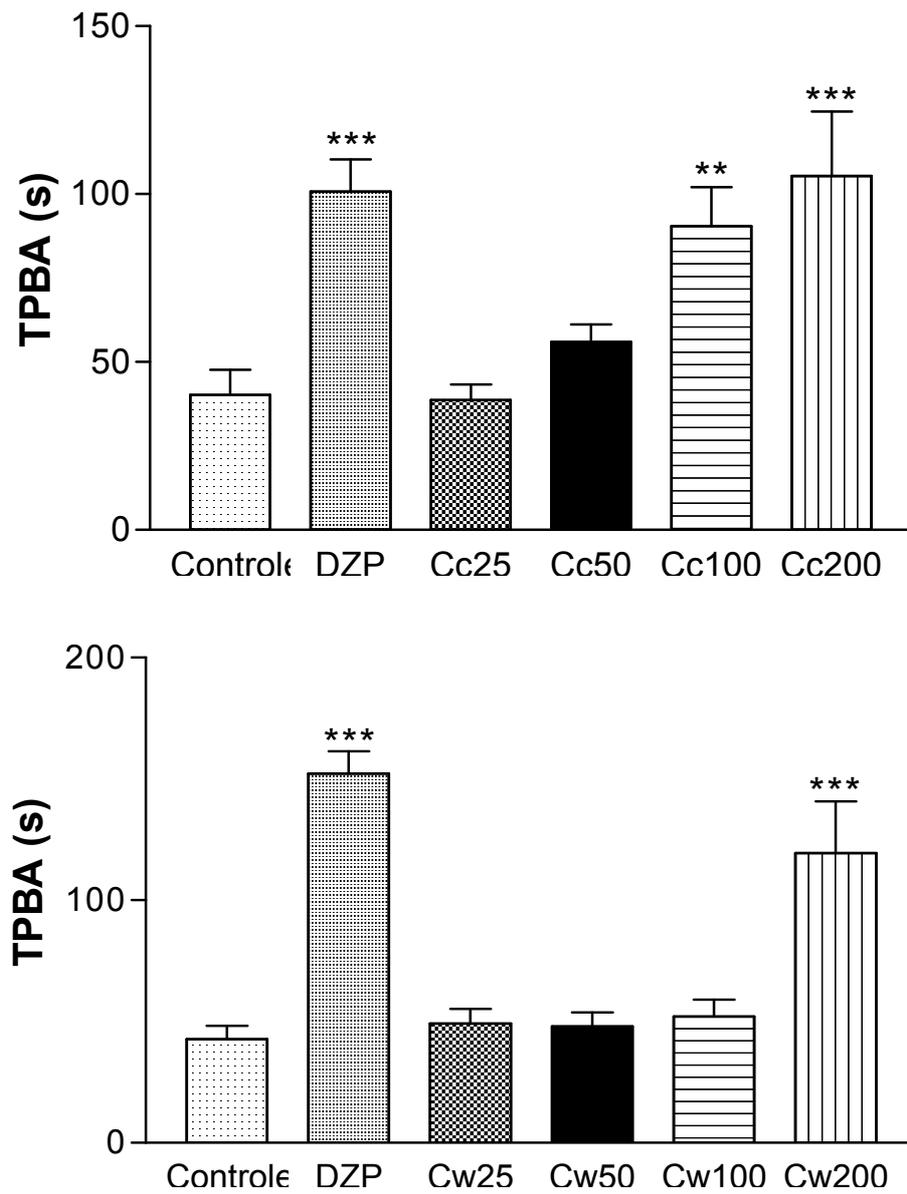


Figura 27. Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus*, sobre o tempo de permanência no braço aberto (TPBA) no modelo do labirinto em cruz elevado avaliado em camundongos machos (n=48).

Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

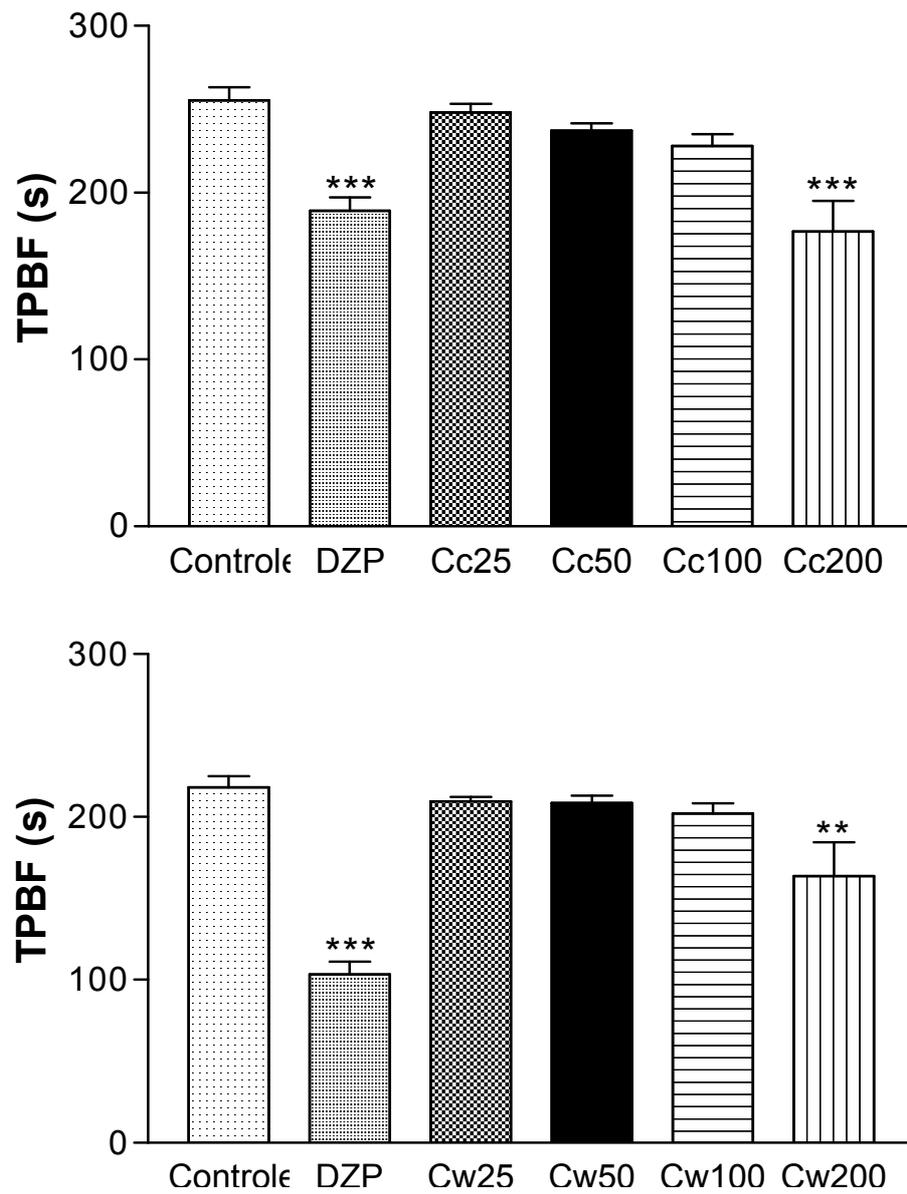


Figura 28. Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus*, sobre o tempo de permanência no braço fechado (TPBF) no modelo do labirinto em cruz elevado avaliado em camundongos machos (n=48).

Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

5.2.8 Avaliação da coordenação motora – Teste do *Rota Rod*

A avaliação da influência sobre a coordenação motora dos camundongos pelos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus*, foi testada dividindo-se os animais em número de oito por grupo. Estes foram tratados com os óleos essenciais nas doses de 25, 50, 100 e 200 mg/kg, controle (Cremophor a 0,5%) e diazepam (2 mg/kg) quando foram analisados os seguintes parâmetros, tempo de permanência na barra giratória e número de quedas. Em todos os parâmetros analisados os óleos essenciais de ambas as espécies, em nenhuma das concentrações testadas, alterou significativamente o comportamento dos animais ($p > 0,05$; C = 0 ± 0 ; DZP = 0.2 ± 0.08 ; Cc25 = 0 ± 0 ; Cc50 = 0 ± 0 ; Cc100 = 0.04 ± 0.04 ; Cc200 = 0.16 ± 0.09) e ($p > 0,05$; C = 0 ± 0 ; DZP = 0.2 ± 0.08 ; Cw25 = 0 ± 0 ; Cw50 = 0 ± 0 ; Cw100 = 0.08 ± 0.05 ; Cw200 = 0.16 ± 0.07), quando comparado ao controle, conforme mostra a tabela 10.

Tabela 10. Avaliação da coordenação motora – Teste do *Rota Rod* em camundongos.

Grupo	Nº de quedas	Tempo de permanência
Controle (H ₂ O)	0.00±0.00	60.00±0.00
DZP ()	0.20±0.08	58.00±1.14
<i>C. citratus</i>		
25 mg/kg	0.00±0.00	60.00±0.00
50 mg/kg	0.00±0.00	60.00±0.00
100 mg/kg	0.04±0.04	59.54±0.45
200 mg/kg	0.16±0.09	58.33±0.99
Controle (H ₂ O)	0.00±0.00	60.00±0.00
DZP ()	0.20±0.08	56.96±1.53
<i>C. winterianus</i>		
25 mg/kg	0.00±0.00	60.00±0.00
50 mg/kg	0.00±0.00	60.00±0.00
100 mg/kg	0.08±0.05	59.04±0.80
200 mg/kg	0.16±0.07	58.21±1.07

Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus* no Teste de *Rota rod* avaliado em camundongos machos (n=48). Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: **p<0.01; ***p<0.001.

5.2.9 Avaliação da atividade antidepressiva – Nado Forçado

A atividade antidepressiva dos óleos essenciais em experimento agudo foi determinada através do Teste do Nado Forçado realizado em camundongos machos, administrando os óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* por via intraperitoneal, conforme descrito em Materiais e Métodos. Os animais foram tratados com OE de ambas as espécies nas doses de 25, 50, 100 e 200 mg/kg. O grupo controle recebeu Cremophor 0,5% e um grupo recebeu Imipramina (30 mg/kg, v.o.), droga utilizada como padrão positivo. Conforme os resultados expressos nesse modelo, o OE de *C. citratus* apresentou uma alteração significativa somente na dose de 25 mg/kg (51.65 ± 4.3) comparado com o controle (82.33 ± 8), visto que nas demais concentrações os animais permaneceram por mais tempo imóveis devido apresentarem sedação. Contudo, verificamos que o OE de *C. winterianus* apresentou resultados significativos dose-resposta a partir da dose de 25 (40.2 ± 4.8), 50 (52.3 ± 8) e 100mg/kg (73.6 ± 9.1) comparado com o controle (111.2 ± 7.3), no entanto na dose de 200 mg/kg (95.6 ± 9) os animais apresentaram sedação intensificando o tempo de imobilidade no experimento (Figura 29).

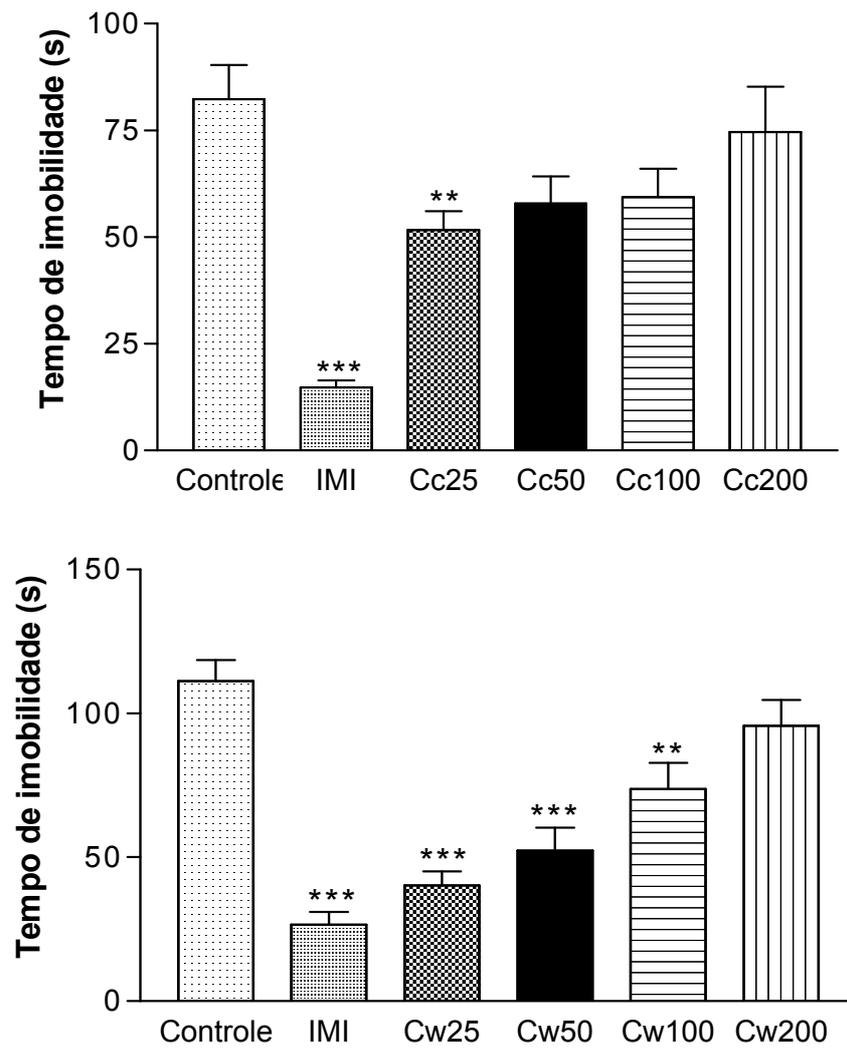


Figura 29. Avaliação do efeito comportamental dos OEs de *C. citratus* e *C. winterianus* no Teste do Nado Forçado avaliado em camundongos machos (n=48).
Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: **p<0.01; ***p<0.001.

5.2.10 Capacidade seqüestradora de radicais livres dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* determinada por ensaios de DPPH *in vitro*

Este ensaio foi usado analisar a capacidade seqüestradora de radicais livres dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus*. Nossos resultados não mostraram nenhuma atividade com o OE de *C. citratus* nas concentrações usadas de 200 e 400 µg/mL. Entretanto, embora também não muito eficiente, o OE de *C. winterianus* mostrou efeito significativo na concentração mais elevada (400 µg/ml). Ao contrário, a vitamina E (50 µg/mL) usada como a droga da referência, apresenta uma atividade antioxidante que diminui significativamente a absorbância em relação aos controles (Figura 30).

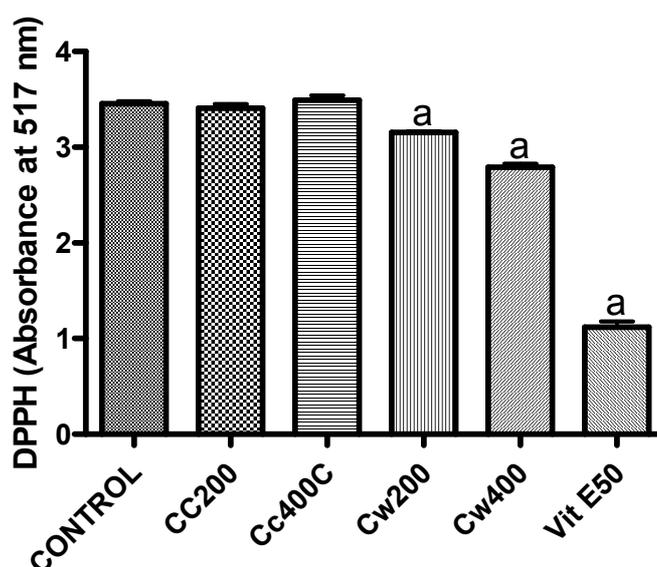


Figura 30. Avaliação dos Efeitos dos OEs de *C. citratus* (Cc) e *C. winterianus* (Cw), nas concentrações de 200 e 400 µg/mL na avaliação da capacidade seqüestradora de radicais livres determinada por ensaios de DPPH.

Nota: Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*.

5.2.11 Efeitos dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* na liberação de Lactato desidrogenase (LDH) de neutrófilos humanos *in vitro*

Este ensaio foi utilizado para analisar o grau de citotoxicidade dos óleos essenciais através da liberação da enzima Lactato desidrogenase (LDH). Não foi constatado citotoxicidade em nenhuma das concentrações utilizadas dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* comparado com o controle (Figura 31).

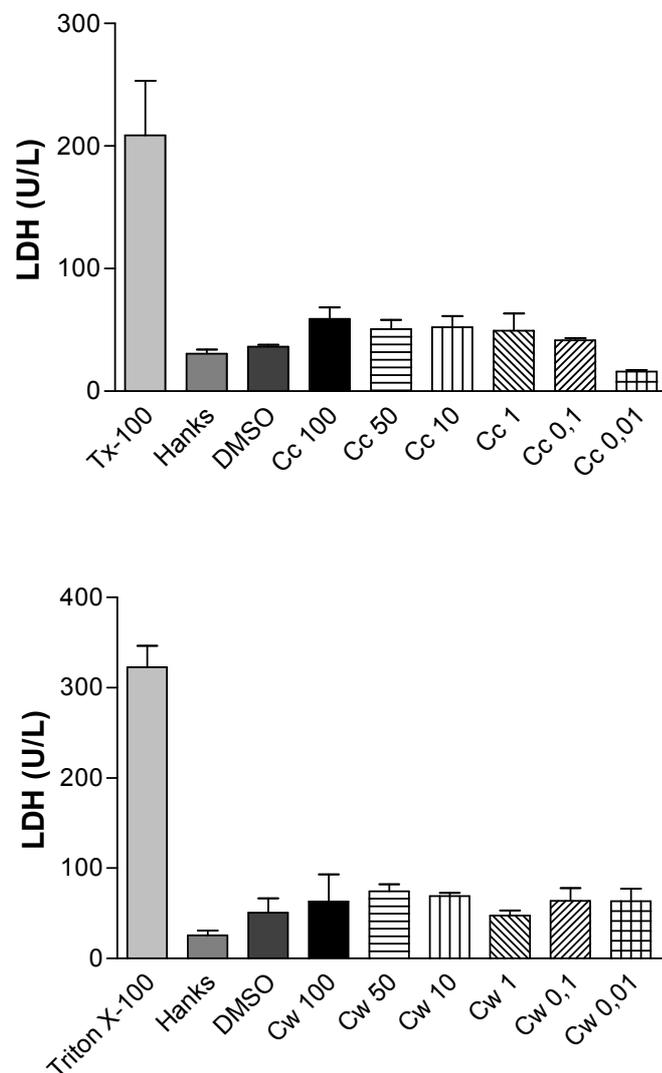


Figura 31. Efeitos dos OEs de *C. citratus* (Cc) e *C. winterianus* (Cw), nas concentrações de 1, 10 e 100 µg/mL, na liberação de LDH de neutrófilos humanos *in vitro*, indicando a ausência de citotoxicidade. Dados de 2-8 amostras vs. Triton X-100; vs. solução de Hanks. (ANOVA e test de Student-Newman-Keuls como *post hoc*).

5.2.12 Efeitos dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* na liberação de Mieloperoxidase (MPO) em neutrófilos humanos *in vitro*

Uma completa inibição da liberação de Mieloperoxidase, um biomarcador para inflamação, dos neutrófilos humanos estimulada por AMP (acetato de miristato de forbol) foi observada na presença de ambos os óleos essenciais, nas concentrações que variaram de 0.01 a 10 $\mu\text{g/mL}$ em comparação a DMSO. Um efeito significativo foi observado mesmo com as concentrações mais baixas (Figura 32).

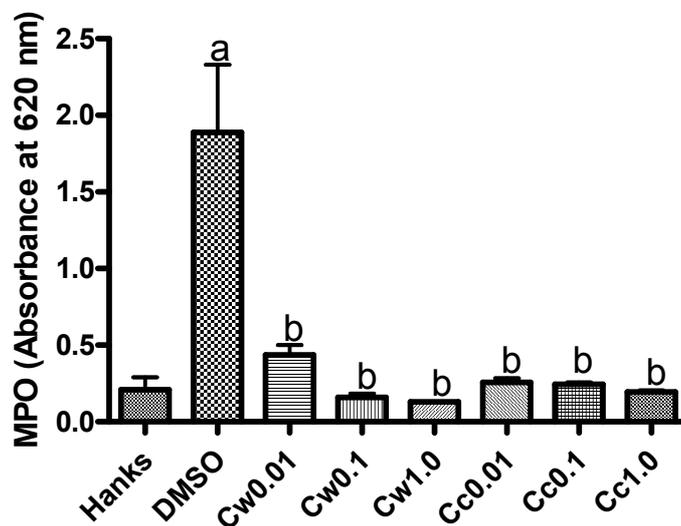


Figura 32. Efeitos dos OEs de *C. citratus* (Cc) e *C. winterianus* (Cw), nas concentrações de 0.01, 0.1 e 1 $\mu\text{g/mL}$, inibindo a liberação de MPO de neutrófilos humanos *in vitro*. Dados de 2-7 amostras vs. solução de Hanks; vs. DMSO; (ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como *post hoc*).

6 *DISCUSSÃO*

A utilização de plantas medicinais tornou-se um recurso terapêutico alternativo de grande aceitação pela população e vem crescendo junto à comunidade médica, que preza por plantas cujas atividades biológicas tenham sido investigadas cientificamente, comprovando sua segurança e eficácia (KINGORN, 2001). Dessa forma, é de fundamental importância que haja estudos pré-clínicos como forma de *screening* de novas drogas com ações terapêuticas para que posteriormente possam ser realizados estudos mais aprofundados concernente ao potencial farmacológico da droga, assim como a sua segurança.

O vasto campo de aplicação do óleo essencial de *C. citratus* e *C. winterianus* por indústrias de alimentos, cosmética e farmacêutica tem motivado ininterruptas pesquisas dessas espécies. O interesse em pesquisar compostos biologicamente ativos como os óleos essenciais levaram-nos a testar os seus efeitos no SNC dessas duas espécies.

Neste trabalho, os efeitos dos OEs foram estudados em vários modelos de comportamento, tais como convulsões induzidas por pilocarpina, pentilenotetrazol e estriquinina, tempo de sono induzido por barbitúrico, campo aberto, labirinto em cruz elevado, *rota rod* e nado forçado. Estes testes são modelos clássicos para *screening* de atividades sobre o sistema nervoso central em animais e fornece informações tais como desempenho psicomotor, locomoção, atividades anticonvulsivante, sedativo/hipnótica, relaxante muscular, ansiolítica e antidepressiva.

Alguns trabalhos mostraram que o óleo essencial de *C. citratus* apresenta efeitos farmacológicos. Dentre as atividades biológicas registradas da espécie destacam-se: efeito hipotensor e antiinflamatório da infusão da suas folhas, testado em ratos por Viana et al. (2000), ação fungicida do óleo essencial obtido das suas folhas contra *Aspergillus niger*, avaliado por Baratta et al. (1998), *Aspergillus fumigatus* e *Cladosporium trichoides* por Kishore et al. (1993), *Didymella bryoniae* por Fiori et al. (2000), *Aspergillum flavus*, sendo que esse último mostrou efeito superior ao promovido pelos fármacos fungicidas sintéticos, tais como, Agrosan G. N., Cerosan, Agrosim, Bavistin e Emison demonstrado por Mishra e Dubey (1994), bem como ação antibacteriana contra organismos g-positivos e g-negativos observada por Onawunmi e Ogunlana (1986).

Existem poucos relatos sobre a eficácia terapêutica do óleo essencial de *C. winterianus*, principalmente em relação ao sistema nervoso central. Labinas e Crocomo (2003) observaram que o óleo essencial de citronela de Java também

apresenta ação inseticida e de repelência sobre lagartas de *Spodoptera frugiperda*, uma espécie que causa grandes prejuízos as lavouras de milho. Martins (2006) realizou experimentos com diversas concentrações do óleo essencial de citronela sobre teleóginas e larvas do carrapato *Boophilus microplus*, bem como frente à postura e a eclosão de seus ovos e observou que na concentração de 10% o óleo essencial de citronela inibiu a postura das teleóginas e também a eclosão dos ovos. A citronela também pode ser utilizada para combater cólicas em animais e, além disso, sua beleza exótica pode harmonizar ambientes, ajudando também no combate a erosão do solo (CASTRO; CHEMALE, 1995). Além dessas propriedades, a citronela é utilizada na culinária chinesa e seu bagaço é aproveitado como ração animal, sendo provado que animais que se alimentam deste bagaço desenvolvem uma maior resistência a doenças (BARSOTTI, 2005).

Nesse estudo os rendimentos dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* foram equivalentes a 0,46% e 0,49% respectivamente, calculados utilizando a massa das folhas frescas. Autores, a exemplo de Singh et al. (1982) afirmaram que o rendimento em óleo essencial de *C. citratus* é de 0,28% a 0,50%. Observou-se que no sistema de cultivo e nas condições desse experimento houve bom rendimento.

Uma pesquisa realizada por Carvalho et al. (2005) comparando o rendimento em óleo essencial de *C. citratus* submetido a diferentes tipos de adubação, demonstrou que o tratamento com adubação orgânica apresentou um rendimento superior quando comparado ao tratamento com adubação convencional, entretanto, nesse estudo foi realizado apenas uma coleta, seria interessante outras pesquisas utilizando mais coletas em horários e temperaturas diferentes, bem como meses diversificados visando observar a reprodutibilidade do experimento. Um estudo comparativo entre o cultivo orgânico e biodinâmico com outro tipo de cultivo deve ser também realizado buscando nortear suas vantagens e desvantagens.

Segundo Nascimento et al. (2003), comercialmente distinguem-se dois tipos de óleo essencial de *C. citratus*, o East Indian e o West Indian conforme as diferenças de composição química que se refletem na solubilidade em álcool a 70% do teor de mirceno. Nas condições desse estudo observou-se que os teores relativos de citral (68,91%) e mirceno (24,80%) caracterizaram esse óleo como provavelmente do tipo West Indian, entretanto, outros experimentos devem ser

conduzidos em horários diferentes de coletas das folhas dessa plantas, visto que para Castro (2001) a composição de um óleo essencial comumente é bastante dinâmica, sendo que as interconversões dos seus constituintes abrangem reações de oxidação, redução, desidratação, hidratação, isomerização e ciclização.

Segundo Ordóñez et al. (2004) as ações antibacteriana, antifúngica, calmante e espasmolítica comprovadas desse óleo são atribuídas aos constituintes geranial e neral, já o mirceno isolado não apresentou tais atividades, mas demonstrou ação analgésica.

Os compostos voláteis são muito sensíveis ao processo de secagem. Alterações na concentração de compostos voláteis durante a secagem podem ser afetadas por vários fatores como o método de secagem e as características do produto submetido à secagem (VENSKUTONIS, 1997).

Os óleos essenciais de *C. citratus* e *C winterianus* são usados popularmente no Brasil, principalmente devido as suas ações no sistema nervoso central, porém com poucos estudos sobre este tipo de atividade. O presente estudo fornece dados sobre os efeitos dos óleos essenciais (OEs) no sistema nervoso central de camundongos, concentrando-se principalmente sobre seus efeitos anticonvulsivantes, sedativo/hipnótico, ansiolítico e antidepressivo (ALMEIDA, 2003).

As convulsões são propostas como resultado do desequilíbrio das atividades excitatórias e inibitórias neuronais, seguida do aumento da excitação glutamatérgica ou redução da inibição gabaérgica (ELISABETSKY et al., 1999). As convulsões do tipo tônico-clônicas generalizadas podem ser estudadas através de modelos que utilizem a administração sistêmica de substâncias químicas convulsivantes, muito usadas como *screening* de drogas anticonvulsivantes (SWINYARD et al., 1952).

Há vários modelos experimentais que nos possibilita refletir a epilepsia humana. Infelizmente, no momento não é possível julgar que modelo é o melhor para o desenvolvimento de novas estratégias na busca para drogas antiepilépticas. Por isso, uma bateria de modelos deve ser usada para evitar o negativo falso ou predições positivas (LÖSHER, 2002).

No trabalho atual, a atividade anticonvulsivante dos EOs foi avaliada por vários procedimentos experimentais, e um deles, a convulsão induzida por pilocarpina, amplamente utilizada para investigar drogas antiepilépticas, visto que é um modelo de epilepsia do lóbulo temporal. Todos estes modelos são de um valor

com caráter de previsão elevado para a detecção de drogas clínico-eficazes (NICOLL, 2001).

Nós mostramos que os óleos essenciais conseguiram modificar a propagação das convulsões induzidas por PTZ e por Pilocarpina, não somente da latência à primeira convulsão, mas também da latência de morte. A taxa de mortalidade foi reduzida significativamente, principalmente no modelo das convulsões induzidas por PTZ. De acordo com De Sarro e outros, 1999, PTZ pode exercer seu efeito convulsivante inibindo a atividade do Ácido Aminobutírico - (GABA), nos receptores de GABA_A. O Ácido Aminobutírico é o principal neurotransmissor inibitório envolvido no processo epiléptico (MELDRUM, 1989; WESTMORELAND, 1994).

O teste de PTZ identifica drogas com eficácia de encontro às crises de ausência, assim como convulsões mioclônicas. Os resultados comportamentais obtidos com os óleos essenciais das folhas frescas do *C. citratus* e do *C. winterianus* são de acordo com o uso etnofarmacológico destas plantas, sugerindo atividades anticonvulsivantes e sedativo/hipnóticas. Embora os óleos essenciais de ambas as espécies retardasse ambos os parâmetros (latência à primeira convulsão assim como a latência da morte), os efeitos do EO do *C. citratus* na latência à primeira convulsão foram mais intensos. Entretanto, ambos os OEs aumentaram significativamente o número de sobrevivências. Em decorrência dos OEs atrasarem a ocorrência da convulsão induzida por PTZ, é provável que eles possam interferir com os mecanismos Gabaérgicos a fim de exercer seus efeitos anticonvulsivantes. Este ponto foi corroborado pela potencialização do efeito do anticonvulsivante do Diazepam nas convulsões induzidas por PTZ como observado após sua associação com uma dose mais baixa de cada óleo essencial.

Recentemente Quitans-Júnior et al. (2008) relataram que o OE de *C. winterianus* apresentou uma atividade calmante do SNC e reduziu significativamente as convulsões induzidas por PTZ e Picrotoxina em roedores, também aumentou a latência das convulsões mioclônicas induzidas por Estriquinina. Entretanto, usaram doses mais altas do que as nossas, até 400 mg/kg. Semelhantemente, outros trabalhos (BLANCO, 2009) estudaram as propriedades ansiolíticas, hipnóticas e anticonvulsivante do OE de *C. citratus* administrado intraperitonealmente em ratos. Os autores utilizaram doses mais elevadas e observaram que o OE aumentou o tempo de sono induzido por tiopental, as convulsões induzidas por PTZ foram retardadas, e bloqueadas quando induzidas por eletrochoque máximo. De acordo

com eles, estes resultados indicam que o OE de *C. citratus* aumenta a latência da primeira convulsão e/ou bloqueia a propagação das convulsões. Embora seus resultados concordassem com os nossos, o uso de doses mais elevadas poderia diminuir a seletividade do OE estudado (BLANCO, 2009).

Quando a Pilocarpina, um agonista dos receptores colinérgicos, foi administrado como o agente convulsivante, o início das convulsões foi diminuído, mas a latência da morte foi atrasada, com doses mais elevadas dos óleos essenciais. É importante enfatizar que, neste modelo, o OE da *C. citratus* foi mais eficaz. Geralmente, a administração de Pilocarpina induz a ocorrência de sinais colinérgicos (salivação e diarreia) nos sistemas nervosos central (tremor) e periférico, o que poderia ser observado nos animais tratados com os OEs. Mostrou-se que o *Status epilepticus* (ES) induzido por Pilocarpina pode conduzir a um *downregulation* dos receptores metabotrópicos do Glutamato tais como mGuR8 que sugere que esta condição do ES esteja associada com uma diminuição da autoregulação da liberação do Glutamato. O esforço oxidativo foi implicado igualmente em diversas doenças, incluindo a Epilepsia. (KRAL, 2003).

Assim, relatou-se que o efeito protetor do Levetiracetam, uma droga antiepiléptica nova, de encontro às convulsões induzidas por Pilocarpina é mediado, pelo menos em partes, pela redução da peroxidação lipídica e do estresse oxidativo hipocampal (OLIVEIRA, 2007). A excitação dos aminoácidos excitatórios foi reconhecida como um mecanismo importante na gênese da convulsão (GUPTA, 2002, GUPTA; BRYAL, 2006). No presente estudo verificamos que pelo menos parte da ação anticonvulsivante do OE de *C. winteranus* parece está relacionada à sua ação sequestradora de radicais livres, determinado através do teste do DPPH. Contudo, estudos adicionais são necessários para confirmar esse achado.

Por outro lado, as convulsões induzidas por Estriquinina bloqueando os receptores da glicina aumentam a excitabilidade pós-sináptica e a atividade nos neurônios do corno dorsal (MCGARAUGHTY; HENRY, 1998). Os receptores da glicina sensíveis à estriquinina são localizados primeiramente na haste de cérebro e na medula espinhal, onde são mediadores principais da inibição pós-sináptica (KEHNE, 1992).

Uma atuação composta por um agonista do receptor da glicina seria potencialmente eficaz como um agente antiepiléptico. Nossos resultados demonstram que a administração aguda do OE de *C. winterianus* aumentou

significativamente a latência da primeira convulsão e da morte, somente na dose mais elevada. Conseqüentemente, este efeito sugere uma participação possível da neurotransmissão glicinérgica como mecanismo de ação desse óleo essencial.

Embora, no estudo atual, os dois óleos essenciais aumentaram ambos os parâmetros, no tempo de sono induzido por barbitúrico, o OE de *C. winterianus* foi mais significativo, principalmente na duração do sono. Contudo, recentemente mostrou-se que o OE de *C. citratus* aumentou o tempo de sono, porém as doses usadas por estes autores eram muito mais elevadas (BLANCO, 2009).

Uma diminuição na latência do sono e um aumento na duração do tempo de sono induzida pelo tiopental, como observado após o tratamento com os óleos essenciais, são parâmetros convencionais relativos a uma propriedade sedativo/hipnótica. Não obstante, é um teste não específico, desde que os compostos que diminuem a taxa de biotransformação hepática dos barbitúricos podem mostrar os mesmos efeitos comportamentais, como droga calmante do sistema nervoso central (FUJIMOTO, 1960).

Nossos resultados sugerem que os OEs de *C. citratus* e *C. winterians* têm um potencial efeito anticonvulsivante, por interferir no ponto inicial da convulsão e/ou bloqueio da sua propagação. Os resultados obtidos com os EOs são provavelmente devido a uma ação sinérgica de outros compostos presentes em pequenas quantidades. No entanto, nossos resultados reforçam o potencial terapêutico do OEs das duas espécies e indica o valor biológico e cultural dos estudos na medicina popular tradicional como uma fonte de novas drogas para o tratamento de distúrbios centrais.

No estado de ansiedade, as reações de comportamentos defensivos, reflexos autônomos, o “despertar” e a vigilância, a secreção de corticosteróides e as emoções negativas, ocorrem de uma maneira antecipada, independentemente dos eventos externos. A distinção entre um estado ansioso “patológico” e “normal” não tem contornos nítidos, mas representa o ponto no qual os sintomas interferem com as atividades produtivas normais (RANG et al., 2003). O aparecimento dos benzodiazepínicos contribuiu para uma melhor compreensão das bases da ansiedade. Essas drogas foram introduzidas na clínica médicas há mais de quatro décadas e são os agentes ansiolíticos de escolha devido a sua efetividade e relativa segurança. Entretanto, essas drogas podem produzir tolerância e dependência física

(WALKER, 1990). Isto tem direcionado a pesquisa para novos e melhores agentes ansiolíticos.

O estudo comportamental relacionado à ansiedade em modelos animais é baseado na afirmativa de que a ansiedade em animais é comparável a ansiedade em humanos. Apesar disso, não pode ser provado que um animal vive a ansiedade da mesma maneira que um ser humano. Por outro lado é incontestável que diferentes modelos comportamentais em roedores indicam ansiedade, isto é, mudanças comportamentais e periféricas que, presumivelmente podem estar relacionadas com uma alta atividade do SNC (OHL, 2003). Portanto, uma analogia, senão uma homologia pode ser assumida entre a ansiedade em humanos e roedores.

Levando em consideração as várias maneiras de manter o animal sob o estresse, é bem conhecido na literatura, através de estudos de campo e observações laboratoriais, que roedores tendem a evitar a área desprotegida de um ambiente novo a qual são submetidos pela primeira vez (TREIT; FUNDYTUS, 1989).

Em um experimento, geralmente representado por uma área definida, como no campo aberto, os roedores tipicamente começam a explorar o ambiente próximo às paredes enquanto evita a parte aberta, isto é, a área desprotegida. Para garantir que o animal exploraria a área desprotegida, em nosso experimento de campo aberto, colocamos o animal no centro deste ao invés da lateral. Outro ponto causador de estresse é o nível de iluminação do ambiente, sendo uma área clara mais aversiva para roedores, portanto produzindo uma aversão mais pronunciada do que uma área escura. Dessa maneira, em nossos experimentos, colocamos os animais em sala fechada pobremente iluminada com uma luz vermelha de 15W.

O teste do campo aberto é empregado para avaliar a atividade exploratória dos animais. A tendência natural do animal em um ambiente novo é a de explorá-lo, apesar do estresse e do conflito provocado por este ambiente (MONTGOMERY, 1958). Desta forma, a locomoção, *grooming*, *rearing* em roedores, observados no campo aberto, são os parâmetros comportamentais mais usados para descrever influências dos eventos da vida ou da administração das drogas. Dados na literatura demonstraram que a redução na atividade locomotora espontânea dá uma indicação do nível de excitabilidade do SNC (MANSUR et al., 1971), e esta redução pode está relacionada com a sedação resultante da depressão do SNC (PEREZ et al., 1998).

Além do campo aberto, outra possibilidade de aumentar a versão de um roedor contra uma área desprotegida é elevando-a e impedindo o animal de ver o chão, como pode ser visto no teste do labirinto em cruz elevado. Este teste baseia-se no fato de que roedores têm aversão a lugares abertos e elevados (MONTGOMERY, 1958), os animais geralmente restringem a maioria de suas atividades aos braços fechados. Uma atividade relativamente baixa nos braços abertos é indicativa de ansiedade. Este modelo experimental é muito sensível para determinar a influência do receptor GABA_A/Benzodiazepínico no processo de ansiedade, pois, roedores submetidos ao tratamento com ansiolíticos, como o diazepam, cruzam mais vezes pelos braços abertos e permanecem mais tempo nestes braços quando comparados aos animais controles (ZANGROSSI, 1997) enquanto que, drogas como a buspirona, que atua em receptores serotoninérgicos, apresenta resultados muito variáveis em relação a este teste.

O teste da barra giratória *rota rod* foi proposto por Dunham e Miya (1957). Consiste em colocar camundongos sobre uma barra que gira numa velocidade constante e verificar a capacidade do animal de equilibrar-se sobre a mesma. Este teste mede o efeito de relaxamento muscular ou incoordenação motora, ou seja, quanto mais intenso for o efeito, menor será o tempo em que o animal consegue se equilibrar sobre a barra (CARLINI; BURGOS, 1979).

O presente estudo fornece dados sobre o desempenho motor e as atividades ansiolítica e hipnótico/sedativa dos OEs em camundongos. Os testes do *rota rod* e do campo aberto foram utilizados para avaliar as atividades locomotora e exploratória dos animais respectivamente. A coordenação motora, o equilíbrio e a capacidade exploratória foram comprometidos somente nas doses mais elevadas, visto que observamos uma elevada sedação nos grupos tratados com os OEs na concentração de 200mg/kg, nas demais concentrações os animais não apresentaram nenhuma resposta significativa.

De acordo com MacFarland e Reeder (1974), quase todos os animais gastam uma significativa parte do tempo no comportamento do *grooming*. Embora vários transmissores possam modular a expressão deste comportamento (TRABER et al. apud SERAFIM; FELICIO, 2001), a dopamina está particularmente envolvida (COOLS; SPRUIJT; ELLENBROEK apud SERAFIM; FELICIO, 2001). Neste estudo houve uma diminuição de *grooming* no campo aberto em ambos os óleos essenciais nas doses maiores, em decorrência da sedação ocasionada por eles.

A atividade de *rearing* parece estar relacionada com a hiperatividade dopaminérgica. Estudos apontam que o aumento da atividade dopaminérgica induz um maior comportamento de *rearing* (SWANSON et al., 1997). Em alguns estudos o *rearing* tem sido focalizado como um aspecto de comportamento exploratório (JOHANSSON; AHLENIUS, 1989). Nos experimentos deste trabalho, os óleos essenciais de ambas as espécies reduziram o número de *rearing*, nas doses mais elevadas, devido à sedação causada por elas. A dose de diazepam usada neste estudo também reduziu o número de *rearing*.

No teste do labirinto em cruz elevado, o diazepam usado como droga de referência, como esperado produziu aumento em todos os parâmetros analisados, ou seja, número de entradas no braço aberto (NEBA) e tempo de permanência no braço aberto (TPBA). Neste modelo, os animais tratados com os OEs agiram semelhantemente aos do grupo controle, exceto na dose de 200 mg/kg que apresentaram forte sedação. O efeito sedativo e a redução da atividade locomotora são dados que indicam uma atividade depressora do SNC dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus*.

A depressão é uma condição psiquiátrica extremamente comum, debilitante, com uma significativa incidência na população mundial. Numerosos compostos antidepressivos estão agora disponíveis e presume-se que agem através de diferentes mecanismos, incluindo os sistemas noradrenérgico, serotoninérgico e/ou dopaminérgico. A heterogeneidade da resposta clínica às drogas antidepressivas e estabilizadoras do humor, e, a susceptibilidade aos efeitos adversos, são os maiores problemas encontrados atualmente na clínica (LERER; MACCIARDI, 2002).

Os modelos animais de depressão são tipicamente baseados na exposição de animais a condições estressantes (situação ameaçadora), e há vários testes específicos para medir as respostas comportamentais e psicológicas. O nado forçado é um dos modelos animais mais amplamente utilizados para *screening* de novas drogas antidepressivas. Os animais são obrigados a nadar em um recipiente com água de onde é impossível escapar. Inicialmente, há uma tentativa desesperada de sair dessa situação, quando os animais apresentam um período de vigorosa atividade seguida por momentos que permanecem imóveis, limitando-se aos movimentos necessários para manter suas cabeças fora d'água (PORSOLT et al., 1977).

O óleo essencial de *C. citratus* nesse teste diminuiu o tempo de imobilidade somente na dose de 25 mg/kg, enquanto que o de *C. winterianus* apresentou efeito significativo nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg. No entanto, o tempo de imobilidade intensificou-se na dose de 200 mg/kg dos dois OEs, devido à sedação ocasionada nos animais. A imipramina (inibidor da recaptação de noradrenalina e serotonina), usada como padrão positivo no teste, também diminuiu o tempo de imobilidade dos animais, corroborando com os estudos que mostram a sensibilidade deste teste às várias classes de drogas antidepressivas.

No estudo atual nós demonstramos igualmente que ambos os OEs inibiram potencialmente a liberação de MPO (um biomarcador para a inflamação) dos neutrófilos humanos *in vitro*. Adicionalmente, nenhum dos OEs mostraram citotoxicidade como avaliada pelo ensaio de Lactato desidrogenase (LDH). A avaliação da capacidade seqüestradora de radicais livres determinada por ensaios de DPPH, mostrou efeito significativo somente no óleo essencial de *C. winterianus*. Os processos inflamatórios tais como a produção de citocinas inflamatórias e de moléculas relacionadas, foram descritos no cérebro após as convulsões induzidas em modelos experimentais e em epilepsia humana (VEZZANI, 2005).

Segundo Vezzani (2005) nos últimos anos, cresceram as evidências que indicam a ocorrência de reações imunes e inflamatórias no cérebro em várias doenças do sistema nervoso central (SNC). Além disso, os processos inflamatórios, tais como a produção de citosinas próinflamatórias e de moléculas relacionadas, foram identificados no cérebro após as convulsões induzidas em modelos experimentais e em casos clínicos de epilepsia. Embora se saiba pouco sobre o papel da inflamação na epilepsia, supõe-se que a ativação do sistema imune inato e as reações inflamatórias associadas no cérebro podem mediar algumas das mudanças moleculares e estruturais que ocorrem durante e após a atividade da convulsão. Se a resposta imune inata que ocorre no tecido epiléptico é benéfica ou nociva ao SNC é ainda uma pergunta aberta e intrigante que deve ser respondida por posteriores investigações.

Este estudo fornece evidências experimentais de que os óleos essenciais das folhas de *C. citratus* e *C. winterianus* apresentam uma atividade depressora do SNC e propriedades anticonvulsivantes dose-dependentes. Embora o OEs pareça afetar preferencialmente a neurotransmissão GABAérgica, outros caminhos tais como as

vias glutamatérgicas e glicinérgicas provavelmente são envolvidos e devem ser considerados. Além disso, os possíveis efeitos antioxidantes e antiinflamatórios, como foi demonstrado por suas atividades na liberação de MPO dos neutrófilos humanos, podem ter um papel importante nas atividades determinadas para os óleos essenciais.

7 CONCLUSÕES

Os conhecimentos disponíveis na literatura especializada aliados à interpretação dos resultados obtidos permitiram inferir as seguintes conclusões. Nos três ensaios para determinação da atividade anticonvulsivante em camundongos machos e fêmeas, os óleos essenciais de *C. citratus* e *C. winterianus* apresentaram melhores resultados no modelo de convulsões induzidas por PTZ, retardando o início da latência de primeira convulsão e da latência de morte nos animais, sugerindo um possível efeito anticonvulsivante, que pode estar relacionado com o Sistema Gabaérgico devido a sua interação com o receptor GABA_A/Benzodiazepínico, visto que constatamos a potencialização dos seus efeitos em doses baixas dos óleos essenciais, administrados juntamente com o diazepam numa dose também muito pequena.

Nos demais ensaios de convulsão observou-se uma variabilidade na resposta dos animais aos óleos essenciais. No modelo de convulsões induzidas por pilocarpina o OE de *C. citratus* sobressaiu-se apresentando efeito significativo ao retardar a latência da primeira convulsão e de morte em comparação com o OE de *C. winterianus*. Já no modelo de convulsões induzidas por estriquinina, ambos os óleos essenciais apresentaram uma efetividade significativa aumentando somente a latência de primeira convulsão.

Nos modelos comportamentais de ansiedade, depressão e hipnótico-sedativos, o perfil farmacológico dos óleos essenciais mostrou-se dose-dependente, visto que nas doses maiores os óleos essenciais causaram efeito depressor do sistema nervoso central, enquanto que nas doses menores apresentaram um efeito antidepressivo.

Embora estudos mais aprofundados sejam imprescindíveis, os resultados expostos nesse trabalho constituem uma base rica de dados a cerca das atividades biológicas dos óleos essenciais citados, sendo uma fonte preliminar de informações científicas de suma importância que incitam pesquisas futuras.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P. **Identification of essential oils components by gás chromatography/mass spectroscopy**. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2001.

ALMEIDA, M. A. O. DE; BOTURA, M. B.; SANTOS, M. M. DOS; ALMEIDA, G. N.; DOMINGUES, L. F.; COSTA, S. L.; BATATINHA, M. J. M. Efeitos dos extratos aquosos de folhas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (capim-santo) e de *Digitaria insularis* (L.) sobre cultivos de larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 12, n. 3, p. 125-129, 2003.

ARSHER, J. Tests for emotionality in rats and mice. A review. **Anim. Behav.**, v. 21, p. 205-235, 1973.

AVATO, P.; FORTUNATO, I. M.; RUTA, C.; D'ELIA, R. Glandular Hair and Essential oils in micropopagated plants of *Salvia officinalis* L. **Plant Science**, 2005.

BARATTA, M. T.; DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G.; BIONDI, D.M.; RUBERTO, G. Chemical Composition, antimicrobial and oxidative activity of laurel, Sage, Rosemary, oregano an coriander essential oils. **J. Essential Oils**, v. 10, p. 618-627, 1998.

BARKLARGE, N.E. Evaluation and management of the suicidal patient. **Emerg. Care Q.**, v. 7, p. 9-17, 1991.

BARSOITI, D. **Campo limpo**. 2005. Disponível em: <<http://www.acampolimpo.com.br/repelentes.htm>>. Acesso em: 10 ago. 2005.

BATISTA-PEREIRA, L. G.; FERNANDES, J. B.; CORRÊA, A. G.; SILVA, M. F. G. F.; VIEIRA, P. C. Electrophysiological responses of *Eucalyptus brown* Looper Thyrinteina Arnobia to Essential Oils of Seven *Eucalyptus Species*. **Bras. Chem, Soc.**, v. 17, n. 3, p. 1-12, 2006.

BEAGLEHOLE, R.; BONITA, R.; KJELLSTROM, T. Epidemiologia básica. 1 ed. Lis Gráfica Editora, 1996.

BELL, E. A.; CHARLWOOD, B. V. Essential oils. In: BELL, E. A.; CHARLWOOD, B. V. **Secondary plants products**. New York: Springer – Verlag, 1980.

BLANCO, M. M.; COSTA, C.; FREIRE, A. O.; SANTOS JR., J. G.; COSTA, M. Neurobehavioral effect of essential oil of *Cymbopogon citratus* in mice. **Phytomedicine**, v. 16, p. 265-270, 2009.

BOECK, C. R.; GANZELLA, M.; LOTTERMANN, A.; VENDITE, D. NMDA preconditioning protects against seizures and hippocamapal neurotoxicity induced by quinolinic acid in mice. **Epilepsia**, v. 45, n. 7, p.745-749, July 2004.

BROWN, A. S.; GERSHON, S.; DIEHL, D. J. Dopamine and depression. **J. Neural. Transm.**, v. 91, p. 75-109, 1993.

BROWN, K. E.; BRUNT, E. M.; HEINECKE, J. W. Immunohistochemical detection of myeloperoxidase and its oxidation products in Kupffer cells of human liver. **Am. J. Pathol.**, v. 159, p. 2081-2088, 2001.

BRUNETON, J. How to pack the essential oils. In: BRUNETON, J. **Pharmacognosie: Plytochimie plantes medicinales**. 2nd ed. Paris: Tec. Doc, 1993. Cap. 2.

BUSATTA, C. **Caracterização Química e Atividade Antimicrobiana *in vitro* e em alimentos dos extratos de orégano e manjerona**. Dissertação (Mestrado) - EA/URI, Erechim, RS, 2006.

CARLINI, E. A.; BURGOS, V. *Screening* farmacológico de ansiolíticos: metodologia laboratorial e comparação entre o diazepam e o clorobenzapam. **Rev. Assoc. Bras. Psiquiat.**, v. 1, p. 25-31, 1979.

CASTRO, L. O.; CHEMALE, V. M. **Plantas Medicinais, codimentares e aromáticas: descrição e cultivo**. Guaíba, 1995.

CASTRO, L. O.; RAMOS, R. L. D. **Principais gramíneas produtora de óleos essenciais: *Cymbopogon citratus* (DC) Staupf., capim-cidró, *Cymbopogon martinii* (Rox) J.F. Watson, palma-rosa, *Cymbopogon nardus* (L) Rendle, citronela, *Elyonurus candidus* (Trin) Hack., capim-limão, *Vetiveria zizanioides* (L) Nash, vetiver**. Porto Alegre: FEPAGRO, 2003. (Boletim FEPAGRO, 11).

CASTRO, H. G. de; OLIVEIRA, L. O. de; ALMEIDA, L. C. de B.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H. da; MOSQUIM, P. R.; NASCIMENTO, E. A. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 55-57, jan./fev. 2005.

CARVALHO, C. M.; COSTA, C. P. M.; SOUZA, J. S.; SILVA, R. H. D.; OLIVEIRA, C. L.; PAIXÃO, F. J. R. Rendimento da produção de óleo essencial de capim-santo submetido à diferentes tipos adubação. **Rev. Biol Ciênc. Terra**, v. 5, n. 2, p. 10-17, 2005.

COSTA, L. C. B.; CORRÊA, R. M.; CARDOSO, J. C. W.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; FERRI, P. H. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Hortic. Bras.**, v. 23, n. 4, p. 1-8, 2005.

COSTA-LOTUFO, L.V.; FONTELES, M.M.F.; LIMA, I.S.P.; OLIVEIRA, A.A.; NASCIMENTO, V.S.; BRUIN, V.M.S.; VIANA, G.S.B. Attenuating effects of melaton on pilocarpine-induced seizures in rats. **Comp. Biochem. Physiol. Pt. C**, v.131, p. 521-529, Feb. 2002.

CRAVEIRO, A. A. et al. **Óleos essenciais de plantas do nordeste**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2001.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. 2nd ed. New York: The New York Botanical Garden Bronx, 1988.

De LORENZO, R.J.; RAZA, M.; PAL, S.; RAFIQ, A. Long-term alteration of calcium homeostatic mechanisms in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. **Brain Res.**, v. 903, p.1-12, Jan. 2001.

DESCHAMPS, C. Biossíntese de óleos essenciais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 3., 2005, Campinas. (Documentos IAC, 77).

DODRILL, C.B. Neuropsychological effects of seizures. **Epilepsy & Behavior**. v.5, p.S21-S24, 2004.

DUNHAM, N.W.; MIYA, T. S. **J. Amer. Pharm. Assoc.**, v. 46, p. 253-259, 1957.

ELISABETSKY, E.; SILA-BRUM, L.F.; SOUZA, D.O. Anticonvulsant properties of linalool in glutamate-related seizure models. **Phytomedicine.**, v. 6, n. 2, p.107-113, 1999.

ENGEL Jr, J. ILAE Commission report. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: Report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. **Epilepsia**, v.42, n.6, p.796-780, 2001.

EYAL, S.; YAGEN, B.; SOBOL, E.; ALTSCHULER, Y.; SHMUEL, M.; BIALER, M. The activity of antiepileptic drugs as histone deacetylase inhibitors. **Epilepsia**, v.45, n.7, p.737-744, July 2004.

FALSENJAK, V.; PELJNJAK, S.; KUSTRAK, D. Microcapsules of Sage Oil: essential oils content and antimicrobial activity. **Pharmazie**, v. 42, p. 419-420, 1987.

FIORI, A. C. G.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; VIDA, J.B.; SCAPIM, C.A.; CRUZ, M.E.S. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **J. Phytopathol.**, v. 148, p. 483-487, 2000.

FISHER, S. K.; AGRANOFF, B.W. Receptor activation and inositol lipid hydrolyses in neural tissues. **J. Neurochem.**, v. 48, p. 999-1017, 1987.

FUJIMOTO, J. M.; PEARCE, K. B.; PLAA, G. L. Barbiturate metabolism as affected by certain agents acting on the liver. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 129, p. 139-143, 1960.

GILLIAM, F.G.; SANTOS, J.; VAHLE, V.; CARTER, J.; BROWN, K.; HECIMOVIC, H. Depression in epilepsy: ignoring clinical expression of neuronal network dysfunction. **Epilepsia**, v.45, n.S2, p.26-30, June 2004.

GIRARD, E.A. **Volume, Biomassa e Rendimento de óleos essenciais do craveiro (*Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum) em floresta ombrófila mista**. 2005. 60 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

GOMES, E. C.; NEGRELLE, R. R. B. *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf: Aspectos botânicos e ecológicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 4, n. 2, p. 137-144, jul./dez. 2003.

GONÇALVES, L. A.; BARBOSA, L.C. A.; AZEVEDO, A. A.; CASALI, V. W. D.; NASCIMENTO, E. A. Produção e Composição do óleo essencial de alfavaquina (*Ocimum selloi*; Benth) em resposta a dois níveis de radiação solar. **Rev. Bras. Plant. Med.**, v. 6, p. 8-14, 2003.

GRAEFF, F. G. **Fundamentos de Psicofarmacologia**. São Paulo: Atheneu, 1997.

GUPTA, Y. K.; CHAUDHARY, G.; SRIVASTAVA, A. K. Protective effect of resveratrol against pentylenetetrazole-induced seizures and its modulation by an adenosinergic system. **Pharmacology**, v. 65, n. 3, p. 170-174, 2002.

GUPTA, Y. K.; BRIYAL, S. Protective effect of vineatrol against kainic acid induced seizures, oxidative stress and on the expression of heat shock proteins in rats. **Eur. Neuropsychopharmacol.**, v. 16, n. 2, p. 85-91, 2006.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia básica e clínica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

KAPUR, S.; MANN, J.J. Role of the dopaminergic system in depression. **Biol. Psychiatry**, v. 32, p. 1-17, 1993.

KEHNE, J. H.; KANE, J. M.; MILLER, F. P.; KETTELER, H. J.; BRAUN, D. L.; SENYAH, Y.; CHANEY, S. F.; ABDALLAH, A.; DUDLEY, M. W.; OGDEN, A. M. et al. MDL 27,531 selectively reverses strychnine-induced seizures in mice. **Br. J. Pharmacol.**, v. 106, n. 4, p. 910-916, 1992.

KEMP, C. Efeitos de preparados biodinâmicos de campo na biota do solo. **J. Biodynamic Agric. Aust.**, v. 6, p. 57-59, 2004.

KINGHORN, A.D.J. Pharmacognosy in the 21st century. **Pharm. Pharmacol.**, v.53, p.135-148, 2001.

KISHORE, N.; MISHRA, A. K.; CHANSOURIA, J. P. N. Fungitoxicity of essential oils of against Dermatophytes. **Mycoses**, v. 36, p. 211-215, 1993.

KRAL, K.; VERNIK, M.; DEVETAK, D. Visually controlled prey-capture behaviour of the European mantispid, *Mantispa styriaca*. **J. Exp. Biol.**, v. 203, p. 2117–2123, 2003.

KUSTRAK, I.; PEPELJNJAK, S. Antimicrobial Activity of Dalmatian Sage oil from different regions of the Yugoslav Adriatic Coast. **Acta Pharm. Jugoslavica**, v. 39, p. 209-213, 2002.

JOCA, S.R.; SKALISZ, L.L.; BEIJAMINI, V.; VITAL, M.A.; ANDRATINI, R. The antidepressive-like effect of oxcarbazepine: possible role of dopaminergic neurotransmission. **Eur. Neuropsychopharmacol.**, v.10, p.223-228, 2000.

JOHANSSON, C.; AHLENIUS, S. Evidence for the involvement of 5-HT_{1A} receptors in the mediation exploratory locomotor activity in the rat. **J. Psychopharmacol.**, v.3, p. 32-35, 1989.

LABINAS, A.M.; CROCOMO, W.B. Effect of Java Grass (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) essential oil on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepdoptera, Noctuidae). **Acta Scient.**, Maringá, v. 24, n.5, p.1402-1404, 2003.

LÁSZLÓ, F. **Capins:** capim cidreira, limão e gengibre, palmarosa, jamrosa e citronela. Disponível em:< <http://www.aromalandia.org/capins.htm>>. Acesso em: 15 abr. 2006.

LAVABRE, M. Os aromas e perfumes na história. In: LAVABRE, M. **Aromaterapia: a cura pelos óleos essenciais.** 4. ed. Rio de Janeiro: Record, 1997.

LEAL, T. C. A. B.; FREITAS, S. P.; SILVA, J. F.; CARVALHO A. J. C. Avaliação do efeito da variação estacional e horário de colheita sobre o teor foliar do óleo essencial de capimcidreira (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf). **Rev. Ceres**, v. 48 n. 278, p. 445-453, 2001.

LEES, G. J. Inhibition of sodium-potassium-ATPase: potentially ubiquitous mechanism contributing to central nervous system neuropathology. **Brain Res.**, v.16, p.283-300, 2000.

LERER, B.; MACCIARDI, F. Pharmacogenetics of antidepressant and mood-stabilizing drugs: a review of candidate-gene studies and future research directions. **Int. J. Neuropharmacol.**, v. 5, n. 2, p. 255-75, 2002.

LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v.92, p.180-185, 1987.

LÖSCHER, W. Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison for the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy. **Epilepsy Res.**, v. 50, p. 105-123, 2002.

LUCISANO, Y. M.; MANTOVANI, B. **J. Immunol.**, Baltimore, v. 132, p. 2015-2020, 1984.

MACFARLAND, C.G.; REEDER, W.G. Cleaning symbiosis involving Galapagos tortoises and two species of Darwin's finches. **Zeitschrift fur Tierpsychol**, v.34, p.464-483, 1974.

MCGARAUGHTY, S.; HENRY, J. L. The effects of strychnine, bicuculline, and ketamine on immersion-inhibited dorsal horn convergent neurons in intact and spinalized rats. **Brain Res.**, v. 784, n. 1, p. 63-70, 1998.

MANJI, H.K.; DREVETS, W.C.; CHARNEY, D.S. The cellular neurobiology of depression. **Nat. Med.**, v.7, p.541-547, 2001.

MARTINS, P.M. **Influência da temperatura da velocidade do ar de secagem no teor e na composição química do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Staupf.)**. 2000. 91 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2000.

MARTINS, R. M. **Estúdio *in vitro* de La acción acaricida del aceite esencial de La gramínea Citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) em la garrapata *Boophilus microplus***. Disponível em: <http://www.ibb.unesp.br/servicos/publicacoes/rbpm/pdf/v8_n2_2006/resumo12_v8_n2_2006.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2006.

MANSUR, J.; MARTZ, R.M.W.; CARLINI, E.A. Effects of acute and chronic administration of cannabis sativa and (-) 9-*trans* tetrahydrocannabinol on the behaviour of rats in open Field in arena. **Psychopharmacology**, v.19, p.338-397, 1971.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais**: guia de seleção e emprego de plantas usados em fitoterapia no Nordeste do Brasil. Fortaleza: UFC, 2002.

MATTOS, S.H. Potencial econômico de plantas medicinais e aromáticas nativas e cultivadas no Nordeste. In: Encontro Regional de Botânicos, 22., 2000, Salvador. **Resumos...** Salvador, 2000. p. 23-24

MARUYAMA, N.; SEKIMOTO, Y.; ISHIBASHI, H.; INOUE, S.; OSHIMA, H.; YAMAGUCHI, H. ABE, S. Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. **J. Inflamm.**, v. 2, n. 1, p. 34-39, 2005.

MELDRUM, B.S. GABA agonists as antiepileptic agents. **Adv. Biochem. Psychopharmacol.**, v. 26, p. 207-217, 1989.

MELLO, L.; BORTOLOTTI, Z.A.; CAVALHEIRO, E.A. Modelos experimentais de epilepsia: uma revisão. **Neurobiol.**, v.49, p. 231-268, 1986.

MELLO, J.C.; DIETRICH, R.; MEINERT, E.M.; TEIXEIRA, E.; AMANTE, E. R. Efeito do cultivo orgânico e convencional sobre a vida-de-prateleira de alface americana (*Lactuca sativa* L.) minimamente processada. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 23, n. 3, p. 418-426, 2003.

MICHOTTE, Y.; KHAN, G.M.; SMOLDERS, I.; EBINGER, G. Anticonvulsant effect and neurotransmitter modulation of focal and systemic 2-chloroadenosine against the development of pilocarpine-induced seizures. **Neuropharmacology**, v. 39, p. 2418-2432, Mar. 2000.

MISHRA, A. K.; DUBEY, N. K. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. **Appl. Nuir. Microbial.**, v. 60, p.1101-1105, 1994.

MONTGOMERY, K.C. The relationship between fear induced by novel stimulation and exploratory behaviour. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, v. 48, p. 254-260, 1958.

MORAIS, S. M.; CANTUNDA-JUNIOR, F. E. A.; SILVA, A. R. A.; MARTINS NETO, J. S. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de Croton do nordeste do Brasil. **Quim. Nova**, v. 29, n. 5, p. 907-910, 2006.

NASCIMENTO, I. B.; INNECCO, R.; MARCO, C. A.; MATTOS, S. H.; NAGÃO, E. O. Efeito do horário de corte no óleo essencial de capim-santo. **Rev. Ciênc. Agrônômica**, v. 34, n. 2, p.169-172, 2003.

NICOLL, R. A. Introduction to the pharmacology of CNS drugs. In: KATZUNG, B.G. (Ed.). **Basic and Clinical Pharmacology**. 8th ed. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill, 2001. p. 351–363.

OLIVEIRA, R. A. G, LIMA, E. O.; VIEIRA W. L.; FREIRE, K. R. L.; TRAJANO, V. N.; LIMA, I. O.; SOUZA, E. L. TOLEDO, M. S.; SILVA-FILHO, R. N. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 16, n. 1, p. 77-82, 2006.

ONAWUNMI, G. O.; OGUNLANA, E. O. A study of the antibacterial activity of the essential oil of lemon grass (*Cymbopogon citratus*). **J. Crude Drug**, v. 24, p. 421-423, 1987.

ORDÓNEZ, M. G.; JORGE, M. R.; SIMÓN, G. G.; RANGEL, C. L. Actividad antimicrobiana del aceite esencial y crema de *Cymbopogon citratus* (DC). **Stapf, Rev. Cubana Plant. Med.**, v. 9, n. 2, p. 1-6, 2004.

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

PEREZ, R. M. G.; PEREZ, J. A. L.; GARCIA, L. D. M.; SOSSA, H. M. Neuropharmacological activity of *Solanum nigrum* fruit. **J. Ethnopharmacol.**, v. 62, p. 43-48, 1998.

PISANI, A.; BONSI, P.; MARTELLA, G.; DE PERSIS, C.; COSTA, C.; PISANI, F.; BERNARDI, G.; CALABRESI, P. Intracellular calcium increase epileptiform activity: modulation by levetiracetam and lamotrigine. **Epilepsia**, v. 45, n. 7, p. 719-725, July 2004.

PLANTAS
medicinais. Disponível
em:<http://www.unioeste.br/projetos/unisol/projeto/c_farmacia/plantas_medicinais_1.htm>. Acesso em: 7 jan. 2006.

PORSOLT, R.D.; ANTON, N.B.; JALFRE, M. Behavioural despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.**, v. 229, p. 327-336, 1977.

POST, R. M. Neurobiology of seizures and behavioral abnormalities. **Epilepsia**, v.45, n. S2, p. 5-10, June 2004.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 463, n. 1/3, p.3-33, Feb. 2003.

QUEIROZ, F. **Estudo da cinética da extração do óleo essencial de capim-limão com dióxido de carbono líquido.**, 1993. 156 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1993.

QUEIROZ, C.; LEITE, J.; MELLO, L. E. Modelos experimentais em epilepsias. **Cérebro e Mente**, n. 4, 2002. Disponível em:< <http://www.comciencia.br>>. Acesso em: 2 mar. 2010.

QUINTANS-JÚNIOR, L.J.; SOUZA, T.T.; LEITE, B.S.; LESSA, N.M.N.; BONJARDIM, L.R.; SANTOS, M.R.V.; ALVES, P.B.; BLANK, A.F.; ANTONIOLLI, A.R. Phytochemical screening and anticonvulsant activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) leaf essential oil in rodents. **Phytomedicine**, v. 15, p. 619–624, 2008.

RADULESCU, V.; CHILIMENT, S.; OPREA E. Capillary Gas Chromatography – Mass Spectrometry of Volatile and Semi – volatile of *Salvia Officinalis*. **J. Chromatography**, v. 1027, n. 1/2, p. 121-126, 2004.

RANG, H.P.; DALE, M. M., RITTER, J.M.; MOORE, P.K. **Farmacologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

RICHMOND, R.; ZWAR, N. Review of bupropion for smoking cessation. **Drug Alcohol Rev.**, v.22, n. 2, p.203-220, 2003.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**. São Paulo: Premier, 1997.

RODGERS, R.J.; JOHNSON, N.T.J. Factor analysis of spatio-temporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 52, p. 297-303, 1995.

ROSSETTI, Z.L.; LAI, M.; HMAIDAN, Y., GESSA, G.L. Depletion of mesolimbic dopamine during behavior despair: partial reversal by chronic imipramine. **Eur. J. Pharmacol.**, v.242, p.313-315, 1993.

SAINT-CRICQ DE GAULEJAC NS, PROVOST C, VIVAS N. Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods. **J Agric Food Chem** 47: 425–431, 1999.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre, RS: Ed. da UFSC, 2004.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, M. G.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of

essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Braz. J. Microbiol.**, v. 35, p. 275-280, 2004.

SEMEN, E.; HIZIROGLU. Production, Yield and Derivatives of Volatile Oils from Eastern Redcedar (*Jeniperus virginiana* L.). **Am. J. Environ. Sci.**, v. 1, n. 2, p.133-138, 2005.

SERAFIM, A. P.; FELÍCIO, L. F. Dopaminergic modulation of *grooming* behaviour in virgin and pregnant rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 34, p. 1465-1470, 2001.

SERRA, G.; COLLU, M.; D'AQUILA, P.S., GESSA, G.L. Role of the mesolimbic dopamine system in the mechanism of action of antidepressants. In: Proceedings of XVIIIth CIPN Congress Satellite Symposium The Biology and Pharmacology of Maniac-Depressive Disorders: From molecular Theories to Clinical Practice. Copenhagen. **Pharmacol. Toxicol.**, v.71, p.72-85, 2002.

SIDIBE, L.; CHALCAT, J. C.; GARRY, R. P.; LIACOMBE, L.; HARAMA, H. Aromatic Plants of Mali (IV): Chemical composition of essential oils *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf., and *C. giganteus* (Hochst) Chiou. **J. Essent. Oil Rev.**, v. 13, p. 110-112, 2001.

SILVA, A. F. I.; BARBOSA, L. C. A.; CASALI, V. W. D.; NASCIMENTO, E. A. Composição química do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L) POIT. (LAMIACEA), **Rev. Bras. Plant. Med.**, v. 6, p. 1-7, 2003.

SILVA, A. F. I.; BARBOSA, L. C. A.; CASALI, V. W. D.; NASCIMENTO, E. A. Composição química do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L) POIT. (LAMIACEA), **Rev. Bras. Plant. Med.**, v. 6, p. 1-7, 2003.

SILVA, I.; FRANCO, S. L.; MOLINARI, S. L.; CONEGERO, C. I.; MIRANDA NETO, M. H.; CARDOSO, M. L. C.; SANTIANA, D. M. G. ; IWANKO, N. S. **Noções sobre o organismo humano e utilização de plantas medicinais**. 3. ed. Cascavel: Assoeste, 1995.

SIMON, J. E. Essential oils and culinary herbs. In: JANICK, J.; SIMON, J. E. (Ed.). **Advances in new crops**. Portland, OR: Timber press, 1990. p. 472-483.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos Essenciais. IN: SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. **Da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1999. cap. 18

SIMÕES, C. M.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Florian: Ed. da UFSC, 2004.

SIQUI, A. C.; SAMPAIO, A. L. F.; SOUZA, M. C.; HENRIQUES, H. G. M. O.; RAMOS, M. F. S. Óleos Essenciais – Potencial antiinflamatório. **Biotechnol. Ciênc. Desenvol.**, v. 16, p. 38 – 43, 2000.

SWANSON, C.J.; HEATH, S.; STRATFORD, T.R.; KELLEY, A.E. Differential behavioral responses to dopaminergic stimulation of nucleus accumbens subregions in the rat. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 58, p. 933-945, 1997.

SWINYARD, E.A.; BROWN, W.C.; GOODMAN, L.S. Comparative assay of antiepileptic drugs in mice and rats. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.106, p.319-330, 1952.

TAPIA, A.; CHEEL, J.; THEODULOZ, C.; RODRIGUEZ, J.; SCHMEDA-HIRSCHHANN, G.; GERTH, A.; WILKEN, D.; JORDAN, M.; Radical Scavengers from *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf plants cultivated in bioreactors by the temporary immersion (TIS) principle. **Z. Naturforsch.**, v. 62, p. 447-457, 2007.

THAPPA, R.K.; BAKSHI, S.K.; DHAR, P.L.; AGARWAL, S.G.; KITCHLU, S.; KAUL, M.K. Significance of changed climatic factors on essential oil composition of *Echinacea purpurea* under subtropical conditions. **Flavour Fragrance J.**, v. 5, n. 19, p. 452-454, 2004.

TREIT, D.; FUNDYTUS, M. Thigmotaxis as a test of anxiolytic activity in rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v.31, p.959-62, 1989.

TRIPPLEBROOKFARM. *Cymbopogon nardus*. Citronela grass. Disponível em: <[http://www. Tripplebrookfarm.com/splants/namesearchs_frameset.html](http://www.Tripplebrookfarm.com/splants/namesearchs_frameset.html)>. Acesso em: 6 fev. 2006.

TURSKI, W. A.; CAVALHEIRO, E. A.; SCHWARTZ, M.; CZUCZWAR, S.J.; KLEINROK, Z.; TURSKI, L. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: a behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. **Behav. Brain Res.**, v. 9, p. 315-355, 1983a.

TURSKI, L.; MELDRUM, B. S.; CAVALHEIRO, E. A.; CALDERAZZO-FILHO, L.S.; BORTTOLOTO, Z. A.; IKONOMIDOU-TURSKI, W.A. Paradoxal anticonvulsant activity of the excitatory amino acid N-methyl-D-aspartate in the rat caudate-putamen. **Proc.Natl.Acad.Sci.**, v. 84, p.1689-1693, 1987.

UNIVERSITY of HAWAII. Botany Department. **Poaceae (Gramineae)**. Disponível em: <<http://www.botany.hawaii.edu/faculty/carr/po.htm>>. Acesso em: 6 Feb. 2006.

VÁGI, E.; SIMÁNDI, B.; SUHAJDA, A.; HÉTHELVI, É. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum majorana* L., extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. **Food Res. Int.**, v. 38, p. 51-57, 2005.

VELICKOVIC, D. T.; RANDJELOVIC, N. U.; RISTIC, M. S.; SMELCEROVIC, A. A.; VELICKOVIC, A. S. Chemical Composition and antimicrobial action of the ethanol extracts of *S. pratensis* L., *S. glutinosa* L., *S. aethiopsis* L. **J. Serbian Chem. Soc.**, v. 67, n. 10, p. 639-646, 2002.

VENSKUTONIS, P. R. Effect of drying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris*) And sage (*Salvia officinalis* L.). **Food Chemistry**, v. 59, n. 2, p. 219-277, 1997.

VEZZANI, A. Inflammation and epilepsy. **Epilepsy Curr.**, v. 5, p. 1-6, 2005.

VIANA, G. S. B.; VALE, T. G.; PINHO, R. S. N.; MATOS, F. J. A. Antinociceptive effect of the essential oil from *Cymbopogon citratus* in mice. **J. Ethnopharmacol.**, v. 70, p. 323-327, 2000.

VIDA, J. B.; CARVALHO-JUNIOR, A. A.; VERZIGNASSI, J. R. Primeira ocorrência de ferrugem em capim-limão causada por *Puccinia cymbopogonis* no Brasil. **Summa Phytopathol.**, v. 32, n. 1, p. 89-91, 2006.

VITTI, A.M.S.; BRITO, J.O. **Óleo essencial de Eucalipto**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2003. (Documento 17).

WALKER, L.G.; The measurement of anxiety. **Postgrad. Med. J.**, v. 66, n. 2, p. S11-S17, 1990.

WALKER, J. T.; MELIN, J. B. *Mentha x piperita*, *Mentha spicata* and effects of their essential oils on *Meloidogyne* in soil. **J. Nematol.**, v. 28, p. 629-635, 1996.

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

WESTMORELAND, B. F.; BENARROCH, E. E.; DUBE, J. R.; REGAN, T. J.; SANDOK, B. A. **Medical neurosciences**. Rochester: Mayo Foundation, 1994.

WILLNER, P. Dopamine and depression. In: DI CHIARA, G. (Ed.). **Handbook of experimental pharmacology: Dopamine in the CNS**. Berlin: Springer, 2002. p. 213-234.

WHITE, H. S. Clinical significance of animal seizure models and mechanism of action studies of potential antiepileptic drugs. **Epilepsia**, v. 38, p.9-17, 1997.

ZANGROSSI JR., H. Modelos animais de ansiedade. In: HETEN, L.A.B.; GRAEFF, F.G. (Ed.). **Ansiedade e transtorno de ansiedade**. Rio de Janeiro: Científica Nacional, 1997. p.85-120.

Comparative anticonvulsant activities of the essential oils (EOs) from *Cymbopogon winterianus* Jowitt and *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. in mice.
Autores: Monalisa Ribeiro Silva, Rafael Matos Ximenes, José Galberto Martins da Costa, L. Kalyne A. M. Leal, Amanda A. de Lopes, Glauce Socorro de Barros Viana

Revista: Naunyn-Schmied Arch Pharmacol (DOI 10.1007/s00210-010-0494-9)

Idioma: Inglês

Volume:

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](#)