

*AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANALGÉSICA DA FRAÇÃO η -BUTANÓLICA DE
Ocimum basilicum*
*EVALUATION OF ANALGESIC ACTIVITY OF THE η -BUTANOLIC FRACTION OF
Ocimum basilicum*

FREITAS, Willian L.¹, ICKERT, Daniela², VINGRA, Fernanda³, SOUZA, Wesley
Maurício de⁴, NOWACKI, Luciana C.⁵

¹ Acadêmico do Curso Superior em Tecnologia de Bioprocessos e Biotecnologia,
Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba.

² Acadêmico do Curso Superior em Tecnologia de Bioprocessos e Biotecnologia,
Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba.

³ Acadêmico do Curso Superior em Tecnologia de Bioprocessos e Biotecnologia,
Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba.

⁴ Bióloga, Professora adjunto da Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba.

⁵ Farmacêutico, Professor adjunto da Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba.

Endereço eletrônico para correspondência: Willian Lopes de Freitas,
willianlopesutp@gmail.com.br

Endereço: Rua André Ferreira Barbosa, 458, casa. Capão Raso, Curitiba, PR
CEP 81.150-130. Telefone: (41)3203-0042

RESUMO

O gênero *Ocimum*, pertencente à Família Lamiaceae, compreende espécies ricas em óleos essenciais e substâncias aromáticas, sendo de grande importância para a indústria farmacêutica. A literatura é vasta em trabalhos referentes à obtenção de extratos de *Ocimum basilicum* L. empregando diferentes técnicas de extração, tais como hidrodestilação, extração supercrítica e extração com solventes, tendo sido avaliados rendimento e composição química dos extratos, atividade antimicrobiana, características sensoriais e efeito do processo de secagem na composição química. O objetivo do presente trabalho foi testar o efeito analgésico da fração *n*-butanólica das folhas de *Ocimum basilicum* (manjeriçã) nas doses de 15, 30 e 60 mg/kg via oral em camundongos que sofreram contorções abdominais induzidas por ácido acético. O número de contorções foi contado de forma somatória durante 20 minutos e a porcentagem foi de 6,4% de redução nas contorções na dose de 15mg/kg, um aumento de 24,7% na dose de 30mg/kg e redução de 7,3% na dose de 60mg/kg, quando comparadas ao grupo controle, e desta maneira, não apresentando diferença estatística significativa. Os resultados obtidos demonstraram que a fração *n*-butanólica do *Ocimum basilicum* não apresentou efeito antinociceptivo. Novos experimentos serão realizados para confirmar esses resultados, bem como seu respectivo mecanismo de ação.

Palavras chaves: manjeriçã, analgesia, extração com solvente, contorções abdominais.

ABSTRACT

The genus *Ocimum*, belonging to the Lamiaceae family comprises rich in essential oils species and aromatic substances, being of great importance for the pharmaceutical industry. The literature is vast in work relating to obtaining extracts of *Ocimum basilicum* L. using different extraction techniques such as hydrodistillation, supercritical fluid extraction and solvent extraction, were evaluated yield and composition of the extracts, antimicrobial activity, sensory characteristics and effect of drying on chemical composition. The objective of

this study was to test the analgesic effect of the n-butanolic fraction of leaves of *Ocimum basilicum* (basil) at doses of 15, 30 and 60 mg/kg orally in mice that underwent abdominal writhing induced by acetic acid. The number of writhes was counted on a sum for 20 minutes and the percentage was 6.4% decrease in writhing at a dose of 15mg/kg, a 24.7% increase in dose of 30mg/kg and reduction of 7.3 % at a dose of 60mg/kg, compared to the control group, and thus, showing no statistically significant difference. The results demonstrated that *n*-butanol fraction showed no antinociceptive effect. Further experiments will be conducted to confirm these results, as well as their respective mechanism of action.

Keywords: basil, analgesia, solvent extraction, abdominal writhing.

1. INTRODUÇÃO

Desde os tempos primitivos, as civilizações tem feito o uso empírico de drogas de origem vegetal, animal e mineral para o tratamento de diversas doenças (Sneider, 1985). A introdução de novos fármacos pela medicina popular na terapêutica moderna dá-se graças aos efeitos benéficos que o uso de drogas de origem natural tem proporcionado. Atualmente, o arsenal terapêutico se dispõe de diversos medicamentos resultantes da purificação de extratos de origem vegetal e animal, como do isolamento de seus princípios ativos, que podem variar de alcalóides, vitaminas, antibióticos, entre outros (Korolkovas & Burckhalter 1982; Ansel *et al.*, 1990; Saúde-Guimarães & Faria, 2007; Barbosa-Filho *et al.*, 2007, 2008; Corrêa *et al.*, 2008; Sousa *et al.*, 2008).

O gênero *Ocimum* L. (Lamiaceae) inclui cerca de 50 espécies que se distribuem em toda a extensão do planeta, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais (Vieira & Simon, 2000). O *Ocimum basilicum* L., conhecida popularmente como Maria Bonita ou manjerição é a mais conhecida e utilizada no Brasil (Albuquerque & Andrade, 1998), seja de forma *in natura*, ou na obtenção de óleo essencial (Grayer, 1996; Fernandes *et al.*, 2004), sendo relatado que o teor contido nesta planta pode variar de 1,5 a 3% (p/p), dependendo da espécie e da região geográfica (Stuart, 1995).

O óleo do manjerição apresenta importância na indústria de perfumes, na aromatização de alimentos e bebidas (Albuquerque & Andrade, 1998;

Fernandes *et al.*, 2004), como também na agricultura, devido às suas propriedades inseticidas e repelentes (Grayer, 1996; Umerie *et al.* 1998), que, segundo Bhatnagar *et al.*, (1993), combate os mosquitos *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*. Percebeu-se ainda sua eficácia na conservação de grãos e atividade antimicrobiana (Montes-Belmont & Carvajal, 1998), além de possuir propriedades medicinais, tais como sua capacidade diurética, antiespasmódica, antigripal, entre outras. Por meio de chás preparados de suas inflorescências e folhas, o caráter medicinal do manjeriço é amplamente difundido, principalmente, nas comunidades do nordeste do Brasil (Matos, 1998; Cosendey *et al.*, 2000). Dessa forma, tem se mostrado uma alternativa promissora para o tratamento de diversas doenças que afligem, em especial, populações que exigem uma maior atenção a saúde, como crianças recém-nascidas e idosos. (Ogava *et al.*, 2003; Michilis, 2004).

O objetivo do presente trabalho foi testar o efeito analgésico da fração *n*-butanólica das folhas de *Ocimum basilicum* (manjeriço) nas doses de 15, 30 e 60 mg/kg via oral em camundongos que sofreram contorções abdominais induzidas por ácido acético.

2. MATERIAL E MÉTODO

2.1. Material Botânico

Folhas de *Ocimum basilicum* foram adquiridas no mercado formal de plantas medicinais na região metropolitana de Curitiba em Fevereiro de 2011 e a identificação da espécie foi feita pelo Dr. Osmar dos Santos Ribas, do Museu Botânico Municipal tombada com o número 364260. Foi considerado o laudo técnico da empresa responsável pela fabricação e distribuição dessa droga no mercado formalizado. Foi depositada amostra da droga na herboteca do Laboratório de Farmacognosia da UTP onde permaneceu como material de referência e estudo.

O material botânico adquirido foi seco em estufa a 40°C e triturado a pó, sendo extraído o óleo essencial por hidrodestilação em aparelho de Clevenger (Dóleo<Dágua) e enviado para realização do CG/MS. Em seguida, a droga foi deixada em maceração por 48 horas em solução hidroalcoólica. O extrato obtido foi filtrado e então concentrado em rotaevaporador (40°C) até *secura*.

Após maceração a droga foi esgotada com uma nova maceração com um solvente altamente polar (metanol) e concentrado em rota-vapor (40°C) até *secura*.

2.2. Fracionamento e Isolamento

O extrato hidroalcoólico foi ressuspenso em uma mistura de metanol e água (1:1) e submetido à partição líquido-líquido, com solventes de diferentes polaridades (hexano, clorofórmio, acetato de etila e *n*-butanol), de forma a obter as frações hexânica (FH), clorofórmica (FC), acetato de etila (FAE) e *n*-butanólica (FB). Essas frações foram concentradas em rotaevaporador e liofilizadas. Com as frações liofilizadas foram preparadas as soluções a serem administradas nos animais. Para preparar as soluções foi utilizado 100 mg da fração, 0,5 mL de etanol e 9,5 mL de salina, sendo agitadas por 10 minutos. Neste trabalho utilizou-se a FB.

2.3. Ensaios Farmacológicos

A fração *n*-butanólica (FB) foi utilizada para as realizações dos ensaios farmacológicos. Conforme resultados obtidos a partir do biomonitoramento, se estes forem positivos, a fração será submetida a novas técnicas cromatográficas com a finalidade de isolar os princípios bioativos responsáveis pelas respectivas atividades farmacológicas. Os compostos isolados também serão submetidos à análise farmacológica, sendo as concentrações determinadas durante os experimentos através de uma curva dose-resposta.

2.4. Animais

Nos experimentos foram utilizados 48 camundongos *Mus Musculus*, pesando entre 30 e 45 g, variedade *Swiss*, provenientes do Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos (CPPI), que foram mantidos em condições controladas de temperatura (22°C) e luminosidade (ciclo 12 horas claro/12 horas escuro) com livre acesso a ração e água antes dos experimentos. Os animais foram transferidos para a sala de aclimação no mínimo duas semanas antes dos experimentos, e foram agrupados em número máximo de seis animais por caixa. Os experimentos foram realizados em sala silenciosa, mantendo o controle da temperatura e sempre durante o ciclo claro.

Os experimentos foram realizados mediante submissão e aprovação do projeto ao Comitê de Ética da Universidade Tuiuti do Paraná nº 005 P/2011.

2.5. Drogas e soluções

As drogas usadas foram paracetamol (Teuto), ácido acético (BIOTEC Reagentes Analíticos) e salina (Basa Farma).

2.6. Contorções Abdominais

O método de contorções abdominais foi realizado de acordo com o método descrito por Koster *et al.*,1959. As frações de *n*-butanol obtidas do extrato etanólico das folhas de *Ocimum basilicum* foram administradas nas doses de 15, 30 e 60 mg/kg, por via oral. O grupo controle 1 recebeu salina (NaCl 0,9%, 10 mL/kg) e o grupo controle 2 recebeu paracetamol (500 mg/ kg / 50mg/mL), ambos via oral. Os tratamentos foram realizados uma hora antes da administração intraperitoneal (ip) de ácido acético (0,6% v/v salina, 10 ml/kg). O número de contorções dos animais foi contado de forma somatória durante o período de 20 minutos e a porcentagem de inibição do número de contorções foi calculada.

2.7. Análise Estatística

Os resultados estão expressos em média \pm erro padrão da media. O teste ANOVA foi usado para realização de análise da diferença entre os grupos, e o teste de Dunnet determinou a diferença estatística em comparação ao grupo controle, sendo considerado significativo a partir de $p < 0.001$. Foi usado o pacote estatístico GraphPad Prism 5.

3. RESULTADOS

No modelo experimental de analgesia periférica, por meio de injeção intraperitoneal de ácido acético a 0,6%, a média de contorções apresentadas pelo grupo controle foi de $32,071 \pm 2,56$ (n=14). O grupo tratado com paracetamol apresentou uma média de contorções de $7,636 \pm 2,064$ (n= 11), sendo o único grupo a demonstrar diferença estatística significativa quando comparado ao grupo controle. Os grupos que foram tratados com o extrato de *Ocimum basilicum* L. fracionado com *n*-butanol, que receberam doses de 15

mg/kg apresentaram médias de contorções de $30 \pm 4,408$ ($n= 8$), os que receberam dose de 30 mg/kg tiveram média de $40 \pm 4,44$ ($n= 8$) enquanto os que receberam dose de 60mg/kg apresentaram média de $29,714 \pm 4,385$ ($n=7$). Nenhum dos grupos tratados com FB apresentou diferença estatística significativa quando comparados ao grupo controle.

Os tratamentos com a FB nas doses de 15 mg/kg, 30 mg/kg e 60 mg/kg apresentaram, respectivamente, uma redução de 6,4%, um aumento de 24,7% e uma redução 7,3% nas contorções abdominais quando comparados ao grupo controle. Em contraste, o tratamento com paracetamol (500 mg/ kg / 50 mg/mL) apresentou inibição de 76,2% comparando-se ao grupo controle (ver figura 01).

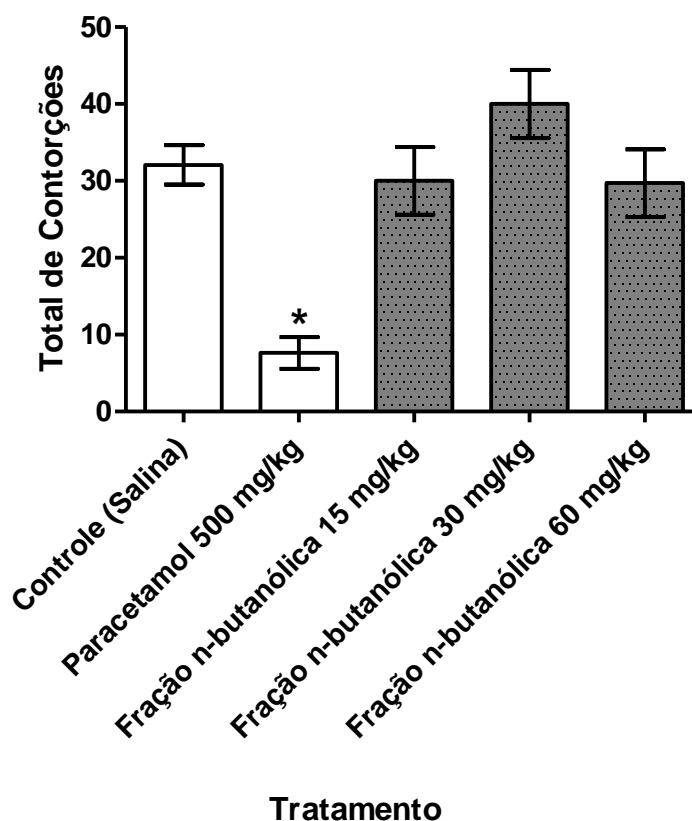


Figura 01 – Avaliação do efeito da fração *n*-butanólica de *Ocimum basilicum* L. em contorções abdominais induzidas por ácido acético. Os camundongos foram tratados com salina (controle), com paracetamol (500 mg/kg / 50 mg/mL) ou com FB nas doses de 15, 30 e 60 mg/kg. Todos os tratamentos foram via oral. Após 60 minutos das administrações os animais receberam ácido acético 0,6% (10 mL/Kg) via intraperitoneal. O número de contorções foi contado no intervalo de 20 minutos. Os dados estão expressos em $media \pm epm$ ($n= 7-14$) onde * $p < 0,001$, no teste de ANOVA seguido de Dunnet.

4. DISCUSSÃO

A escolha das doses de 15, 30 e 60 mg/kg foi baseada nos experimentos de Lorber & Nowacki (2011), que avaliaram a atividade analgésica do extrato bruto hidroalcólico de manjerição nas doses de 150, 300 e 600 mg/kg. Uma vez que as frações possuem concentração mais elevada de substâncias presentes no extrato bruto, foram acatadas doses dez vezes menores para a realização dos experimentos mediante utilização do extrato fracionado com *n*-butanol.

A atividade antinociceptiva foi avaliada pelo modelo das contorções abdominais. O modelo químico de nocicepção de contorções abdominais em camundongos tem como base a contagem das contorções e cólicas abdominais acompanhadas de torção do tronco e extensão das patas traseiras, como resposta reflexa à irritação e inflamação do peritônio produzidas pela injeção intraperitoneal de ácido acético (Whittle, 1964).

A resposta nociceptiva do ácido acético conta com a liberação de compostos endógenos, como por exemplo, a bradicinina, prostaglandina, entre outros mediadores, segundo Deraedt *et al.* (1980), que observaram níveis elevados destas substâncias químicas durante os primeiros 30 minutos após a aplicação de ácido acético via intraperitoneal. Alguns estudos que utilizam do modelo de contorção abdominal induzido por ácido acético têm revelado que as prostaglandinas, em especial as prostaciclina, são os principais mediadores envolvidos neste processo (Ferreira, 1979; Berkenkopf & Weichman, 1998). Além destes, também foi possível detectar a liberação de mediadores como norepinefrina e acetilcolina do sistema nervoso simpático (Duarte *et al.*, 1988; Borsato *et al.*, 2000).

Segundo estudos realizados por Fernández *et al.* (2005), o extrato aquoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* possui propriedades analgésicas no modelo de analgesia usando teste da placa quente e da fonte de calor, como também no método de contorções por ácido acético, obtendo os melhores resultados usando a concentração de 1000 mg/kg.

De acordo com estudos realizados por Franca *et al.* (2008), o óleo essencial extraído das folhas de *Ocimum selloi*, na concentração de 200 mg/kg,

via oral, reduziu significativamente o trânsito intestinal após os camundongos se alimentarem de carvão. Além disso, o óleo essencial reduziu, de uma forma dependente da dose, a resposta nociceptiva induzida por ácido acético (0,6%) administrado intraperitonealmente. Tomados em conjunto, estes resultados indicam que o óleo essencial de *O. selloi* combate tanto os sintomas de diarreia, quanto a dor visceral, normalmente associada com diarreia e espasmos intestinais.

Em estudos feitos por Rabelo *et. al.* (2003), o óleo essencial extraído das folhas da espécie *Ocimum gratissimum* L. (Labiatae) apresentou efeitos antinociceptivos em testes de contorção e formalina em camundongos. Em doses de 30, 100 e 300 mg/kg (via oral), o óleo essencial produziu uma inibição dependente da dose, nas contorções induzidas por ácido acético, causando uma inibição até aproximadamente 60% na dose mais elevada utilizada. Nas mesmas doses, o óleo do *Ocimum gratissimum*, predominantemente, inibiu a fase (inflamatória) tardia da resposta à dor induzida por formalina, com uma redução máxima de aproximadamente 60% do controle.

De acordo com estudos realizados por Lorber & Nowacki (2011), o extrato hidroalcoólico do *Ocimum basilicum* apresentou atividade analgésica na dose de 150 mg/kg através do teste de contorções abdominais.

Os resultados do presente trabalho demonstram que no modelo de contorções abdominais pelo ácido acético, a fração *n*-butanólica do *Ocimum basilicum* L. não apresentou atividade antinociceptiva significativa ($p < 0,05$) quando administrado por via oral, em nenhuma das doses testadas (15, 30 e 60 mg/kg).

A sinergia de substâncias é um fenômeno que ocorre com frequência, tornando a fração possivelmente mais ou menos ativa, e ainda podendo contribuir com o efeito de toxicidade (Constantino, 2009).

Uma vez que os resultados do extrato hidroalcoólico demonstraram-se positivos, pode-se inferir que o mesmo apresenta atividade analgésica, e quando fracionado com *n*-butanol, clorofórmio e hexano não surtiu o mesmo efeito, provavelmente devido à impossibilidade de ação sinérgica entre as substâncias. A fração acetato de etila não foi testada, então pode-se ainda considerar a possibilidade de os princípios ativos responsáveis pela inibição

da dor estarem na mesma. Posteriormente, testes serão realizados com esta fração para a observação da existência ou não de tais elementos químicos.

Outra hipótese a ser considerada para justificar os resultados negativos seria a redução nas doses utilizadas neste trabalho (15, 30 e 60 mg/kg) comparadas às doses do trabalho de Lorber & Nowacki (2011) (150, 300 e 600 mg/kg). Essa diminuição de 90% pode ter interferido na atividade analgésica. Desta forma, novos experimentos serão realizados para confirmar esses resultados, bem como seu respectivo mecanismo de ação.

5. CONCLUSÃO

A fração *n*-butanólica das folhas de *Ocimum basilicum* (manjeriçã) nas doses de 15, 30 e 60 mg/kg, administradas oralmente em camundongos que sofreram contorções abdominais induzidas por ácido acético, não apresentou efeito analgésico.

6. AGRADECIMENTOS

À professora Luciana Nowacki pela orientação e ao professor Wesley Maurício de Souza, pela extração do material e assistência no desenvolvimento deste trabalho. À Universidade Tuiuti do Paraná e à Universidade Federal do Paraná, por disponibilizar o uso dos laboratórios e aparelhos. A todos os técnicos e funcionários dos laboratórios que prestaram auxílio, como também às minhas colegas e colaboradoras Daniela Ickert e Fernanda Vingra.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C. Etnobotânica del género *Ocimum* L. (Lamiaceae) en las comunidades afrobrasileñas. *Anales del Jardim Botânico de Madrid*, v.56, n.1, p.107-118, 1998.
- ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.G.; ALLEN L.V. *Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems*. 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 1990.

BARBOSA-FILHO, J.M.; NASCIMENTO-JÚNIOR, F.A.; TOMAZ, A.C.A.; ATHAYDE-FILHO, P.F.; SILVA, M.S.; CUNHA, E.V.L.; SOUZA, M.F.V.; BATISTA, L.M.; DINIZ, M.F.F.M. Natural products with antileprotic activity. *Rev Bras Farmacogn* 17: 141-148. 2007.

BARBOSA-FILHO, J.M.; ALENCAR, A.A.; NUNES, X.P.; TOMAZ, A.C.A.; SENA-FILHO, J.G.; ATHAYDE-FILHO, P.F.; SILVA, M.S.; SOUZA, M.F.V.; DA-CUNHA, E.V.L. Sources of alpha-, beta-, gamma-, delta- and epsilon-carotenes: A twentieth century review. *Rev Bras Farmacogn* 18: 135-154. 2008.

BHATNAGAR, M.; KAPUR, K. K.; JALEES, S.; SHARMA, S. K. Laboratory evaluation of insecticidal properties of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum sanctum* L. Plants, essential oils and their major constituents against vector mosquito species. *Journal of Entomological Research*, v.17, p. 21-26, 1993.

BERKENKOPF, J & WEICHMAN, B.M. Production of prostacyclin in mice following intraperitoneal injection of acetic acid, phenylbenzoquinone and zymosan: its role in the writhing response. *Prostaglandins*, 36:693-709, 1998.

BORSATO MLC, GRAEL CFF, SOUZA GEP, LOPES NP. Analgesic activity of the lignans from *Lychnophora ericoides*. *Phytochemistry* 55: 809-813. 2000.

CONSTANTINO, Dulce Helena Jardim. Atividade antitumoral do *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae). *Rev. bras. farmacogn.* [online]. vol.19, n.3, pp 660-663. ISSN 0102-695X. 2009.

CORRÊA, M.F.P.; MELO, G.O.; COSTA, S.S. Substâncias de origem vegetal potencialmente úteis na terapia da Asma. *Rev Bras Farmacogn* 18 (Supl.): 785-797. 2008.

COSENDEY, M.A.E. Assistência farmacêutica na atenção básica de saúde: a experiência de três estados brasileiros. *Cadernos de Saúde Pública*, v.16, p.171-182, 2000.

DUARTE JDG, NAKAMURA M, FERREIRA SH. Participation of the sympathetic system in acetic acid induced writhing in mice. *Braz J Med Biol Res* 21: 341-343. 1988

FERNANDES, P.C.; FACANALI, R.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; MARQUES, M.O.M. Cultivo de manjeirão em hidroponia e em diferentes substratos sob ambiente protegido. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.22, n.2, p.260-264, abr./jun. 2004.

FERNÁNDEZ, P. B.; FIGUEREDO, Y. N.; FERNÁNDEZ, S. A.; HERNÁNDEZ, I. C.; SANABRIA, M. L. S.; VALDÉS, Y. I.; CARPIO, M. O. Efecto analgésico del extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L. *Rev Cubana Plant Med* 10(1): 0-0, ND. 2005.

FERREIRA, S.H. A new method for measuring variations of rats paw volumes. *Journal Pharmacy and Pharmacology* 31, 648. 1979.

FRANCA. C. S.; MENEZES, F. S.; COSTA, L. C. B.; NICULAU, E. S.; ALVES, P. B.; PINTO, J. E. B.; MARÇAL, R.M. Analgesic and antidiarrheal properties of *Ocimum selloi* essential oil in mice. *Fitoterapia, Volume 79, Issues 7–8, Pages 569-573*. 2008.

GRAYER, R.J., KITETE, G.C., GOLDSTONE, F.J., BRYAN, S.E., PATON, A., PUTIEVSKY, E. Infraespecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*. *Phytochemistry*, v.4, p. 10033-1039, 1996.

KOROLKOVAS, A; BURCKHALTER, J.H. *Química Farmacêutica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 39-83. 1982.

KOSTER, R., ANDERSON, M., DE-BEER, E.J. Acetic acid for analgesic screening. *Federation Proceedings* Vol. 18, 412–418. 1959.

LORBER, R. R.; NOWACKI, L. C.. Análise das Propriedades Analgésicas de *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, PR. 2011

MATOS, F.J.A. *Farmácias vivas*. Fortaleza: Ed. da Universidade Federal do Ceará, 1998.

MICHILIS, E. Diagnóstico situacional dos serviços de fitoterapia no Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira Farmacognosia*, v.14 (Supl. 1): 16-19, 2004.

MONTES-BELMONT, R.; CARVAJAL, M. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. *Journal of Food Protection*, v.61, n.5, p.616-619, 1998.

OGAVA, S.E.N, Pinto, M.T.C., Marques, L.C. Implantação do programa de fitoterapia "Verde Vida" na Secretaria de Saúde de Maringá (2000-2003). *Revista Brasileira Farmacognosia*, v. 13 (Supl.1): 58-62, 2003.

SAÚDE-GUIMARÃES, D.A.; FARIA, A.R. Substâncias da natureza com atividade anti-*Trypanosoma cruzi*. *Rev Bras Farmacogn* 17: 455-465. 2007

SNEADER, W. 1985. *Drug Discovery: the evolution of modern medicines*. Chichester. John Wiley, p. 1-14.

SOUSA, F.C.F.; MELO, C.T.V.; CITÓ, M.C.O.; FÉLIX, F.H.C.; VASCONCELOS, S.M.M.; FONTELES, M.M.F.; BARBOSA-FILHO, J.M.; VIANA, G.S.B. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. *Rev Bras Farmacogn* 18: 642-654. 2008.

STUART, G. R.; *Dissertação de mestrado*, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 1995.

RABELO, M.; SOUZA, E.P.; SOARES P. M. G.; MIRANDA, A. V.; MATOS, F. J. A.; CRIDDLE, D. N. Antinociceptive properties of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. (Labiatae) in mice. *Braz J Med Biol Res*, Volume 36(4) 521-524 (Short Communication), 2003.

UMERIE, S.C.; ANASO, H.U.; ANYASORO, L.J.C. Inseticidal potentials of *Ocimum basilicum* leaf extracts. *Bioresource Technology*, v.64, n.3, p.237-239, 1998.

VIEIRA, R.F.; SIMON, J.E. Chemical characterisation of basil (*Ocimum basilicum* L.) found in markets and used in traditional medicine in Brazil. *Economical Botany*, v.54, p.207-216, 2000.

WHITTLE, B.A. Release of a kinin by intraperitoneal injection of chemical agents in mice. *J Neuropharmacol* 3: 369-378. 1964