



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA
NÍVEL MESTRADO

EDITH TELES VENÂNCIO

**ESTUDO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICOS DO EXTRATO
PADRONIZADO DE *JUSTICIA PECTORALIS* (CHAMBÁ) EM CAMUNDONGOS**

FORTALEZA – CE
2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

EDITH TELES VENÂNCIO

**ESTUDO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICOS DO EXTRATO
PADRONIZADO DE *JUSTICIA PECTORALIS* (CHAMBÁ) EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para a obtenção do título de Mestre, pelo
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia
da Universidade Federal do Ceará.

Orientador (a):
Profa. Dra. Marta Maria de França Fonteles
Co-Orientador (a): Dra. Luzia Kalyne Almeida
Moreira Leal

**FORTALEZA – CEARÁ
2009**

EDITH TELES VENÂNCIO

**ESTUDO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICOS DO EXTRATO
PADRONIZADO DE *JUSTICIA PECTORALIS* (CHAMBÁ) EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para a obtenção do título de Mestre pelo
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia
da Universidade Federal do Ceará.

Aprovada em ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Marta Maria de França Fonteles (Orientadora) – Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa – Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Nylane Maria Nunes de Alencar – Universidade Federal do Ceará

Dedico este trabalho

À minha mãe, Maria Zilda, que, com seu jeito particular, sempre me incentivou a alcançar todos os objetivos traçados, independente do grau de dificuldade;

À minha sobrinha Joana Victória, que trouxe mais alegria a minha vida e foi, muitas vezes, sem saber, meu estímulo para continuar durante os momentos difíceis.

AGRADECIMENTOS

A **Deus e Nossa Senhora de Fátima**, minha madrinha, por me protegerem, guiarem e colocarem as pessoas certas ao longo de minha vida e jornada acadêmica.

À Profa. Dra. **Marta Maria de França Fonteles**, minha orientadora, que me ensinou que sua maior preocupação não era minha dissertação ou as publicações que poderíamos conquistar; seu maior interesse era minha formação e meu aprendizado. Obrigada por sempre me incentivar, por todos os conselhos, pela paciência e amizade.

À Profa. Dra. **Kalyne Moreira de Almeida Leal**, minha co-orientadora, pelo seu exemplo e dedicação a carreira científica, por fornecer meu material de estudo, ajudar nas metodologias, esclarecer as dúvidas e, enfim, estar sempre presente quando solicitada.

Às Profas. Dras. **Francisca Cléa Florenço de Sousa e Silvânia Maria Mendes Vasconcelos**, por serem de forma indireta minhas co-orientadoras devido a presença sempre constante e os conselhos dados durante meus estudos.

À Profa. Dra. **Nylane Maria Nunes de Alencar**, por ter gentilmente aceito o convite para participar da banca examinadora.

Às demais professoras do Laboratório de Neurofarmacologia, **Geanne Matos de Andrade e Danielle Macedo**, pelas idéias e auxílio prestado quando solicitado.

Ao Prof. **Hélio Rola**, pelas várias conversas, muitas vezes no corredor, sobre a emoção, o dilema e a importância de ser pesquisador e professor.

Aos demais professores do Departamento de Fisiologia e Farmacologia pelos ensinamentos durante as aulas.

Agradeço ao **Nayrton**, que sabe da importância que tem em minha vida, portanto não preciso escrever muito.

Agradeço ao **Emiliano (Mimi)**, “pessoinha” que aprendi a conviver e gostar, pelos momentos de alegria, cumplicidade e fofocas e, principalmente, pela sua não tão grande paciência em me ensinar, ou melhor, fazer todos os meus cálculos durante esses dois anos.

“Edith, presta atenção que só vou te ensinar essa vez...”

À **Mariana (Mari)** que começou sendo companheira de experimento, principalmente, plus maze e, agora é uma amiga, com toda a força que a palavra pode ter, pois esteve ao meu lado durante os bons momentos, mas principalmente durante os vários momentos de fraqueza e, até mesmo desilusão, que tive ao longo desse tempo. *“Amiga...OBG”*

Aos queridos amigos da Pós-Graduação: **Cacá, Thici, Fernando, Charliane, Helvira, Danilo, Giuliana, Daniel, Elaine, Patrícia Freire, Izabel Gomes, Cerqueira, Patrícia Gomes, Kelly Rose, Luciana, Rafaelly, Márcia Calheiros, Eduardo** (valeu, companheiro!), **Edna, Sarah, Raquel e Jéferson**, pelos momentos científicos e de descontração.

Aos queridos amigos bolsistas: **Belzinha, Alyne Mara, Brinell, Rufino, Valdécio e Marília** pela ajuda e momentos de alegria.

As companheiras de festas, **Camylla, Tatiana e Dayana** que, muitas vezes, me fizeram esquecer os problemas durante os momentos de alegria. *“Vamos ‘trabalhar’ que a vida passa”*

Aos pupilos que a Profa. Marta me presenteou, **Igor e Tiago**, por toda a contribuição durante os experimentos.

Aos amigos da graduação em Farmácia que estão um pouco distantes, mas nunca foram esquecidos, **Enoi (Nói), Cynara (Cynarita), Ingrid e Felipe (pestizinha)**.

À técnica do laboratório, **Vilani (Vilinha)** pelos momentos de alegria, mas, principalmente pelas reclamações quase que diárias. *“Olha a feira...Desce da mesa que isso não é cadeira...A bolsa já saiu, então paga a caixinha...”*

Ao **Arnaldo**, farmacêutico, que passava horas e dias passando as amostras no HPLC e que, aos poucos, se tornou companheiro nas horas de descontração.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, em especial, **Aurinha, Márcia, Chiquinho, Alana, Fernando, Sílvio, Íris, Carlos e Joana**, pela dedicação ao trabalho.

Aos **camundongos** que, mesmo contra a vontade, cederam suas vidas a este trabalho.

A CAPES pelo apoio financeiro.

Acredito que nosso comportamento se modifica a cada palavra que trocamos com alguém. Sei que nos agradecimentos estou sendo injusta com centenas de pessoas com quem conversei ao longo do mestrado e que, com certeza, modificaram meu comportamento, mas seria impossível agradecer a todas elas nominalmente.

A vocês **MUITO OBRIGADA!!**

Nas águas revoltas do mar tantas vezes agressivo da atualidade, navegamos...

Dias calmos, dias tempestuosos.

O que importa é a rota segura.

E desta nos louvamos todos, à frente do Divino Timoneiro.

As dificuldades são os degraus da ascensão.

Cultivemos serenidade e confiança.

Observai tudo e selecionai os ingredientes que vos pareçam necessários ao bem geral. Nem segregação sistemática na cultura acadêmica, nem reclusão absoluta nas afirmativas do sentimento.

Dr. BEZERRA DE MENEZES (1831-1900)

RESUMO

Estudo dos efeitos comportamentais e neuroquímicos do extrato padronizado de *Justicia pectoralis* Jacq. var *stenophylla* Leonard (Chambá) em camundongos. EDITH TELES VENÂNCIO. Orientador (a): Profa. Dra. Marta Maria de França Fonteles. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFC, 2009.

O extrato padronizado de chambá, preparado a partir das partes aéreas da *Justicia pectoralis* Jacq. var *stenophylla* Leonard, foi avaliado em modelos animais clássicos para *screening* de drogas com atividade em ansiedade, depressão, sedação e convulsão, tais como, labirinto em cruz elevado (LCE), claro/escuro, campo aberto, rota rod, nado forçado, suspensão da cauda, tempo de sono induzido por pentobarbital e convulsão induzida por pentilenotetrazol, e em estudo neuroquímico, através da concentração de monoaminas e seus metabólitos, tais como dopamina (DA), ácido diidrofenil acético (DOPAC), ácido homovalínico (HVA), noradrenalina (NE), 5-hidroxitriptamina (5-HT) e ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA). O chambá foi administrado de forma aguda em todos os testes, nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg, através da via oral (v.o.) Os resultados mostraram que o extrato apresentou efeito ansiolítico nos modelos LCE e claro/escuro, pois aumentou todos os parâmetros analisados no LCE, como NEBA, PEBA, TPBA e PTBA, assim como o tempo de permanência no box claro no claro/escuro. Este efeito está possivelmente relacionado com o sistema gabaérgico já que o flumazenil, antagonista dos receptores GABA_A/Benzodiazepínico, reverteu o efeito ansiolítico do chambá no LCE. No teste campo aberto, não foi observado nenhuma alteração na atividade locomotora, bem como no número de *grooming* e *rearing*. O chambá apresentou efeito depressor do Sistema Nervoso Central (SNC), pois nos testes nado forçado e suspensão da cauda, aumentaram o tempo de imobilidade dos animais. A avaliação sedativa/hipnótica do chambá, no teste do tempo de sono induzido por pentobarbital, mostrou que não houve alteração na duração do sono dos animais, descartando efeito sedativo. No teste da convulsão induzida por pentilenotetrazol, o chambá não alterou a latência de convulsão, bem como a latência de morte. Esse resultado sugeriu que o chambá não possui efeito anticonvulsivante. A avaliação neuroquímica comprovou o efeito depressor do extrato, pois se verificou uma redução da concentração das monoaminas, envolvidas na depressão. Em conclusão, esses efeitos mostraram que o chambá apresenta efeito ansiolítico, provavelmente relacionado com o sistema gabaérgico; efeito depressor e não possui atividade anticonvulsivante e sedativa.

Palavras-chave: *Justicia pectoralis*, chambá, ansiedade, depressão, monoaminas

ABSTRACT

Study of the behavioral and neurochemistry effects of the standardized o *Justicia pectoralis* Jacq. var *stenophylla* Leonard (Chamba) in mice. EDITH TELES VENÂNCIO. Supervisor: Prof. Dr. Marta Maria de França Fonteles. Master Dissertation. Post-graduation Program in Pharmacology. Pharmacology and Physiology Department, UFC, 2009.

The standardized extract of chamba, prepared from the aerial parts of *Justicia pectoralis* Jacq. var *stenophylla* Leonard, was evaluated in classical animal models to the screening of drugs with activity in anxiety, depression, sedation and convulsion, such as elevated plus maze (EPM), light/dark, open field, rota rod, forced swimming, tail suspension, pentobarbitone-induced sleep time and pentylenetetrazole-induced seizures and a neurochemistry study, through the level of monoamines and its metabolites, such as dopamine (DA), dihidrofenil acetic acid (DOPAC), homovanilic acid (HVA), norepinephrine (NE), 5-hidroxytryptamine (5HT) and 5-hidroxyindolacetic acid (5HIAA). Chamba was administered acutely in all tests, in the doses of 50, 100 and 200 mg/kg, through the oral via (p.o.). Results showed that the extract presented an anxiolytic effect in the models of EPM and light/dark, since increase all the parameters analyzed in the EPM, such as NEOA, PEOA, TPOA, PTOA, as well as the permanence time in the light compartment. This effect is probably related with the GABAergic system since Flumazenil, an antagonist of GABA_A/benzodiazepinic, reverted the anxiolytic effect of chamba in the EPM. In the open field, it was not observed no alteration in the locomotor activity, as well as the number of grooming and rearing. Chamba presented depressor effect of Central Nervous System (CNS), since in the forced swimming and tail suspension, increased the immobility time of animals. The sedative/hypnotic evaluation of chamba, in pentobarbitone-induced sleep time showed that it has no alteration in the duration of sleep of animals, discarding sedative effect. In the pentylenetetrazole-induced seizures, chamba did not change the convulsion latency, as well the death latency. This result suggests that chamba did not have anticonvulsant effect. The neurochemistry evaluation confirmed the depressor effect of the extract, since it was verified a reduction in the level of monoamine levels, involved in the depression. In conclusion, these effects showed that chamba presented anxiolytic effect, probably related with the GABAergic system; depressor effect and did not have anticonvulsant and sedative effects.

Key Words: *Justicia pectoralis*, chamba, anxiety, depression, monoamines

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO

FIGURA 1.1 Estrutura química da cumarina (A) e umbeliferona (B).....	19
FIGURA 1.2 - <i>Justicia pectoralis</i> Jacq. var <i>stenophylla</i> Leonard.....	21
FIGURA 1.3: Síntese e metabolismo do GABA.....	28
FIGURA 1.4: Receptor GABA _A	28
FIGURA 1.5: Principais vias do metabolismo da dopamina no cérebro.....	31
FIGURA 1.6 – Vias dopaminérgicas no cérebro.....	33
FIGURA 1.7 - Síntese da 5-hidroxitriptamina (serotonina).....	34

RESULTADOS

FIGURA 4.1 – Efeito do Chambá, Diazepam e Flumazenil sobre o número de entradas nos braços abertos (NEBA) no teste Labirinto em Cruz Elevado em camundongos.....	66
FIGURA 4.2 – Efeito do Chambá, Diazepam e Flumazenil sobre a percentagem de entradas nos braços abertos (PEBA) no teste Labirinto em Cruz Elevado em camundongos.	67
Figura 4.3 – Efeito do Chambá, Diazepam e Flumazenil sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) no teste Labirinto em Cruz Elevado em camundongos.	68
Figura 4.4 – Efeito do Chambá, Diazepam e Flumazenil sobre a percentagem do tempo de permanência nos braços abertos (PTBA) no teste Labirinto em Cruz Elevado em camundongos.....	69
Figura 4.5 - Efeito do Chambá e Diazepam sobre o tempo de permanência no box claro no teste Claro/Escuro em camundongos.....	71
FIGURA 4.6 - Efeito do Chambá e Imipramina sobre o tempo de imobilidade no teste Nado Forçado em camundongos.....	77
FIGURA 4.7 - Efeito do Chambá e Imipramina sobre o tempo de imobilidade no teste da Suspensão da Cauda em camundongos.	79
FIGURA 4.8 – Determinação da concentração de DA em córtex pré-frontal após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	85
FIGURA 4.9 – Determinação da concentração de DOPAC em córtex pré-frontal após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	86
FIGURA 4.10 – Determinação da concentração de HVA em córtex pré-frontal após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	87
FIGURA 4.11 – Determinação da concentração de NE em córtex pré-frontal após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	88
FIGURA 4.12 – Determinação da concentração de 5-HT em córtex pré-frontal após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	89
FIGURA 4.13 – Determinação da concentração de 5-HIAA em córtex pré-frontal após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	90
FIGURA 4.14 – Determinação da concentração de DA em hipocampo após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	92
FIGURA 4.15 – Determinação da concentração de DOPAC em hipocampo após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	93

FIGURA 4.16 – Determinação da concentração de HVA em hipocampo após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	94
FIGURA 4.17 – Determinação da concentração de NE em hipocampo após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	95
FIGURA 4.18 – Determinação da concentração de 5-HT em hipocampo após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	96
FIGURA 4.19 – Determinação da concentração de 5-HIAA em hipocampo após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	97
FIGURA 4.20 – Determinação da concentração de DA em corpo estriado após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	99
FIGURA 4.21 – Determinação da concentração de DOPAC em corpo estriado após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	100
FIGURA 4.22 – Determinação da concentração de HVA em corpo estriado após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	101
FIGURA 4.23 – Determinação da concentração de NE em corpo estriado após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	102
FIGURA 4.24 – Determinação da concentração de 5-HT em corpo estriado após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	103
FIGURA 4.25 – Determinação da concentração de 5-HIAA em corpo estriado após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.....	104

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Efeito do Chambá e Diazepam sobre a atividade locomotora (ALE), <i>grooming</i> e <i>rearing</i> no teste campo aberto em camundongos.	73
TABELA 2 - Efeito do Chambá e Diazepam sobre o número de quedas e tempo de permanência na barra no teste rota rod em camundongos.	75
TABELA 3 – Efeito do Chambá e Diazepam sobre a latência de sono e duração do sono no teste Tempo de Sono Induzido por Pentobarbital em camundongos.	81
TABELA 4 – Efeito do Chambá e Diazepam sobre a latência de convulsão e de morte no teste de Convulsão Induzida por Pentilenotetrazol em camundongos.	83

LISTA DE QUADROS

QUADRO 3.1 – Esquema do Teste Labirinto em Cruz Elevado	49
QUADRO 3.2 – Esquema do teste Claro/Escuro	50
QUADRO 3.3 – Esquema do Teste do Campo Aberto	51
QUADRO 3.4 – Esquema do Teste do Rota rod.....	52
QUADRO 3.5 – Esquema do teste Nado Forçado	53
QUADRO 3.6 – Esquema do teste da Suspensão da Cauda	54
QUADRO 3.7 – Esquema do teste Tempo de Sono Induzido por Pentobarbital.....	56
QUADRO 3.8 – Esquema do teste Convulsão Induzida por Pentilenotetrazol.....	57

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1 Generalidades	17
1.2 Cumarinas	18
1.3 Família Acanthaceae	20
1.4 <i>Justicia pectoralis</i> Jacq var. <i>stenophylla</i> Leonard	20
1.5 Ansiedade	22
1.6 Depressão	23
1.7 Epilepsia	25
1.8 Sistemas	26
1.8.1. Sistema Gabaérgico	26
1.8.2. Monoaminas	29
1.9 Correlação das Áreas Cerebrais e Concentrações Neuroquímicas	35
1.9.1 Córtex Pré-frontal	35
1.9.2 Hipocampo	36
1.9.3 Corpo Estriado	37
1.10 Relevância e Justificativa	38
2 OBJETIVOS	40
2.1 Objetivo Geral	40
2.2 Objetivos Específicos	40
3 MATERIAIS E MÉTODOS	43
3.1 Animais	43
3.2 Drogas	43
3.2.1 Preparo das Drogas	44
3.2.2 Tratamento do grupo experimental	45
3.2.3 Protocolo Experimental	46
3.3 Equipamentos	47
3.4 Avaliação da Atividade Ansiolítica	48
3.4.1 Teste do Labirinto em Cruz Elevado	48
3.4.2 Teste do Claro/Escuro	50
3.5 Avaliação da Atividade Locomotora	51
3.5.1 Teste do Campo Aberto	51
3.5.2 Teste do Rota <i>rod</i>	52
3.6 Avaliação da Atividade Antidepressiva	53
3.6.1 Teste do Nado Forçado	53
3.6.2 Teste da Suspensão da Cauda	54
3.7 Avaliação da Atividade Sedativo/Hipnótica e Anticonvulsivante	55
3.7.1 Teste do Tempo de Sono Induzido por Pentobarbital	55
3.7.2 Teste da Convulsão Induzida por Pentilenotetrazol	57
3.8 Dissecção das Áreas Cerebrais (Córtex pré-frontal, Hipocampo e Corpo estriado)	58

3.9 Determinação das concentrações de monoaminas e seus metabólitos com HPLC.....	59
3.9.1 Método.....	59
3.9.2 Procedimento Experimental.....	60
3.9.3 Soluções Reagentes.....	60
3.10 Análise Estatística.....	62
4. RESULTADOS	64
4.1 Avaliação da Atividade Ansiolítica	64
4.1.1 Teste do Labirinto em Cruz Elevado.....	64
4.1.2 Teste Claro/Escuro.....	70
4.1.3 Teste do Campo Aberto.....	72
4.1.4 Rota <i>Rod</i>	74
4.2 Avaliação da Atividade Antidepressiva	76
4.2.1 Teste do Nado Forçado.....	76
4.2.2 Teste da Suspensão da Cauda.....	78
4.3 Avaliação da Atividade Sedativa/Hipnótica e Anticonvulsivante	80
4.3.1 Teste do Tempo de Sono Induzido por Pentobarbital.....	80
4.3.2. Teste da Convulsão Induzida por Pentilenotetrazol.....	82
4.4 Determinação das Concentrações de Monoaminas	84
4.4.1 Córtex Pré-frontal.....	84
4.4.2 Hipocampo.....	91
4.4.3 Corpo Estriado.....	98
5 DISCUSSÃO	106
6 CONCLUSÕES	120
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	123

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 Generalidades

A necessidade desempenhou ao longo da história a força motriz que impulsionou a humanidade à implementação de mudanças e de transformações. A dor fez com que o homem buscasse o analgésico, a doença desencadeou a busca do remédio, e a cura, muitas vezes somente foi encontrada na natureza, na riqueza da flora medicinal, amplamente explorada pelo homem através do tempo. Portanto, é fácil inferir que o uso de plantas no combate às doenças seja tão antigo quanto a própria humanidade.

Até o século XIX, os medicamentos disponíveis eram quase que exclusivamente formulados à base de plantas medicinais. Segundo Oliveira & Akisue (1998), planta medicinal é todo vegetal que contém em um ou vários de seus órgãos, substâncias que podem ser empregadas para fins terapêuticos ou precursores de substâncias para tal fim. De início, o descobrimento das propriedades terapêuticas dos vegetais era meramente intuitiva ou, às vezes, pela observação dos animais, que buscavam nas ervas o alívio para suas afecções (ALMEIDA et al., 2003). Recentemente, foi que as plantas medicinais passaram a ser estudadas de forma criteriosa e sistemática, do ponto de vista científico com a finalidade de comprovar as suas ações farmacológicas, bem como, ter conhecimento dos efeitos indesejáveis.

Apesar da riqueza da flora brasileira, com cerca de 500.000 espécies, existe consenso sobre a insuficiência de estudos científicos sobre o assunto (FERREIRA, 2002), dados recentes revelam que somente 6% das plantas existentes foram estudadas quanto a sua atividade biológica (SHULTES, 1972; TIPPO, STERN, 1977) e, que apenas 15% foram avaliadas fitoquimicamente (VERPOORTE, 2000). Portanto, a natureza ainda fornece um vasto e promissor campo para a pesquisa de plantas.

Embora os produtos sintéticos desempenhem papel importante na terapêutica moderna, a síntese de algumas substâncias ainda não foi conseguida, fazendo com que elas continuem sendo

obtidas de vegetais, o que aliado ao preço elevado da síntese de uma gama de substâncias, dificultam o acesso de grande parte da população a esses medicamentos, gerando problemas de saúde pública.

Dessa forma, o uso das substâncias medicamentosas naturais tem aumentado, tanto em países em desenvolvimento quanto em países desenvolvidos, levando a trocas interculturais e a difusão do uso de técnicas e produtos terapêuticos naturais. Este fenômeno requer particular atenção para evitar o uso inapropriado das plantas que podem ser prejudiciais a população (WHO, 2004).

O aumento da utilização de medicamentos contendo exclusivamente princípios ativos de origem natural ou associado a princípios ativos de outra natureza estimula várias empresas privadas e organizações governamentais a instituir projetos de pesquisa para a busca de novas substâncias ativas de origem vegetal (FERREIRA, 2002).

Tudo isto, confirma a necessidade e a importância da pesquisa para a comprovação das atividades farmacológicas das plantas medicinais utilizadas popularmente ou para a descoberta das suas propriedades curativas ou toxicológicas. Neste sentido, o Brasil com sua enorme biodiversidade, apresenta-se como um grande potencial para a pesquisa e exploração na área de plantas medicinais (ALVES et al., 2000), podendo contribuir para o desenvolvimento de novos medicamentos.

1.2 Cumarinas

As cumarinas são amplamente distribuídas nos vegetais, normalmente encontradas nas raízes, frutos e semente, e freqüentemente como misturas. Representada pela cumarina (1,2-benzopirona), cujo nome teve origem no vernáculo caribenho *cumarú*, nome popular da planta *Amburana cearensis*, de onde foi extraída, em 1820 (**Figura 1.1**).

Excetuando-se a 1,2-benzopirona, todas as cumarinas são substituídas por um grupo hidroxila na posição 7. A 7-hidróxi-cumarina, também conhecida como umbeliferona, é a precursora das cumarinas di e tri hidroxiladas.

A pesquisa sobre a atividade das cumarinas foi, em alguns casos, o ponto de partida para a descoberta de novos medicamentos. O dicumarol, por exemplo, ainda hoje utilizado como raticida devido sua atividade sobre a inibição da coagulação do sangue, foi descoberto durante a investigação sobre uma doença hemorrágica no gado alimentado com melioto [*Melilotus officinalis* (L.) Pallas] (trevo-de-cheiro-amarelo) fermentado. Esta atividade guiou a pesquisa que desenvolveu a varfarina, um anticoagulante oral (CAMPOS, CUNHA, 2005).

Muitas atividades farmacológicas são associadas às cumarinas, como anti-inflamatória (PAYA et al., 1992), antimicrobiana (MICHAELI et al., 1970; HIGGINS et al., 1978), antitumoral (THORNES, SHEEHAN, 1983; GAWRON, GLOWNIAK, 1987; MARSHALL et al., 1987), mas algumas exercem, também, efeito central, como as diidropiranocumarinas, que exercem efeito neuroprotetor e furanocumarinas, que mostraram possuir efeito antidepressivo (PEREIRA et al., 2009).

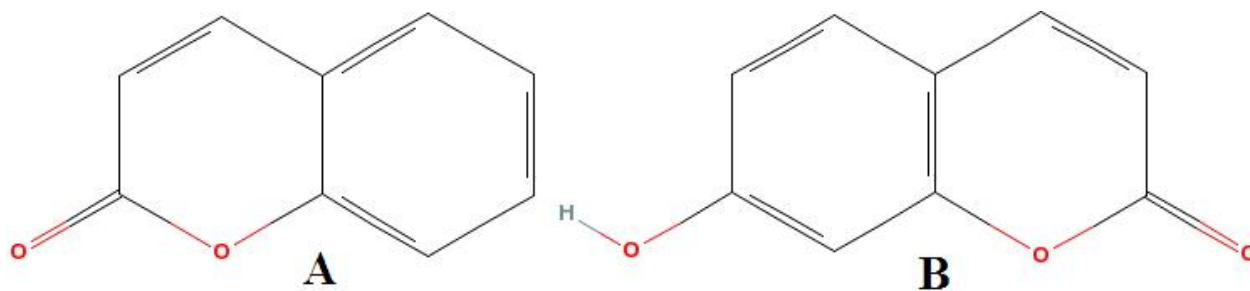


FIGURA 1.1 Estrutura química da cumarina (A) e umbeliferona (B).

1.3 Família Acanthaceae

As plantas da família Acanthaceae tem distribuição pantropical, sendo bem representadas no Brasil, apresentando o maior número de espécies na Mata Atlântica e nas formações florestais mesófilas das regiões Sudeste e Centro-Oeste, ocorrendo também em outras formações vegetais. Possuem cerca de 2.500 espécies subordinadas a 250 gêneros.

Justicia é um gênero que compreende cerca de 600 espécies de subarbustos e arbustos que podem ser cultivadas ou encontradas espontaneamente no México, Venezuela, Trindade, Cuba, Jamaica, Oeste do Equador, e Norte e Nordeste do Brasil (OLIVEIRA, ANDRADE, 2000).

1.4 *Justicia pectoralis* Jacq var. *stenophylla* Leonard

Justicia pectoralis Jacq. var. *stenophylla* Leonard é uma pequena erva sempre verde, perene, suberecta, com até 40 cm de altura. Folhas simples, membranáceas, estreitas e longas, medindo 3 a 10 cm de comprimento. Flores de coloração mariscada, muito pequenas. Fruto do tipo cápsula deiscente. Toda a planta desprende um forte cheiro de cumaru algum tempo depois de coletada. Multiplica-se facilmente por estacas ou pequenas porções dos ramos já enraizadas; cresce bem em canteiros formando conjuntos aglomerados globóides, com até 40 cm de altura. Essa forma de crescimento serve para distinguir esta erva de outras que recebem o mesmo nome popular, mas que crescem como grama (SOUSA et al., 1991). É distribuída em regiões quentes e úmidas e conhecida popularmente como “son curia” (Porto Rico), “sana herida” (Jamaica) ou “tilo, carpintero ou té criollo” (Cuba). Dentre os seus vários epítetos, “chambá” é o mais conhecido no nordeste brasileiro (RIZZINI, 1948; CHAGNON et al., 1971; BARROS, 1992; OLIVEIRA et al, 2000) (**Figura 1.2**)

O estudo químico do extrato das partes aéreas da *Justicia pectoralis* Jacq. var *stenophylla* Leonard revelou a presença de vários constituintes, cujos principais são: 1,2-benzopirona e umbeliferona nas folhas, e cumarinas nas folhas e caule (OLIVEIRA et al, 2000). A presença de cumarinas é sugerida como a responsável pelas atividades fitoterápicas do chambá (MACRAE, TOWERS, 1984; MILLS et al., 1986; DE VRIES et al., 1988; BARROS, 1992; LINO et al., 1997).

Justicia pectoralis foi descrita como tendo um largo número de ações, como exemplo, antiinflamatória (MILLS et al., 1986; LINO et al., 1997), antimicrobiana (CHARIANDY et al., 1999), broncodilatadora e expectorante (LEAL et al., 2000) e sedativa (PARRA et al., 2001; MONTERO et al., 2008). Também se verificou a sua utilização na ansiedade, como tranqüilizante (CHANFRAU et al., 2008).



Fonte: <http://picasaweb.google.com/lh/photo/uz7CsamRRms4n8lOVvHQyQ>

FIGURA 1.2 - *Justicia pectoralis* Jacq. var *stenophylla* Leonard

1.5 Ansiedade

A ansiedade consiste em um estado de tensão ou apreensão cujas causas não são necessariamente produtoras de medo, mas sim da expectativa de alguma coisa (nem sempre ruim) que acontecerá num futuro próximo. São reações normais até o momento em que começam a provocar sofrimento no indivíduo (LENT, 2004). Há vários tipos de ansiedade, sendo os mais comuns: distúrbios do pânico, transtorno do estresse pós-traumático e as fobias (GARAKANI et al., 2006).

O distúrbio do pânico ainda é pouco diagnosticado. Estudos internacionais (STOPPE, CORDAS, 2001) demonstram uma taxa de prevalência de 0,5% a 2% ao longo da vida. É uma síndrome na qual o indivíduo apresenta ataques abruptos, recorrentes e inexplicáveis, de rápida duração (10-15 minutos). Os sintomas são: palpitações, tremores, suor frio, angústia e medo da morte. O transtorno do estresse pós-traumático é um distúrbio potencialmente debilitante causado por experiência traumática ou de testemunho, na qual a vida do indivíduo ou de outra pessoa esteja profundamente ameaçada, e experiências intensas de medo e horror. Tipicamente, os pacientes revivem o evento traumático (flashbacks) após contato ou lembranças com algum fator envolvido com o evento e experimentam uma intensa reatividade (ex. hipervigilância, irritabilidade e insônia) (VENÂNCIO et al., 2008).

Fobia, mais comum das alterações psiquiátricas, foi previamente classificada como fobia social, atualmente conhecida por desordem da ansiedade social, consiste no medo da auto-reação em resposta a reprovação da sociedade ou familiares frente a alguma situação, ou seja, é o medo de demonstrar os sintomas da ansiedade quando exposto a pessoas ou ambiente não-familiares. O indivíduo evita a interação social e os momentos em que deve expressar opinião ou força. (VENÂNCIO et al., 2008).

Os transtornos de ansiedade foram tratados durante muito tempo com vários medicamentos dos quais pouco se conhecia sobre o mecanismo de ação (KENT et al., 2002). Esses transtornos são síndromes definidas por grupos de sinais e sintomas relacionados e,

portanto, as intervenções terapêuticas para todos esses tipos de ansiedade são similares (CANNISTRARO et al., 2003).

Nos últimos 45 anos, o tratamento farmacológico de primeira linha dos transtornos de ansiedade consistia nos benzodiazepínicos, exemplificados por drogas como o Diazepam. No entanto, apesar da eficácia clínica, a maioria dos fármacos desta classe apresentam muitos problemas (MITTE et al., 2005), como sedação, relaxamento muscular, amnésia anterógrada e dependência física (RABBANI et al., 2008).

Um agente ansiolítico deve reduzir a ansiedade com pouco ou nenhum efeito sobre as funções motoras ou mentais, por isso, muitas companhias farmacêuticas estão conduzindo estudos para encontrar uma alternativa médica com efeitos ansiolíticos mais específicos.

Em termos biológicos, a ansiedade induz a uma forma particular de inibição comportamental, que ocorre em resposta aos eventos ambientais que são novos, não-recompensadores (em condições em que a recompensa é esperada) ou à punição. Em animais, essa inibição comportamental pode ser observada pela redução da mobilidade ou supressão de uma resposta comportamental, tal como pressionar uma alavanca para obter comida.

1.6 Depressão

A Organização Mundial de Saúde prediz que a depressão será a segunda maior causa de incapacidade e inaptidão em países desenvolvidos e em desenvolvimento no ano de 2020 (KIM, 2007; MAO et al., 2008). Os sintomas da depressão incluem apatia, irritabilidade, dificuldade de concentração, anormalidades no apetite e sono (sintomas neurovegetativos) (NESTLER et al., 2002). Está associado com suicídio, desenvolvimento de distúrbios coronários e diabetes tipo 2 (KNOL et al., 2006), dessa forma, a depressão prejudica o prognóstico de muitas outras condições médicas (EVANS et al., 2005; GILDENGERS et al., 2008).

A explicação para o reduzido prognóstico da depressão e seu considerável impacto está correlacionado com o conhecimento rudimentar da sua fisiopatologia, comparado com outras doenças crônicas e potencialmente fatais (KRISHNAN, NESTLER, 2008). Há muitas explicações para essa discrepância. Em primeiro lugar, as alterações no cérebro são muito mais difíceis de serem observadas do que as alterações em outros organismos. Técnicas válidas para avaliar aberrações no circuito cerebral dependem de estudos post-mortem, no qual possuem numerosas limitações, ou técnicas de neuroimagem, na qual detectam alterações na atividade neuronal usando marcadores indiretos para ativação (PHELPS, LeDOUX, 2005). Embora as pesquisas tenham revelado importantes regiões envolvidas, o aumento ou redução da atividade em regiões cerebrais são probabilidades insuficientes para explicar os complexos sintomas causados pela depressão.

Segundo, a maioria dos casos de depressão ocorrem idiopaticamente, e o conhecimento limitado de sua etiologia é refletido como uma lista de vários fatores de risco, como eventos estressantes, anormalidades endócrinas (ex. hipotireoidismo), câncer e efeito de algumas drogas (DREVETS, 2001).

O diagnóstico oficial da depressão é subjetivo e baseia-se na documentação de um certo número de sintomas. Baseado nesses sintomas há vários tipos de antidepressivos utilizados na prática clínica, como os antidepressivos tricíclicos (TCA), inibidores da monoamino oxidase (IMAO), inibidores seletivos da recaptação de serotonina, dentre outros.

Em animais, não há condição conhecida que corresponda à condição inata da depressão em seres humanos, mas vários procedimentos foram descritos, que produzem em animais estados comportamentais (retirada da interação social, perda de apetite, atividade motora reduzida, estresse, situações inescapáveis, entre outros), típicos da depressão humana (PORSOLT et al., 1987).

1.7 Epilepsia

Epilepsia é o mais freqüente distúrbio neurológico, atingindo 50 milhões de pessoas no mundo, 40 milhões delas em países desenvolvidos. Pessoas de todas as raças, sexos, condições socioeconômicas e regiões são acometidas (SCOTT , 2001). Elas podem sofrer conseqüências profundas, inclusive morte súbita, ferimentos, problemas psicológicos e transtornos mentais. (MARCHETTI, DAMASCENO, 2000). Também à epilepsia se associam problemas sociais e econômicos. Pode ser considerado um problema significativo de saúde pública (GOMES, 1994; 1997). Em recente estudo epidemiológico, foi encontrado 29% de prevalência de depressão em pacientes com epilepsia (BLUM, 2002).

O impacto econômico da epilepsia se tornou um assunto importante em anos recentes. Várias das drogas antiepilépticas tem um custo mais de 100 vezes ao do fenobarbital, fármaco muito utilizado em crises. Custos indiretos, como morbidade, benefícios, mortalidade excessiva, dias de trabalho perdidos, desemprego, assim como custos relacionados ao tratamento são muito significativos.

Crises convulsivas, por definição, são descargas sincrônicas, de grande intensidade, paroxísticas e excessivas de um grupo de neurônios (MELDRUM, CHAPMAN, 1999). Estas podem ser classificadas clinicamente em duas categorias: parciais e generalizadas. A efetividade do tratamento anticonvulsivante depende do tipo de convulsão. As crises do tipo parcial originam-se em um grupo pequeno de neurônios que constituem o foco da convulsão. Desta forma, a sintomatologia depende da localização do foco no cérebro. Estas crises podem ser do tipo parcial simples (sem alterações na consciência) ou parcial complexa (com alterações na consciência). As crises podem ter início focal e posteriormente generalizarem (envolverem o cérebro como um todo), sendo nestes casos chamadas crises parciais complexas. As crises generalizadas são aquelas em que há o envolvimento, desde o início, de ambos hemisférios cerebrais (ENGEL, 2001).

As crises convulsivas podem se desenvolver com graus diferentes de envolvimento muscular. O evento motor consiste em aumento ou redução da contração muscular. O aumento da contração muscular pode ser do tipo tônico (significando contração muscular mantida durante segundos ou minutos), clônico (contrações musculares, seguidas de relaxamento gerando abalos musculares sucessivos) ou mioclônicos (contrações musculares muito breves, semelhantes a choques). A diminuição da contração muscular caracteriza as mioclonias negativas ou crises atônicas (ENGEL, 2001).

A fisiopatologia da convulsão ainda não está completamente definida. Os modelos de convulsão em animais reproduzem alterações comportamentais e eletroencefalográficas que são semelhantes à crise convulsiva em humanos (BEN-ARI et al., 1980, 1981). Esses modelos são utilizados para estudar o envolvimento dos sistemas de neurotransmissores como moduladores da epileptogênese, como também permitem observar alterações comportamentais, histopatológicas, e outros dados neuroquímicos relacionados ao processo convulsivo (CAVALHEIRO et al., 1994; MARINHO et al., 1997, 1998, COSTA-LOTUFO et al., 2002).

1.8 Sistemas

1.8.1. Sistema Gabaérgico

O ácido γ -aminobutírico (GABA) é o principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central de vertebrados. É sintetizado a partir do L-glutamato, numa reação de descarboxilação catalisada pela enzima glutamato descarboxilase (GAD), enzima encontrada apenas em neurônios que sintetizam este neurotransmissor no cérebro. Após ser sintetizado, o GABA é empacotado dentro de vesículas. Uma vez liberado na fenda sináptica, o GABA liga-se a seu receptor, causando hiperpolarização, devido influxo de Cl^- ou efluxo de K^+ , no neurônio pós-sináptico (**Figura 1.3**).

A remoção do GABA da fenda sináptica é rápida e é realizada pelo transportador de GABA (GAT) em um processo de captação que ocorre dentro do neurônio pré-sináptico. A degradação do GABA ocorre através da reação de transaminação, na qual o grupo amino é transferido para o ácido α -oxoglutárico (produzindo glutamato), com formação de semi-aldeído succinico e, a seguir, ácido succínico. Esta reação é catalisada pela GABA-transaminase (GABA-T).

O GABA atua em dois tipos distintos de receptores: GABA_A e GABA_B. O receptor GABA_A consiste em um canal regulado por ligante, sensível ao cloreto e é antagonizado pela picrotoxina e bicuculina, ambas causando convulsões generalizadas (BORMANN, 1988; SILVILOTTI, NISTRI, 1991). Os receptores GABA_B são acoplados à proteína G e regulam canais de K⁺ que quando ativados reduzem a condutância ao cálcio ou ativam os canais de potássio (BORMANN, 1988; BOWERY, 1993).

Os receptores GABA_A são os de maior importância por possuírem um papel central na regulação da excitabilidade cerebral, através de seus efeitos inibitórios, e, muitas drogas importantes, tais como benzodiazepínicos, apresentam vários efeitos relacionados com este receptor, tais como a sedação e a indução do sono, a redução da ansiedade e da agressão, a redução do tônus muscular e da coordenação, efeito anticonvulsivante, além de amnésia anterógrada. Estes efeitos dos benzodiazepínicos ocorrem através da potencialização da resposta ao GABA por facilitarem a abertura dos canais de cloreto ativados pelo GABA. Eles se ligam de um modo específico em um sítio regulador do receptor, distinto do sítio ligante do GABA, e agem de modo alostérico, aumentando a afinidade do GABA pelo receptor (**Figura 1.4**).

O receptor GABA_A é um canal iônico acionado por ligante, consistindo de um aglomerado pentamérico, construído pela associação de 18 ou mais subunidades diferentes. A subunidade α do complexo pentamérico ocorre em seis isoformas ($\alpha 1$ - $\alpha 6$). Diferentes efeitos benzodiazepínicos podem, assim, estar ligados a diferentes subtipos de receptores de GABA_A, sugerindo a possibilidade de desenvolvimento de novas substâncias com efeitos mais seletivos do que os benzodiazepínicos existentes.

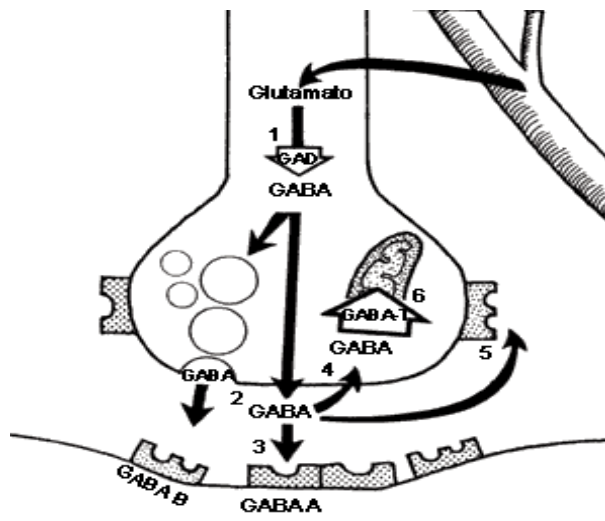


FIGURA 1.3 - Síntese e metabolismo do GABA.

Disponível em: <www.javeriana.edu.co/.../gaba1.gif>

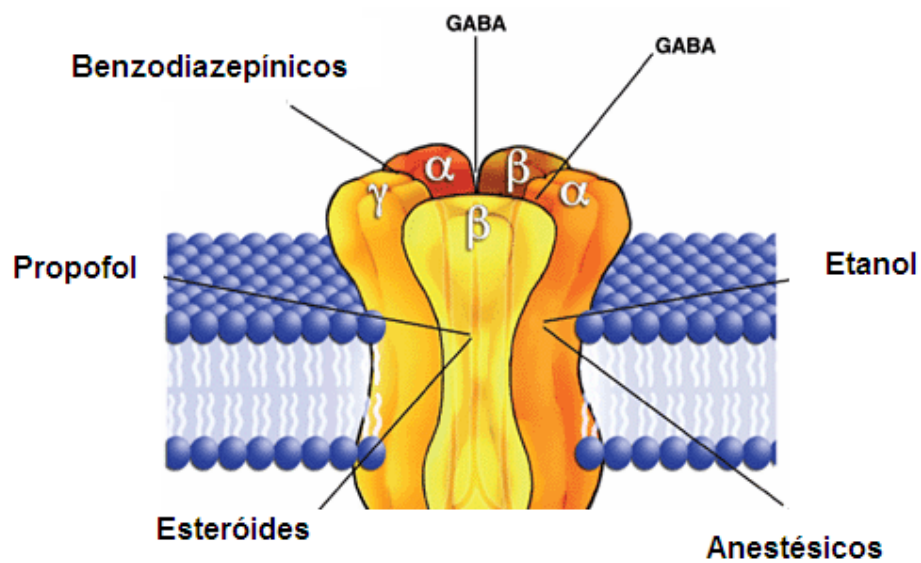


FIGURA 1.4 - Receptor GABA_A.

Adaptado de: <www.niaaa.nih.gov/.../0/gaba_receptor.gif>

1.8.2. Monoaminas

As monoaminas, compostos que possuem apenas um grupamento amina, compreendem a noradrenalina (NA), dopamina (DA) e a serotonina (5-HT).

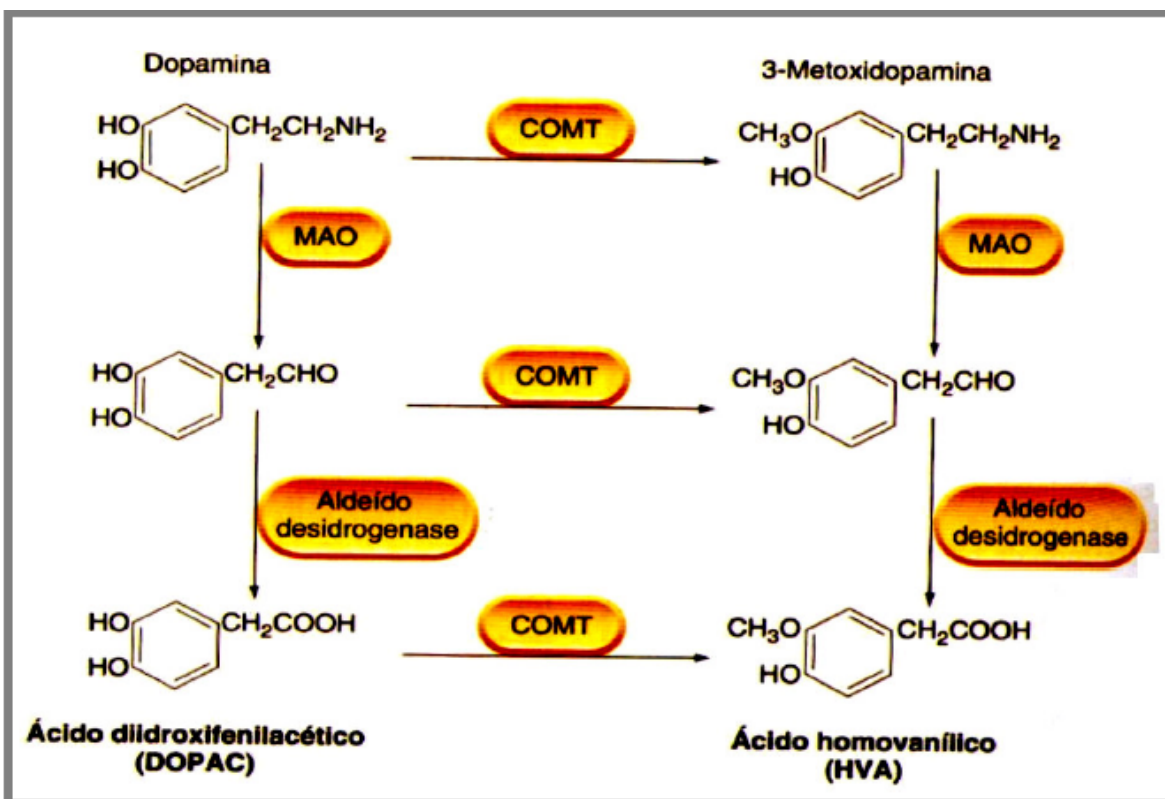
A patogenia da depressão foi, inicialmente, explicada, pela Teoria das Monoaminas, que afirma que a depressão é causada por um déficit funcional das monoaminas transmissoras em certos locais do cérebro, enquanto a mania resulta de um excesso funcional (MANJI et al., 2001). Essa hipótese surgiu após a observação do efeito clínico de vários fármacos que induziam ou aliviavam os sintomas da depressão, principalmente, na década de 50, com a introdução da reserpina para o controle da hipertensão. Observou-se que os pacientes em tratamento para o controle da pressão arterial desenvolveram um quadro de depressão. Estudos farmacológicos subsequentes revelaram que o principal mecanismo de ação da reserpina consistia em inibir o armazenamento dos neurotransmissores amínicos, como a noradrenalina e serotonina, nas vesículas das terminações nervosas pré-sinápticas. (GOODWIN, BUNNEY, 1971).

Apesar da teoria das monoaminas, foi sugerido que a dopamina também participa na depressão (KAPPUR, 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 dopamina extracelular estão diminuídos (ROSSETTI et al., 1993). Além disso, tem sido considerado que a dopamina está envolvida com os efeitos antidepressivos de drogas (JOCA et al., 2000), pois a bupropiona, um inibidor seletivo da recaptção de dopamina, é clinicamente utilizado como antidepressivo (MARTIN et al., 1990; ASCHER et al., 1995).

Dentre as monoaminas, as catecolaminas, substâncias que apresentam um único grupamento amina, um grupo catecol (anel benzeno com dois grupamentos hidroxil adjacentes) e uma cadeia lateral de etilamina ou um de seus derivados (FELDMAN et al., 1997).

A dopamina e noradrenalina possuem a mesma via de síntese, pois são sintetizadas a partir do aminoácido L-tirosina. Duas reações transformam a L-tirosina em dopamina: a primeira é catalisada pela enzima tirosina-hidroxilase (TH) a qual converte L-tirosina em L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA). A tirosina-hidroxilase é considerada a enzima limitante desta via. O segundo passo é a descarboxilação da L-DOPA, catalisada pela enzima DOPA-descarboxilase, a qual produz dopamina (DA), que sofre ação da dopamina β -hidroxilase para tornar-se noradrenalina (NA) (FELDMAN et al., 1997). Esse é o ponto-chave da síntese de dopamina, pois na ausência da enzima dopamina β -hidroxilase nos neurônios dopaminérgicos não há conversão de DA em NA, ocorrendo, assim, o acúmulo de DA nas vesículas sinápticas.

Após serem sintetizadas, as catecolaminas se difundem pela fenda sináptica e podem ser catabolizadas pelas enzimas monoamina oxidase (MAO) e catecol o-metil transferase (COMT) que estão amplamente distribuídas no corpo e no Sistema Nervoso Central (SNC). A MAO está localizada na parte externa da membrana mitocondrial (COSTA, SANDLER, 1972) e pela sua localização intracelular, tem um papel importante na inativação das catecolaminas que estão livres na fenda sináptica. A COMT age nas catecolaminas extraneuronais. Os metabólitos produzidos pela ação dessas enzimas são: ácido diidrofetil acético (DOPAC) e ácido homovalínico (HVA) (**Figura1.5**).



Fonte: Rang et al., 2006

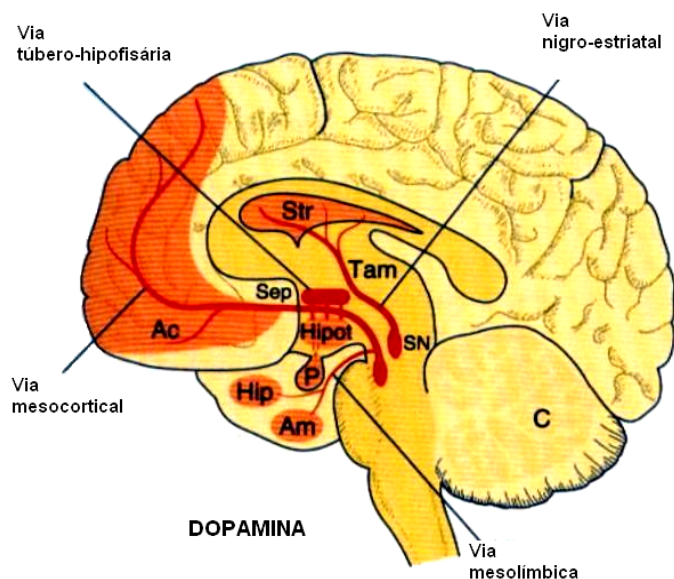
FIGURA 1.5 - Principais vias do metabolismo da dopamina no cérebro

Inicialmente, a dopamina foi considerada apenas um precursor da noradrenalina, mas estudos posteriores demonstraram que a distribuição da dopamina e da noradrenalina é significativamente diferente. Na verdade, mais da metade de catecolaminas presentes no cérebro é de dopamina (MISSALE et al., 1998). A dopamina é de fundamental importância nas funções motora, motivacional e relacionadas à memorização.

Projeções originadas de áreas cerebrais que sintetizam a dopamina se estendem para regiões do mesencéfalo formando quatro vias dopaminérgicas: (1) nigroestriatal; (2) mesolímbica; (3) mesocortical e (4) tuberoinfundibular. (**Figura 1.6**).

O sistema nigroestriatal compreende os neurônios dopaminérgicos que se originam da substância negra *pars compacta* e terminam na região chamada de corpo estriado dorsal. Esta região inclui o núcleo caudado e putamen. A via nigroestriatal esta envolvida no controle dos movimentos e a sua degeneração causa a doença de Parkinson, caracterizada por tremor de repouso, rigidez e bradicinesia (GERFEN, 1992; LANG, LOZANO, 1998a). A via mesocortical tem origem na área tegmentar ventral (ATV) e inerva diferentes regiões do cortex frontal. Esta via parece estar envolvida em alguns aspectos do aprendizado e memória (LE MOAL, SIMON, 1991; FELDMAN et al., 1997).

A via mesolímbica é originada do mesencéfalo na área tegmentar ventral e inerva o estriado ventral (*nucleus accumbens*), o tubérculo olfatório (TO) e parte do sistema límbico (FELDMAN et al., 1997). Esta via está implicada com o comportamento motivacional (KOOB, BLOOM, 1988; KOOB, 1992). A via tuberoinfundibular origina-se das células do núcleo periventricular e arqueado do hipotálamo (FELDMAN et al., 1997). As projeções desta via alcançam a eminência média do hipotálamo onde ocorre liberação de dopamina nos espaços perivasculares do plexo capilar do sistema hipotalâmico-hipofisário. Por esta via a dopamina é transportada para a hipófise anterior onde atua inibindo a liberação de prolactina.



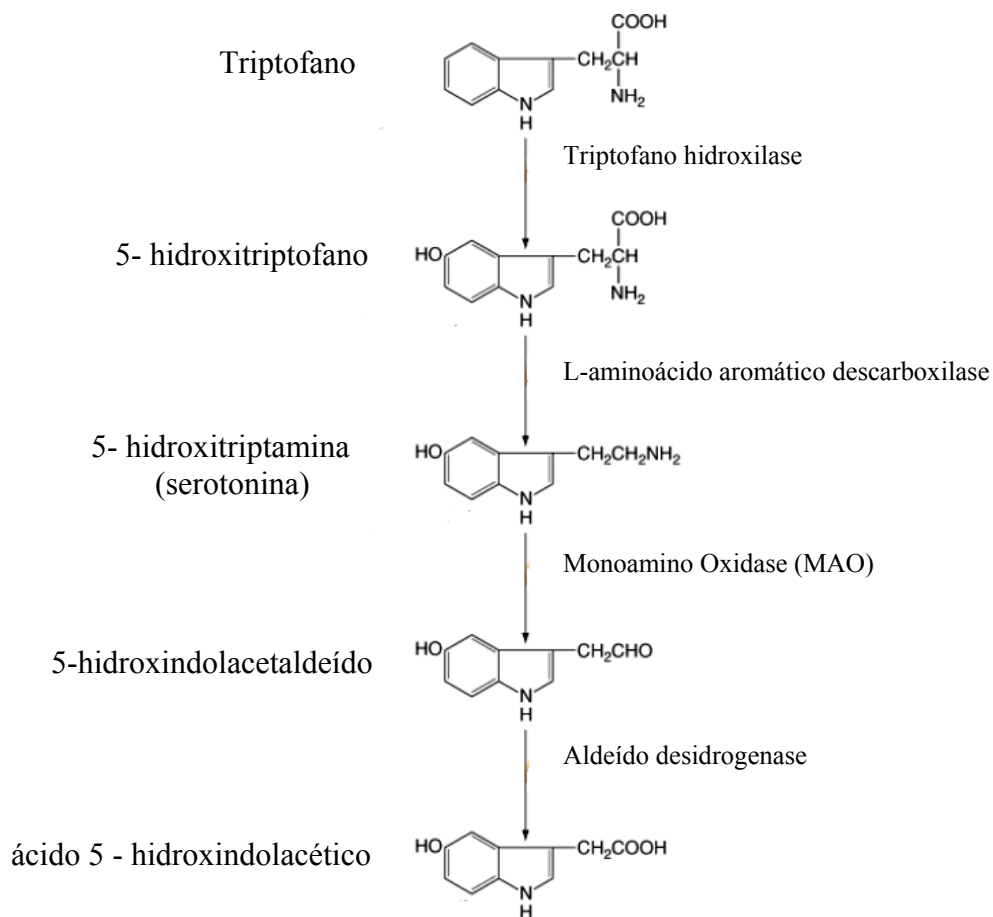
Fonte: Rang et al., 2003

FIGURA 1.6 – Vias dopaminérgicas no cérebro

A alteração no sistema noradrenérgico tem sido implicado em vários distúrbios como transtorno do déficit de atenção e hiperatividade, depressão e ansiedade (TIMMONS et al., 2004). Certos componentes do sistema noradrenérgico podem estar envolvidos com excitação e medo. Assim, a ansiedade e a perda do prazer, características da melancolia e da depressão podem estar relacionadas à desregulação do sistema noradrenérgico (SCHILDKRAUT, 1965; KANDEL et al., 2000; KALIA, 2005; HALES, YUDOFKY, 2006; YUDOFKY, HALES, 2006).

A 5-hidroxitriptamina (5-HT, serotonina) é sintetizada a partir do aminoácido essencial L-triptofano após sua captação do sangue para o cérebro. A fonte primária de triptofano é a dieta. O triptofano é convertido a 5-hidroxitriptofano pela ação da triptofano hidroxilase, etapa limitante da reação. O 5-hidroxitriptofano, por sua vez, é convertido a 5-hidroxitriptamina (serotonina) pela ação da enzima L-aminoácido aromático descarboxilase. Após a síntese, a serotonina é armazenada nos grânulos secretores e liberada dos neurônios serotoninérgicos por exocitose. A principal via de metabolismo da 5-HT envolve a desaminação oxidativa pela MAO, com formação de um intermediário acetaldeído (5-hidroxiindolacetaldeído), que, por fim, é convertido

em ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), pela enzima aldeído desidrogenase (**Figura 1.7**). Como a formação de 5-HIAA é responsável por quase 100% do metabolismo da 5-HT no cérebro, a taxa de renovação da serotonina é estimada a partir e determinar a taxa de elevação do 5-HIAA. A serotonina está envolvida em praticamente todos os comportamentos tais como, o apetite, atividade motora, nocicepção, sexual e humor.



Elsevier, Range et al: Pharmacology 6e – www.studentconsult.com

FIGURA 1.7 - Síntese da 5-hidroxitriptamina (serotonina)

1.9 Correlação das Áreas Cerebrais e Concentrações Neuroquímicas

Várias estruturas cerebrais estão envolvidas na organização do comportamento emocional, tais como córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado. Estas estruturas possuem importante interação anatômica e estão envolvidas em modalidades funcionais interdependentes que coordenam o comportamento emocional e cognitivo.

1.9.1 Córtex Pré-frontal

Evidências clínicas apontam que o córtex pré-frontal é a região cerebral envolvida na disfunção da depressão (DREVETS et al., 1998). Pacientes depressivos submetidos a eletroencefalografia apresentaram uma maior anormalidade nessa região (TUCKER, et al., 1981) e a estimulação intracraniana dessa área promove a melhora do quadro depressivo (GEORGE, 1995).

O córtex pré-frontal é uma estrutura crucial no estabelecimento de processos cognitivos e de decisões, determinados com base no valor do estímulo (GOLDMAN-RAKIC, 1995). O córtex pré-frontal é também ativado em resposta a estímulos ameaçadores (BLISS et al., 1968; THIERRY et al., 1976; WEISS et al., 1981; DEUTCH, ROTH, 1990; TANAKA et al., 1990; INOUE et al., 1993). A ativação metabólica do sistema dopaminérgico no córtex pré-frontal de roedores, em resposta a estímulos aversivos, é um dos correlatos neuroquímicos do estresse mais estudados (DEUTCH, ROTH, 1990). Os corpos celulares dopaminérgicos estão localizados na área tegmental ventral (ATV) no núcleo A10, de onde partem projeções para o córtex (GOLDMAN-RAKIC et al., 1989; VINCENT et al., 1993). O aumento de dopamina no córtex pré-frontal é produzido por uma variedade de estímulos aversivos (THIERRY et al., 1976; FADDA et al., 1978; REINHARD et al., 1982; CLAUSTRE et al., 1986; ROTH et al., 1988) e, estresse (KANEYUKI et al., 1991; GOLDSTEIN et al., 1994, 1996).

A exposição ao estresse também causa um aumento do metabolismo noradrenérgico em várias regiões cerebrais (MAAS et al., 1971; SWEENEY et al., 1978; GLAVIN, 1985; DUNN, 1988; TANAKA et al., 1990). Estes resultados são consistentes com o trabalho de Jacob et al. (1991), na qual a indução do estresse causou aumento da atividade eletrofisiológica nos neurônios do *locus coeruleus*. Investigações anteriores (BLISS, 1968) mostraram que a exposição de ratos a estímulos estressantes incontroláveis, como choque nas patas, resultou na diminuição dos níveis corticais de NA concomitantemente com o aumento dos níveis de seus metabólitos, enquanto que o mesmo estímulo estressante acelerou o metabolismo de DA e 5-HT sem alterar o nível absoluto dessas aminas.

Tem sido relatado que em situações estressantes ocorre aumento no metabolismo cerebral de 5-HT (THIERRY et al., 1968; DUNN, 1988) com um aumento dos níveis de 5-HIAA (YAMASHITA, 1993), embora esses achados não sejam relatados em todos os estudos (KANEYUKI et al., 1991). Esta condição, portanto, pode ser decorrente de maior atividade neuronal serotonérgica com conseqüente redução de 5-HT.

1.9.2 Hipocampo

O hipocampo possui importantes conexões com o tálamo, hipotálamo e córtex entorrinal. Estas conexões lhe permitem atuar como conferidor das informações sensoriais provenientes do córtex entorrinal, e confrontá-las com as predições geradas no sistema límbico, que, por sua vez, integra informações de outras partes do cérebro, incluindo o córtex pré-frontal. Quando há incompatibilidade entre os eventos ambientais e o que está armazenado, o hipocampo passa a funcionar como modalidade controle, que gera inibição comportamental, acompanhada por aumento de atenção ao meio e do aumento da vigilância aos estímulos potencialmente perigosos (McNAUGHTON, GRAY, 2000; BRANDÃO, 2001). Esta função hipocampal é de grande importância em situações em que se estabelece o conflito entre evitar o estímulo potencialmente perigoso e aproximar-se dele (McNAUGHTON, GRAY, 2000).

Os mecanismos serotoninérgicos do hipocampo são importantes no processo de informação aversiva (GRAEFF, 1997; DEAKIN et al., 1992; GOLDSTEIN et al., 1996). O efeito amnésico causado por lesões hipocámpais é bem documentado, levando a numerosas teorias de função hipocámpal sobre memória, contudo, esses danos podem resultar em desinibição comportamental e redução da ansiedade. Um número crescente de estudos sugere que esses efeitos comportamentais diversificados devem ser associados a diferentes subregiões hipocámpais. O hipocampo dorsal tem papel preferencial em certas formas de aprendizagem e memória, notavelmente aprendizagem espacial, enquanto o hipocampo ventral exerce atividade em processos cerebrais associados à ansiedade (BANNERMAN et al., 2004).

1.9.3 Corpo Estriado

O corpo estriado é uma estrutura onde estímulos com valores afetivos e emocionais interagem com áreas motoras (MOGENSON et al., 1980; PENNARTZ et al., 1994). O corpo estriado é considerado uma importante área de produção de respostas emocionais, contudo, mudanças no seu conteúdo monoaminérgico podem implicar em várias desordens cerebrais, incluindo a ansiedade (SESACK, PICKEL, 1992).

O corpo estriado funciona como uma interface entre os sistemas motivacional e motor, de modo a servir de canal por onde o estímulo com valor afetivo e emocional acessa as vias eferentes motoras (MOGENSON et al., 1980; PENNARTZ et al., 1994).

Sabe-se que a exposição a um estresse moderado ativa o sistema dopaminérgico no córtex pré-frontal enquanto não afeta o metabolismo dopaminérgico no estriado. Por outro lado, a exposição a um estresse mais intenso resulta em um recrutamento do sistema dopaminérgico mesolímbico que inerva o corpo estriado (ROTH et al., 1988; GOLDSTEIN et al., 1996). O córtex pré-frontal e corpo estriado estão, portanto, conectados anatômica e funcionalmente. A regulação cognitiva que o córtex pré-frontal exerce sobre a reatividade emocional organizada no corpo estriado é uma evidência importante nesse sentido (GOLDSTEIN et al., 1996).

1.10 Relevância e Justificativa

Produtos naturais constituem uma importante fonte de pesquisa visando a descoberta de novas substâncias com atividades farmacológicas. Plantas com atividades psicoativas exercem importantes efeitos sobre a consciência, as emoções e a cognição e, devido a esses efeitos, tem sido utilizadas há bastante tempo com finalidades terapêuticas, espirituais e recreacional. A investigação farmacológica de produtos naturais que apresentam atividade sobre o sistema nervoso central (SNC) tem auxiliado a compreensão das bases neuroquímicas de muitas doenças. Extratos vegetais e produtos isolados exercem suas ações através de interações com moléculas endógenas transdutoras de sinal.

O chambá, um extrato padronizado das partes aéreas da *Justicia pectoralis* var *stenophylla* Leonard, possui como principais constituintes a cumarina e um de seus derivados, a umbeliferona, e apresentou várias propriedades farmacológicas, como anti-inflamatória, antimicrobiana, broncodilatadora e expectorante, mostrando ser uma substância biologicamente ativa. Por apresentar cumarina em sua constituição, onde sua atuação no SNC já é conhecida, suspeita-se que o extrato de *Justicia pectoralis*, também exerça atividade central, o que é reforçada pelo uso popular em situações de ansiedade e estresse (PARRA, 2001; CHANFRAU, 2008; MONTERO, 2008).

Levando em consideração o uso popular, tornou-se de extrema relevância estudar os efeitos do chambá sobre o SNC, em vários modelos animais de comportamento com a finalidade de verificar seus efeitos na ansiedade, depressão, atividade locomotora, além de possível atividade anticonvulsivante e hipnótica.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo principal do estudo foi avaliar as ações do extrato padronizado de *Justicia pectoralis* var *stenophylla* Leonard (chambá) no sistema nervoso central, através da análise das alterações comportamentais em diferentes modelos, já padronizados, de depressão, ansiedade, convulsão e sedação em camundongos, e das alterações neuroquímicas em três áreas importantes na ação da droga, córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado. Desta forma, acreditamos contribuir para o conhecimento farmacológico das propriedades terapêuticas desta espécie, visando melhor caracterizar suas atividades.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a atividade ansiolítica do chambá nos modelos de labirinto em cruz elevado e claro/escuro;
- Avaliar a atividade motora do chambá nos modelos de campo abeto e rota rod;
- Avaliar a atividade antidepressiva do chambá nos modelos de nado forçado, suspensão da cauda;
- Avaliar a atividade sedativa/hipnótica do chambá no modelo de tempo de sono induzido por pentobarbital;
- Avaliar a atividade anticonvulsivante do chambá no modelo de convulsão induzido por pentilenotetrazol (PTZ);

- Avaliar a participação dos receptores GABA_A/Benzodiazepínicos, no mecanismo de ação ansiolítico do chambá;
- Avaliar a atividade do chambá sobre as concentrações das monoaminas biógenas.

MATERIAIS E MÉTODOS

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados camundongos albinos (*Mus musculus*) variedade *Swiss*, adultos, do sexo masculino, pesando entre 25-30g, provenientes do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia e do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará, mantidos em caixas de propileno 26 ± 2 oC, com ciclos claro/escuro de 12 em 12 horas, recebendo ração padrão (Purina Chow) e água “*ad libitum*”. Os animais foram colocados em jejum de sólidos de 5 horas, antes da realização de cada experimento em que a via oral foi utilizada para a absorção das substâncias. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal do Ceará, sob o protocolo número 14/09.

3.2 Drogas

Drogas/Reagentes	Origem
Água Destilada	Deionizador
Álcool etílico P.A.	Quimex, Brasil
Diazepam	União Química Brasil
Flumazenil	Sigma
Imipramina	Imipra®, Cristália
Pentilenotetrazol	Sigma
Pentobarbital	Abbot

3.2.1 Preparo das Drogas

Material Vegetal

A parte aérea de *Justicia pectoralis* foi coletada no Horto de Plantas Medicinais do Núcleo de Fitoterapia (NUFITO), que faz parte do Núcleo de Assistência Farmacêutica (NUASF) da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará (SESA). Exsiccatas (números 16071 e 16079) da espécie estão depositadas no Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará. A retirada foi feita manualmente, sendo, então, lavada em água corrente, seguida de água destilada. Após a pesquisa de materiais estanhos, a matéria-prima vegetal foi posta para secar.

Obtenção da droga vegetal

A parte aérea do chambá foi submetida à secagem em estufa com circulação forçada de ar continua (Lawes, Brasil) sob temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Após a secagem, a cominuição do material obtido foi feito em siladeira, utilizando-se a malha fina. O monitoramento do teor de umidade da droga vegetal foi realizado em determinador de umidade de infravermelho (Marte), utilizando-se em torno de 3g da planta sob aquecimento de 105°C por 1h (OLIVEIRA et al., 2001).

Preparação da solução extrativa

O extrato foi preparado por percolação, com maceração prévia por 24h utilizando solução hidroalcoólica a 20%, utilizando-se a proporção de 15mL de extrato para cada 1g de droga vegetal. A solução extrativa foi então concentrada em estufa com circulação forçada de ar para eliminar o teor alcoólico e aumentar o teor de sólidos, o que correspondeu a uma redução de 75% do volume inicial.

Determinação do teor de marcadores/princípios ativos

A amostra foi diluída em fase móvel na proporção 1:5 e filtrada em unidade filtrante 0,45 μ m (Millipore, EUA). Para o doseamento, empregou-se um sistema cromatográfico Alliance (Waters, EUA) acoplado a um detector de arranjo de diodos (CLAE – DAD), sob as seguintes condições: coluna C18, fase móvel (A: AcN/MeOH/THF; B: H₂PO₄/Et₃N, pH 3), eluição gradiente, fluxo 1,8mL/min e $\lambda=323$ nm (FONSECA et al., 2007). A quantificação dos dois principais constituintes (cumarina e umbeliferona) foi realizada através de suas curvas de calibração, obtidas pr injeção de padrão externo. A análise cromatográfica foi realizada em triplicata. A análise do extrato em HPLC-PDA permitiu detecção e quantificação de cumarina (rt = 4.8 min; 0,69 \pm 0,007 mg/mL extrato) e umbeliferona (rt = 5.9 min; 0,13 \pm 0,006 mg/mL extrato).

O extrato padronizado da *Justicia pectoralis* foi diluído em água destilada, obtendo-se a concentração final de 5, 10 e 20 mg/mL para ser administrado nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg, respectivamente, por via oral (v.o.). Os grupos controle receberam veículo (água destilada). As drogas utilizadas ao longo dos experimentos tais como diazepam (1 e 2 mg/Kg), imipramina (10 e 30 mg/Kg), pentobarbital sódico (40 mg/Kg), pentilenotetrazol (80 mg/Kg) e flumazenil (2,5 mg/Kg) foram dissolvidas e diluídas diretamente em água destilada. O volume total de solução administrada, por via oral e intraperitoneal, foi de 10 mL/Kg.

3.2.2 Tratamento do grupo experimental

Os animais foram tratados com Chambá, de forma aguda, nas doses de 50, 100 e 200 mg/Kg através da via oral (v.o.). Os animais foram submetidos aos testes 60 minutos após os tratamentos. Para a avaliação da atividade antidepressiva, foi utilizada imipramina 10 e 30 mg/Kg (i.p.) nos testes do nado forçado e suspensão da cauda, respectivamente, como padrão positivo. Como referência ansiolítica foi utilizado diazepam 1mg/Kg (i.p.) nos testes do labirinto em cruz

elevado e claro/escuro, e diazepam 2mg/Kg (i.p.) no campo aberto. Diazepam 2 mg/Kg (i.p.) foi utilizado, também, no modelo rota rod, como padrão para atividade relaxante muscular, assim como Diazepam 1 mg/Kg foi utilizado nos modelos de tempo de sono induzido por pentobarbital e convulsão induzida por pentilenotetrazol como padrão para a atividade sedativa e anticonvulsivante, respectivamente.

3.2.3 Protocolo Experimental

Antes dos experimentos, os animais foram colocados em ambiente fechado, desprovido de barulho externo, com a temperatura constante ($24 \pm 1^\circ \text{C}$) e iluminação de baixa intensidade (lâmpada vermelha de 15 W), de modo que se adaptassem com o ambiente do experimento. Os testes do campo aberto e rota rod foram realizados com os mesmos grupos de animais da maneira descrita a seguir: primeiramente os animais, um por vez, foram colocados no campo aberto onde foram avaliados durante 5 minutos e, em seguida, foram transferidos para o rota *rod* onde a atividade foi observada por 1 minuto. Os outros testes comportamentais, como labirinto em cruz elevado, claro/escuro, nado forçado, suspensão da cauda, tempo de sono induzido por pentobarbital e convulsão induzida por pentilenotetrazol foram realizados com diferentes grupos de animais. Em todos os testes, com exceção, apenas, do nado forçado e suspensão da cauda, após cada observação animal, foi utilizado álcool 70% para remoção de resíduos e odor do animal.

3.3 Equipamentos

Equipamentos	Origem
Balança Analítica	Modelo H5, Mettler, Suíça
Balança para animais	Filizola, Brasil
Campo Aberto	Fabricado no próprio laboratório
Cronômetro	Incoterm, Brasil
Deionizador	USF, Elga, USA
Equipamento do Claro/Escuro	Fabricado no próprio laboratório
Equipamento do Rota Rod	Ugo Basile, Italy
Labirinto em cruz elevado	Fabricado no departamento
Pipetas Automáticas	H.E., Dinamarca
Recipiente do Nado Forçado	Fabricado no próprio laboratório
Sonicador	Modelo PT 10-35. Brinkmann Instruments Inc., USA
Vidrarias	Pirex, Brasil
Bomba para HPLC	LC – 10AD Shimadzu Corp., Japan
Agitador de tubos	Modelo 251, FANEN, SP, Brasil
Centrífuga refrigerada	Modelo Marathon 26 KMR, Fisher Scientific
Degaseificador	DGU-2 ^a
Detector eletroquímico	L-ECD-6 ^a , Shimadzu Corp., Japan
Equipamento de Millipore para filtração à vácuo	Millipore Apparatus, Bedford, MA, USA
Freezer a -70°C	Modelo ULT 2586-3D14, Revco Scientific, Inc. Asheville, N.C. USA
Homogeneizadores manuais	Bellico, USA

3.4 Avaliação da Atividade Ansiolítica

3.4.1 Teste do Labirinto em Cruz Elevado

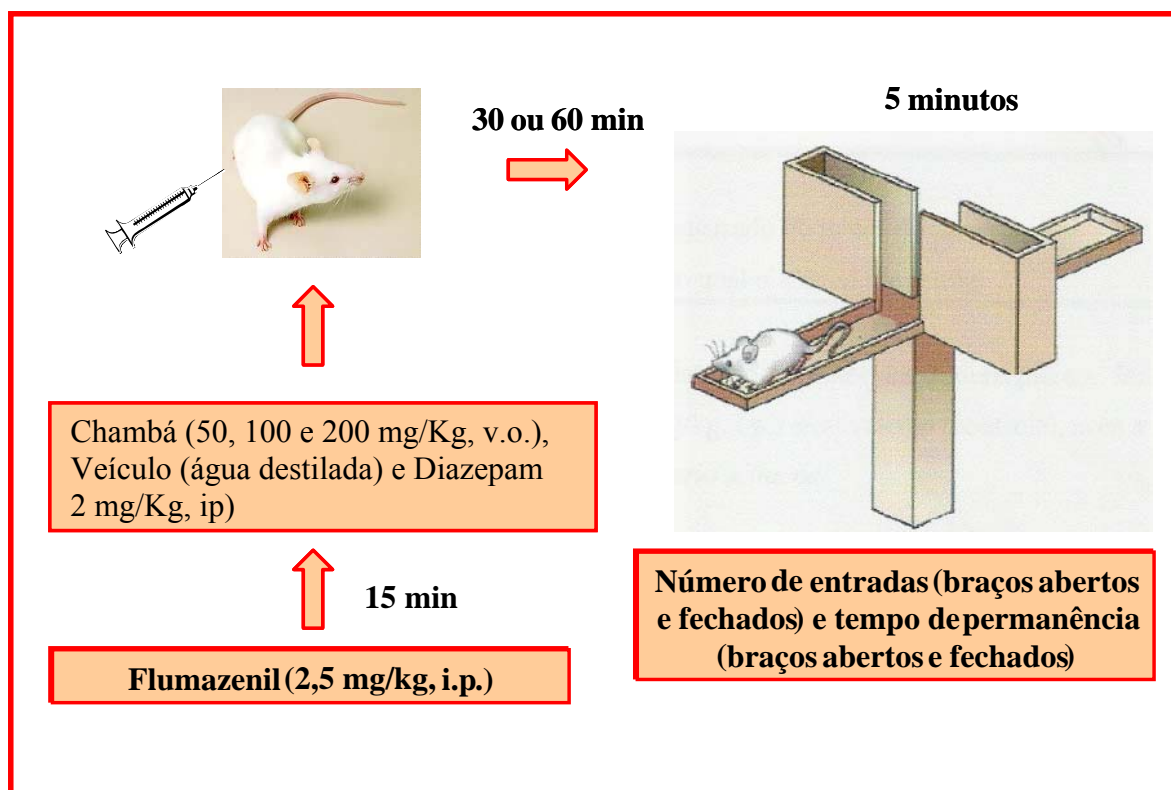
Os camundongos foram divididos em 5 grupos de animais, onde foram tratados com veículo (água destilada, v.o.), chambá (50, 100 e 200 mg/Kg, v.o.) e diazepam (1mg/Kg, i.p.). Este modelo (LISTER, 1987) consiste de dois braços abertos opostos (30 x 5 cm) e dois fechados (30 x 5 x 25cm), também opostos, em forma de cruz, conectados por uma plataforma central (5 x 5cm). A plataforma e as paredes laterais dos braços fechados são confeccionadas em acrílico transparente e o chão em acrílico preto. O aparelho está elevado a uma altura de 45 cm do nível do chão. Após 30 ou 60 minutos dos tratamentos i.p. ou v.o., respectivamente, os animais foram colocados no centro do aparelho com a cabeça voltada para um dos braços fechados e o seu comportamento foi observado por 5 minutos. As medidas comportamentais observadas foram: número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos e fechados, respectivamente.

A frequência total de entradas é obtida pela soma simples das frequências de entradas nos braços abertos e fechados. Para análise estatística dos dados e confecção dos gráficos, a percentagem de entradas nos braços abertos é calculada dividindo-se a frequência de entradas nos braços abertos pela frequência total de entradas, e esse índice multiplicado por 100. De maneira semelhante é calculada a percentagem de tempo em que os animais permanecem nos braços abertos. Dessa forma, os parâmetros utilizados para a análise estatística foram: número de entradas no braço aberto (NEBA), tempo de permanência no braço aberto (TPBA), percentagem de entrada nos braços abertos (PEBA) e percentagem de tempo nos braços abertos (PTBA). Para análise estatística, todos os grupos foram comparados ao grupo controle.

Posteriormente, com a finalidade de investigar o mecanismo de ação do Chambá, foram feitos três grupos, sendo o primeiro grupo composto por camundongos tratados com Flumazenil (FLU) 2,5 mg/Kg, i.p., um antagonista do receptor GABAA/ Benzodiazepínico, e 15 min depois tratados com veículo (água destilada) por via oral (FLU - 2,5 + veículo). Ao segundo grupo, foi

administrado Flumazenil e, 15 min depois Chambá 200 mg/Kg, v.o. (FLU-2,5 + CH-200). Ao terceiro grupo, foi administrado Flumazenil e, 15 minutos depois Diazepam 1 mg/Kg, i.p. (FLU-2,5 + DZP-1). Os dois primeiros grupos experimentais foram conduzidos ao labirinto 60 min depois da administração do veículo e CH-200, com exceção do terceiro grupo que foi conduzido ao labirinto após 30 minutos da administração do Diazepam . Para análise estatística, o grupo (FLU-2,5 + CH-200) foi comparado ao grupo CH-200, enquanto o grupo (FLU-2,5 + DZP-1) foi comparado ao grupo Diazepam. Já o grupo (FLU-2,5 + veículo) foi comparado ao grupo controle.

QUADRO 3.1 – Esquema do Teste Labirinto em Cruz Elevado

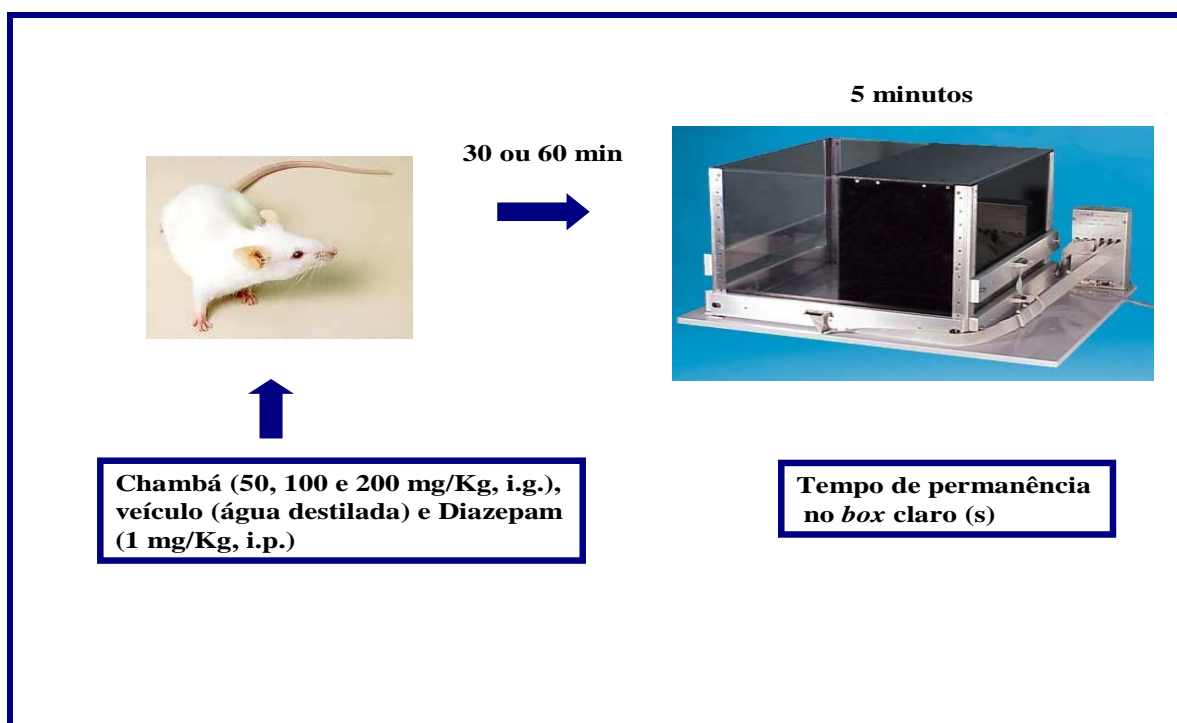


3.4.2 Teste do Claro/Escuro

Os animais foram divididos em 5 grupos onde foram tratados com veículo (água destilada), chambá (50, 100 e 200 mg/Kg, ig.) e diazepam (1mg/Kg, i.p.). Após 30 ou 60 minutos dos tratamentos i.p. ou v.o., respectivamente, os animais foram colocados, um por vez, no equipamento abaixo descrito.

O aparato usado é feito de acrílico dividido em 2 compartimentos (*box* claro e *box* escuro) que se comunicam por meio de uma pequena porta (CRAWLEY, GOODWIN, 1981). O *box* escuro (acrílico preto, 27x18x29 cm) é pobremente iluminado. O *box* claro (acrílico transparente, 27x18x29 cm) é iluminado pela luz do ambiente. O animal é observado por 5 minutos e após cada teste o equipamento foi limpo com solução de etanol 70%. O parâmetro utilizado foi o tempo de permanência no *box* claro. Unidade de tempo: segundos.

QUADRO 3.2 – Esquema do teste Claro/Escuro

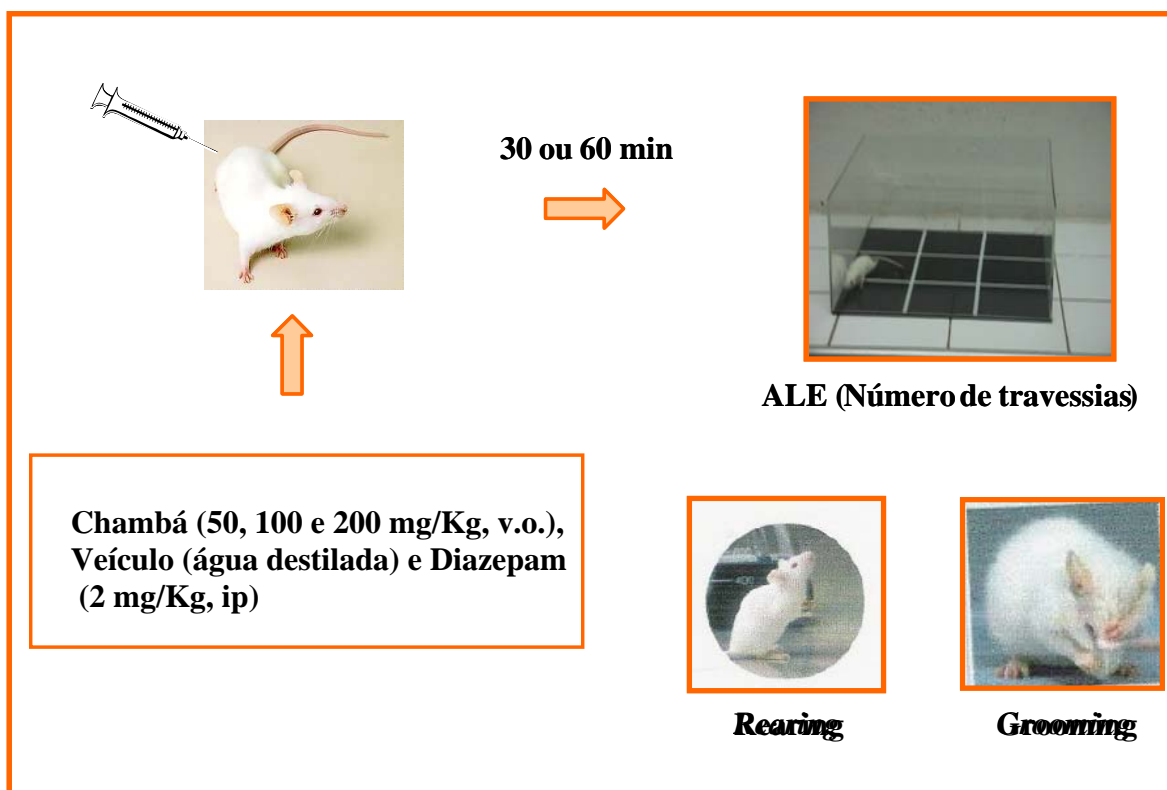


3.5 Avaliação da Atividade Locomotora

3.5.1 Teste do Campo Aberto

Os camundongos foram divididos em 5 grupos de animais, onde foram tratados com veículo (água destilada), Chambá (50, 100 e 200 mg/Kg, v.o.) e diazepam (2 mg/Kg, i.p.). A atividade motora dos animais foi verificada por meio de um campo aberto feito de acrílico (paredes transparentes e piso preto, 30 x 30 x 15 cm) e dividido em 9 quadrantes iguais, baseado no modelo descrito por Archer (1973). Após 30 ou 60 minutos dos tratamentos i.p. ou v.o., respectivamente, os animais, um por vez, foram colocados no centro do campo aberto onde o número de cruzamentos com as quatro patas (atividade locomotora espontânea; ALE), número de comportamento de autolimpeza (*grooming*) e o número de levantamentos (*rearing*), sem encostar-se à parede, foram observados durante o tempo de 5 minutos.

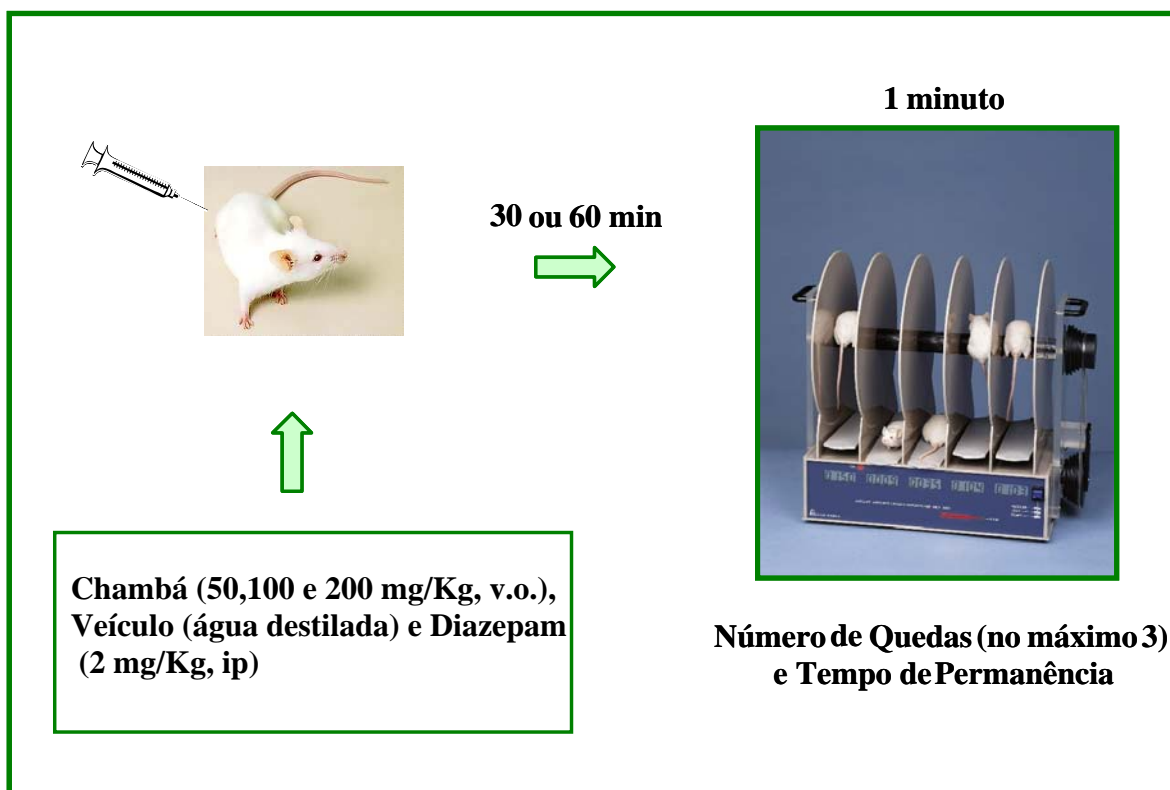
QUADRO 3.3 – Esquema do Teste do Campo Aberto



3.5.2 Teste do Rota *rod*

O teste do rota *rod* mede o efeito do relaxamento muscular ou incoordenação motora produzidos por drogas nos animais (CARLINI, BURGOS, 1979). Para este teste, os camundongos foram divididos em 5 grupos e colocados com as quatro patas sobre uma barra de 2,5cm de diâmetro, elevada a 25 cm do piso, em uma rotação de 12 rpm, por um período de 1 minuto. Foram registrados o tempo de permanência na barra giratória, em segundos (s), e o número de quedas, com três reconduções, no máximo (DUNHAM, MIYA, 1957).

QUADRO 3.4 – Esquema do Teste do Rota *rod*



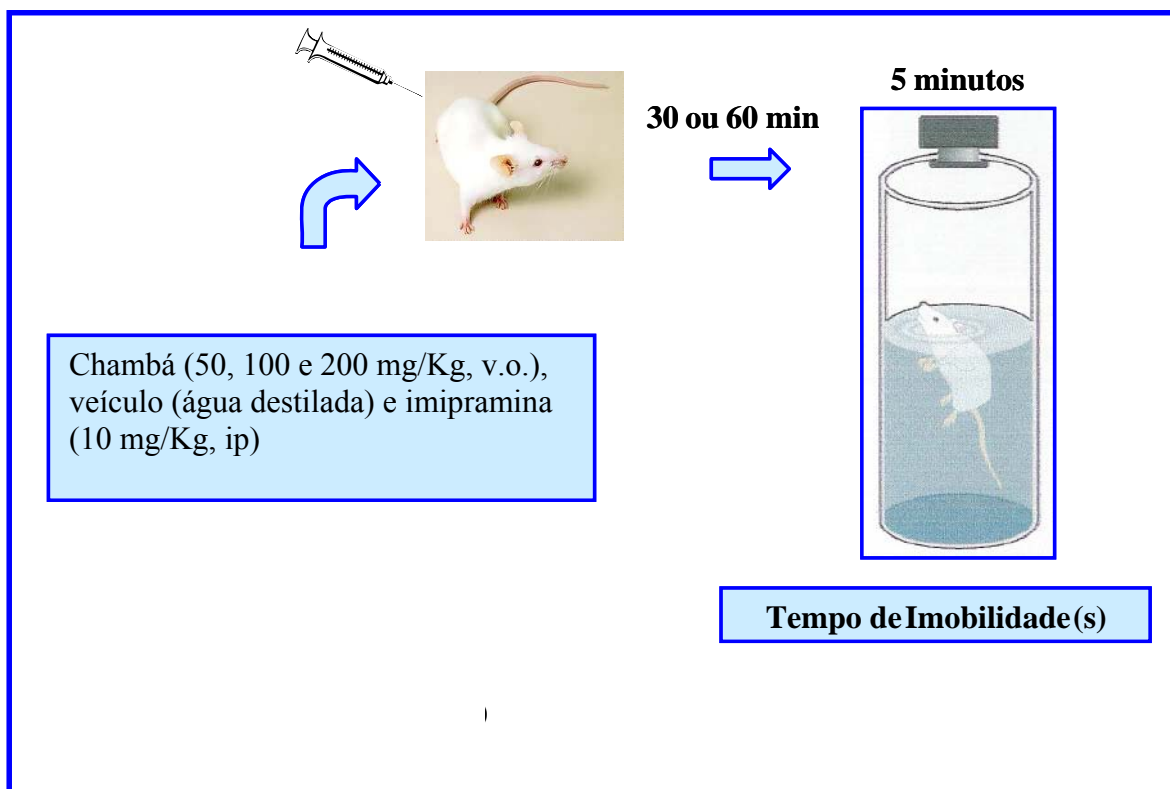
3.6 Avaliação da Atividade Antidepressiva

3.6.1 Teste do Nado Forçado

Para este experimento (PORSOLT, et al., 1987) foram utilizados tanques de 22 cm de diâmetro e 40 cm de altura contendo água fresca a $23 \pm 1^\circ \text{C}$ até a metade do tanque. Os camundongos foram divididos em 5 grupos de animais, onde foram tratados com veículo (água destilada), Chambá (50, 100 e 200 mg/Kg, v.o.), imipramina (10 mg/Kg, i.p.).

Após 30 ou 60 minutos dos tratamentos i.p. ou v.o., respectivamente, os animais foram colocados, um por vez, no tanque onde o tempo de imobilidade, em segundos, foi registrado durante cinco minutos. O animal foi considerado imóvel quando permaneceu flutuando na água, fazendo apenas movimentos suaves necessários para manter a cabeça acima da água.

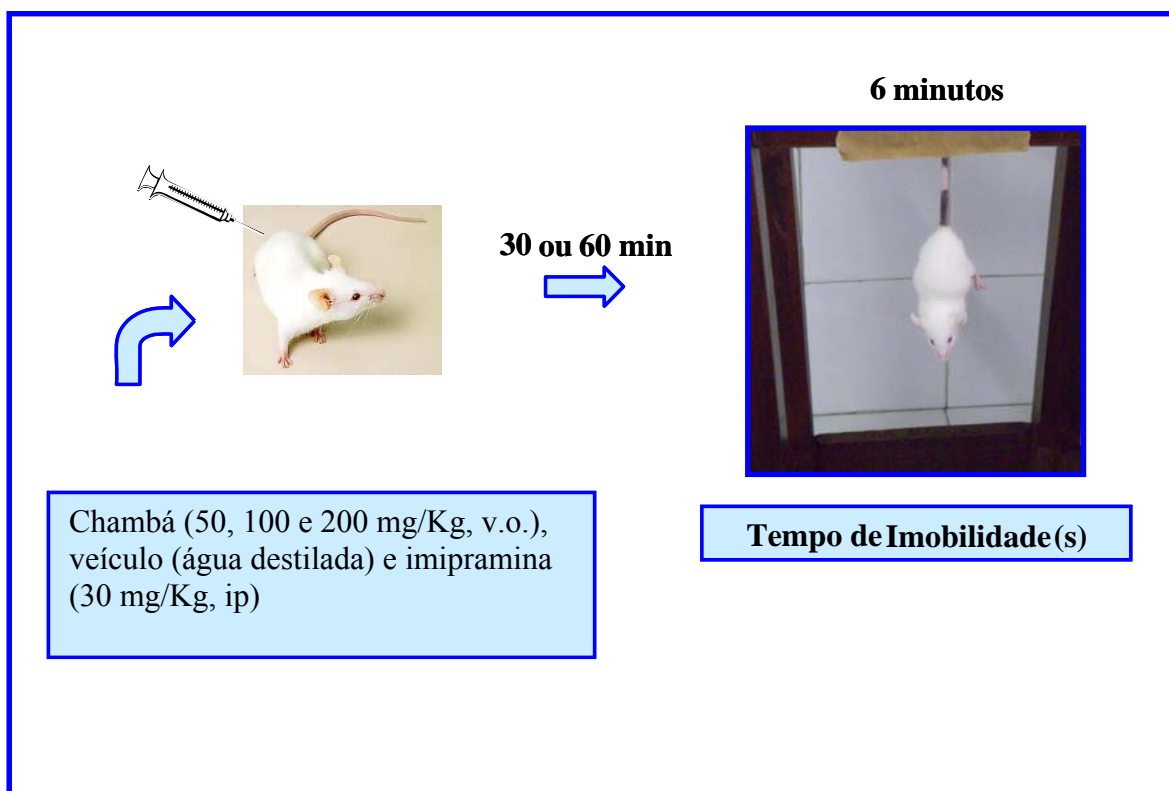
QUADRO 3.5 – Esquema do teste Nado Forçado



3.6.2 Teste da Suspensão da Cauda

Para este experimento foram utilizados os seguintes grupos: imipramina (30 mg/Kg, i.p.), veículo (v.o.) e chambá (50,100 e 200 mg/Kg, v.o.). Após 30 ou 60 minutos dos tratamentos i.p. ou v.o., respectivamente, os animais, um por vez, foram suspensos e presos com uma fita adesiva, a cerca de 1 cm da ponta da cauda, numa plataforma 58 cm acima da bancada, durante 6 minutos (STERU et al., 1985). O parâmetro observado será o tempo de imobilidade do animal, em segundos.

QUADRO 3.6 – Esquema do teste da Suspensão da Cauda

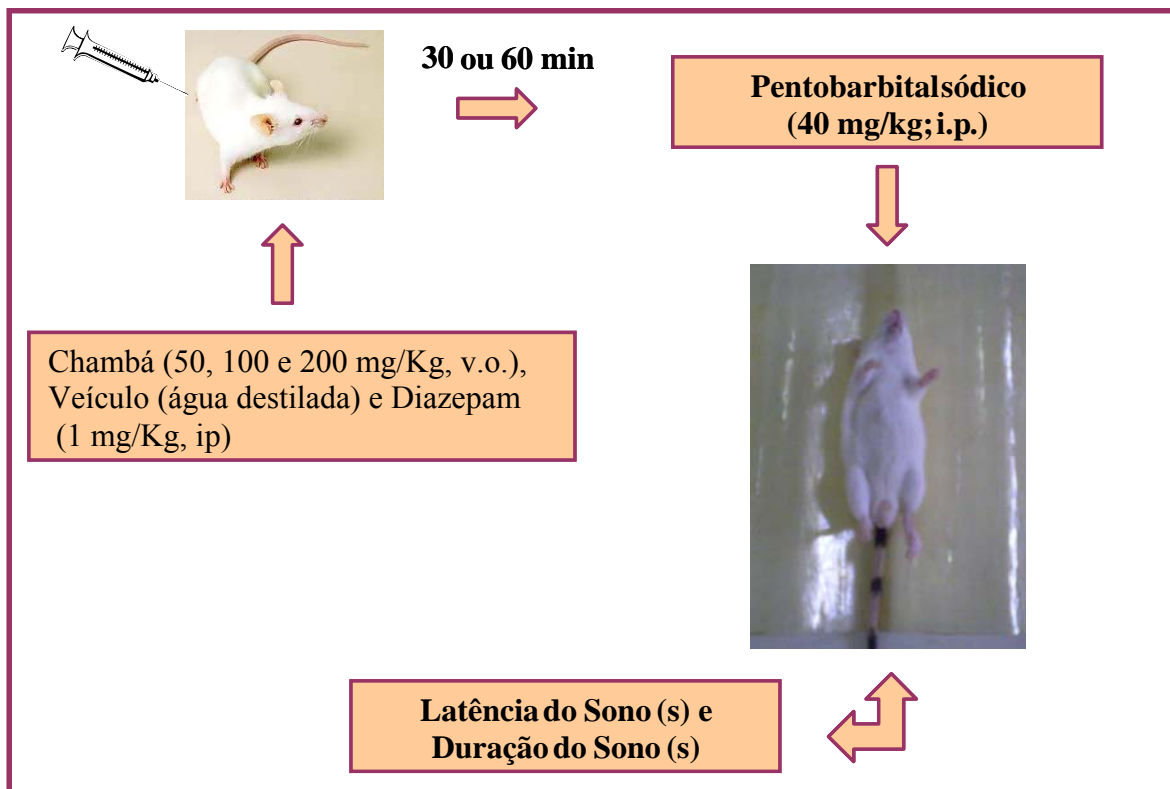


3.7 Avaliação da Atividade Sedativo/Hipnótica e Anticonvulsivante

3.7.1 Teste do Tempo de Sono Induzido por Pentobarbital

Os animais foram divididos em 5 grupos que foram tratados com veículo (água destilada) e Chambá (50,100 e 200 mg/kg, v.o.). Diazepam (1 mg/kg, i.p.) foi usado como padrão positivo.

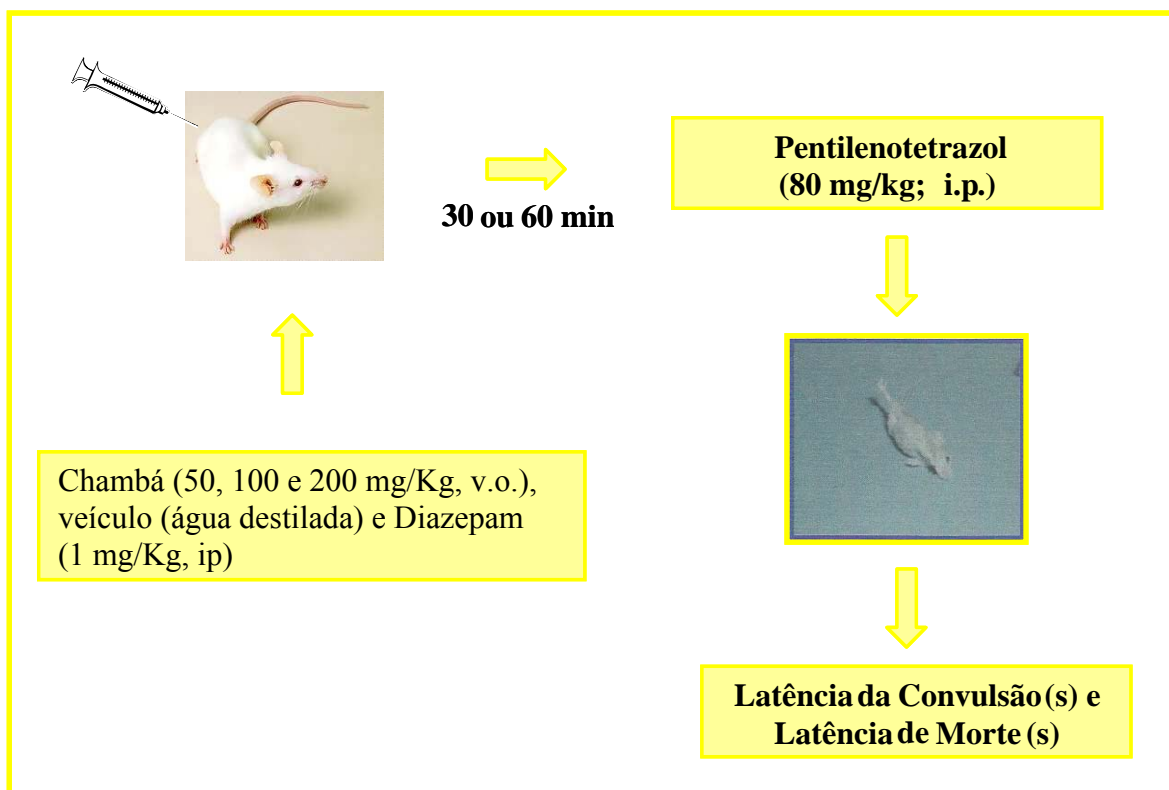
Após 30 ou 60 minutos dos tratamentos i.p. ou v.o., respectivamente, foi administrado pentobarbital sódico (PTB) na dose de 40 mg/kg, via i.p. O tempo desde a administração do PTB até a perda do reflexo de endireitamento foi registrado como latência do sono, em segundos. Após terem adormecido, os animais foram colocados na posição de decúbito dorsal, e o tempo decorrido entre a perda e a recuperação do reflexo de endireitamento foi registrado como duração do sono, em segundos (WAMBEBE, 1985; ROLLAND et al., 1991). A perda do reflexo de endireitamento é a incapacidade que o animal apresenta de voltar à posição normal quando colocado em decúbito dorsal. O critério para a recuperação do reflexo de endireitamento foi fixado quando o animal saiu da imposição por três vezes consecutivas (CARLINI et al., 1986; MATTEI et al., 1998). Simplificando, os parâmetros avaliados neste teste foram: latência do sono e a duração do sono cujo tempo máximo será de 240 minutos.

QUADRO 3.7 – Esquema do teste Tempo de Sono Induzido por Pentobarbital

3.7.2 Teste da Convulsão Induzida por Pentilenotetrazol

Os animais foram divididos em 5 grupos que foram tratados com veículo (água destilada) e Chambá (50,100 e 200 mg/kg, v.o.). Diazepam (1mg/kg, i.p.) foi usado como padrão positivo. Após 30 ou 60 minutos dos tratamentos i.p. ou v.o., respectivamente, foi administrado Pentilenotetrazol (PTZ) 80mg/Kg, i.p. (YILMAZ, 2007). Logo após a administração do PTZ, os animais foram colocados em gaiolas individuais e observados por um período de 30 minutos. Os parâmetros analisados foram: latência da convulsão (tempo entre a administração do PTZ até a primeira convulsão clônica ou tônico-clônica) e a latência de morte dos animais (tempo decorrido da administração do PTZ e morte dos animais). Tempo em segundos.

QUADRO 3.8 – Esquema do teste Convulsão Induzida por Pentilenotetrazol



3.8 Dissecação das Áreas Cerebrais (Córtex pré-frontal, Hipocampo e Corpo estriado)

Os animais serão sacrificados por deslocamento cervical, os encéfalos serão retirados e rapidamente colocados sobre papel alumínio em uma placa de Petri com gelo. Para a retirada do Córtex pré-frontal (CPF), a porção anterior dos lobos frontais (em torno de 1,5mm a partir do bulbo olfatório) foi removida e feita uma secção bilateral com o auxílio de uma tesoura de microdissecação (MACHADO, 1985).

Como as áreas corticais dos ratos/camundongos são geralmente menos evoluídas menos diferenciadas e menos segregadas que o córtex cerebral de primatas, existia uma controvérsia na literatura se roedores, realmente, possuíam córtex pré-frontal. A conclusão (UYLINGS et al., 2003) é que estes animais possuem um córtex frontal que pode ser definido anatomicamente e funcionalmente como córtex pré-frontal, o qual é subdividido em uma região orbital-símile e outra região que pode incluir as estruturas dorsolateral e anterior cingulado-símile.

Após a retirada do CPF, acompanhando a fissura sagital mediana, a camada cortical cerebral foi rebatida das leptomeninges com o auxílio de uma pinça reta de microdissecação, a qual, progredindo delicada e tangencialmente aos ventrículos laterais, divulsionou o córtex em toda a sua extensão fronto-occipital. O córtex já divulsionado foi rebatido para os lados, expondo região hipocampal (HC) e parte do corpo estriado (CE). O hipocampo e o corpo estriado (caudado, putamen e núcleo acumbens) foram isolados das estruturas circunjacentes por divulsionamento com uma tesoura de microdissecação, sendo a retirada orientada pelo diâmetro da porção tuberosa visível desses núcleos, após o rebatimento lateral do córtex.

Terminada a dissecação, cada área cerebral (hipocampo, corpo estriado e córtex motor) foi acondicionada em papel alumínio devidamente identificado, pesado e conservado a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ para uso posterior. Quando necessária a estocagem por um determinado período de tempo (no máximo 6 meses a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$) os tecidos foram considerados como tendo a mesma viabilidade para experimentação que os ensaiados imediatamente ou 24 h após a dissecação (BURKE GREENBAUN, 1987).

3.9 Determinação das concentrações de monoaminas e seus metabólitos com HPLC

3.9.1 Método

Para a determinação das concentrações de catecolaminas foi utilizado o equipamento de HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance). Na cromatografia líquida clássica, um adsorvente (alumina ou sílica) é empacotado em uma coluna e é eluído por um líquido ideal (fase móvel). Uma mistura para ser separada é introduzida na coluna e é carregada através da mesma por um líquido eluente (fase móvel). Se um composto da mistura (soluto) é adsorvido fracamente pela superfície da fase sólida estacionária, ele atravessará a coluna mais rapidamente que um outro soluto que seja mais fortemente adsorvido. Então, a separação dos solutos é possível se existem diferenças na adsorção pelo sólido. Os detectores eletroquímicos medem a condutância do eluente ou a corrente associada com a oxidação ou redução dos solutos. Para ser capaz de detectar no primeiro caso, os solutos devem ser iônicos e no segundo caso, os solutos devem ter a característica de serem relativamente fáceis de se oxidarem ou reduzirem.

Detectores eletroquímicos que medem corrente associada com a redução ou oxidação de solutos são chamados detectores amperométricos ou coulométricos. Neste estudo foi utilizado o tipo amperométrico que reage com uma quantidade muito menor de soluto, em torno de 1 %. Todas as técnicas eletroquímicas envolvem a aplicação de um potencial para um eletrodo (geralmente de carbono vítreo), oxidação da substância que está sendo estudada próximo à superfície do eletrodo seguindo a amplificação e medida da corrente produzida. As catecolaminas são oxidadas nos grupos de anel hidroxil para produzir um derivado ortoquinona com a liberação de dois elétrons.

3.9.2 Procedimento Experimental

Os animais foram decapitados 60 minutos após a administração do extrato padronizado de Chambá (200 mg/Kg) e salina (controle) e tiveram seus cérebros dissecados sobre gelo. O córtex pré-frontal e hipocampo foram utilizados para preparar homogenatos a 20% (20 mg de área/100 μ L de tampão), enquanto o corpo estriado foi utilizado para preparar homogenato a 10% (10 mg de área/100 μ L de tampão). Os tecidos cerebrais foram homogeneizados em ácido perclórico (HClO₄) e centrifugados por 15 minutos em centrífuga refrigerada (4°C) a 15.000 rpm. Uma alíquota de 20 μ L do sobrenadante foi, então, injetada no equipamento de HPLC, para a análise química.

Para a análise das catecolaminas, uma coluna BDS HYPERSIL C18 com comprimento de 250 mm, calibre 4,6 mm e de partícula de 5 μ m, da T'hermo Scientific, foi utilizada. A fase móvel utilizada era composta por tampão ácido cítrico 0,163 M, pH 3,0, contendo ácido octanosulfônico sódico(SOS) 0,69 M, como reagente formador do par iônico, acetonitrila 4 % v/v e tetrahydrofurano 1,7 % v/v. NA, DA, DOPAC, HVA, 5-HT e 5-HIAA foram eletronicamente detectados usando um detector amperométrico (Modelo L-ECD-6A da Shimadzu, Japão) pela oxidação em um eletrodo de carbono vítreo fixado em 0,85V relativo a um eletrodo de referência de Ag-AgCl. (HALLMAN, JOSSON, 1984).

3.9.3 Soluções Reagentes

Fase Móvel

Para preparar um volume de 500 mL de fase móvel foram pesados 15,75 g de ácido cítrico (Grupo Química, RJ., Brasil) e 0,292 g de Cloreto de Sódio (Grupo Química, RJ., Brasil) completado para um volume de 400 mL com água puríssima (Milli-Q). Esta solução foi ajustada para pH 3,0 com hidróxido de sódio 12,5 M (Reagen, RJ, Brasil). A esta solução foi adicionado o

SOS 75 mg (Sigma, MO, USA) e completado o volume para 470 mL com água Milli-Q. Em seguida, foi procedida a filtração e degaseificação, e posteriormente adição de 20 mL de acetonitrila (Carlo Erba Reagenti, MI, Itália) e 10 mL de tetrahidrofurano (Sigma, MO, USA) para um volume final de 500 mL.

Ácido Perclórico 0,1 M

Adicionou-se 1,8 mL de ácido perclórico (Sigma, MO, USA) em um balão volumétrico e o volume ajustado para 300 mL.

Padrões

Os padrões foram preparados em uma concentração final de 4 ng/20 µL de solução de NA, DA, 5-HT, DOPAC, HVA e 5-HIAA (Sigma, MO, EUA). A partir da área dos picos desses padrões, as concentrações das amostras foram calculadas utilizando o programa Microsoft Excel® e os resultados expressos em ng/g de tecido.

3.10 Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do software GraphPad Prism versão 5.0 para Windows , GraphPad Software , San Diego, Califórnia EUA. Copyright (c) 1992- 2007 por GraphPad Software.

Os resultados que obedeciam a uma distribuição paramétrica foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) seguido pelo teste de Student Newman Keuls (post hoc). Os dados não-paramétricos foram analisados pelo mesmo programa utilizando o teste Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunns (post hoc) ou pelo t test.

Em todas as análises estatísticas, os valores foram representados pela Média \pm Erro Padrão da Média (EPM) com número de animais entre parênteses e foi considerado o nível crítico para a 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.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 Avaliação da Atividade Ansiolítica

4.1.1 Teste do Labirinto em Cruz Elevado

O tratamento agudo por via oral com o extrato padronizado de chambá nas doses de 100 e 200 mg/Kg, no LCE mostrou que houve um aumento significativo de todos os parâmetros analisados em ambas as doses: NEBA (**Figura 4.1**) [CH100: 6.14 ± 0.67 (7); CH 200: 7.85 ± 0.79 (7)]; PEBA (**Figura 4.2**) [CH 100: 48.44 ± 2.98 (7); CH 200: 49.76 ± 2.47 (8)]; TPBA (**Figura 4.3**) [CH 100: 107.9 ± 7.85 (7); CH 200: 143.1 ± 10.32 (7)]; PTBA (**Figura 4.4**) [CH 100: 41.81 ± 4.77 (8); CH 200: 49.92 ± 3.84 (8)] quando comparados com os respectivos controles: NEBA [3.76 ± 0.34 (13)]; PEBA [33.35 ± 2.65 (14)]; TPBA [51.43 ± 4.79 (7)] e PTBA [19.81 ± 2.06 (8)].

O tratamento agudo por via oral com o chambá na dose de 50 mg/Kg, no LCE mostrou que houve um aumento dos parâmetros NEBA (**Figura 4.1**) [CH 50: 6.71 ± 0.71 (7)]; TPBA (**Figura 4.3**) [CH 50: 102.9 ± 11.96 (7)] e PTBA (**Figura 4.4**) [CH 50: 36.12 ± 4.93 (8)] quando comparados com os respectivos controles: NEBA [3.76 ± 0.34 (13)]; TPBA [51.43 ± 4.79 (7)] e PTBA [19.81 ± 2.06 (8)].

Diazepam 1 mg/Kg aumentou todos os parâmetros: NEBA [DZP-1: 10.75 ± 0.67 (8)] ; PEBA [DZP-1: 64.24 ± 3.03 (7)] ; TPBA [DZP-1: 157.3 ± 5.85 (7)] e PTBA [DZP-1: 59.45 ± 3.26 (8)] em relação aos controles (**Figuras 4.1 , 4.2, 4.3 e 4.4**).

A análise do envolvimento dos receptores benzodiazepínicos no efeito ansiolítico do chambá mostrou que o grupo CH 200 mg/Kg pré-tratado com FLU 2,5 reduziu todos os parâmetros analisados quando comparados ao grupo CH 200 mg/Kg: NEBA (**Figura 5.1**)

[CH200: 7.85 ± 0.79 (7); CH200 + FLU: $2,28 \pm 0,56$ (7)]; PEBA (**Figura 4.2**) [CH200: 49.76 ± 2.47 (8); CH200 + FLU: $27,99 \pm 4,07$ (7)]; TPBA (**Figura 4.3**) [CH200: $143,1 \pm 10,32$ (7); CH200 + FLU: $34,40 \pm 9,76$ (5)]; PTBA (**Figura 4.4**) [CH200: 49.92 ± 3.84 (8); CH200 + FLU: $22,76 \pm 4,88$ (7)].

O grupo diazepam, pré-tratado com flumazenil, reduziu todos os parâmetros analisados quando comparados ao grupo diazepam: NEBA (**Figura 4.1**) [DZP-1: 10.75 ± 0.67 (8); DZP + FLU: $5,25 \pm 0,67$ (9)]; PEBA (**Figura 4.2**) [DZP-1: 64.24 ± 3.03 (7); DZP + FLU: $33,64 \pm 3,78$ (9)]; TPBA (**Figura 4.3**) [DZP-1: 157.3 ± 5.85 (7); DZP + FLU: $72,57 \pm 7,88$ (8)]; PTOA (**Figura 4.4**): [DZP-1: 59.45 ± 3.26 (8); DZP + FLU: $29,40 \pm 2,47$ (8)].

4.1

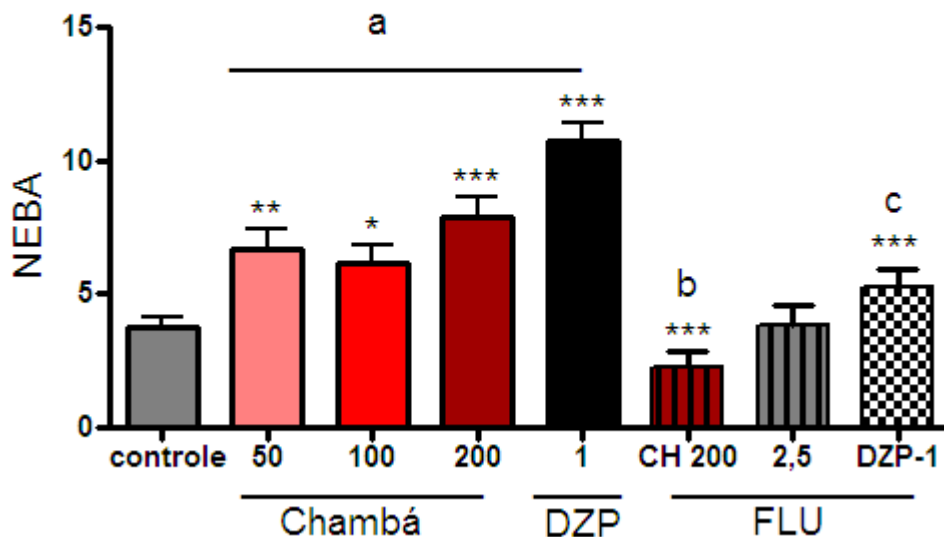


Figura 4.1 – Efeito do Chambá (50, 100 e 200 mg/Kg), Diazepam (1 mg/Kg) e Flumazenil (2,5 mg/Kg) sobre o número de entradas nos braços abertos (NEBA) no teste Labirinto em Cruz Elevado em camundongos.

Controle (veículo), chambá (v.o.) e diazepam (DZP; 1 mg/kg, i.p.) foram administrados 30 (i.p.) ou 60 min (v.o.) antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do número de entradas nos braços abertos (NEBA) durante 5 minutos. A letra (a) representa a significativa diferença quando comparado ao controle; a letra (b) representa a significativa diferença quando comparado ao grupo Chambá 200 mg/Kg (CH 200); a letra (c) representa a significativa diferença quando comparado ao grupo Diazepam 1 mg/Kg (DZP-1). Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste post hoc. Valores significativos: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

4.2

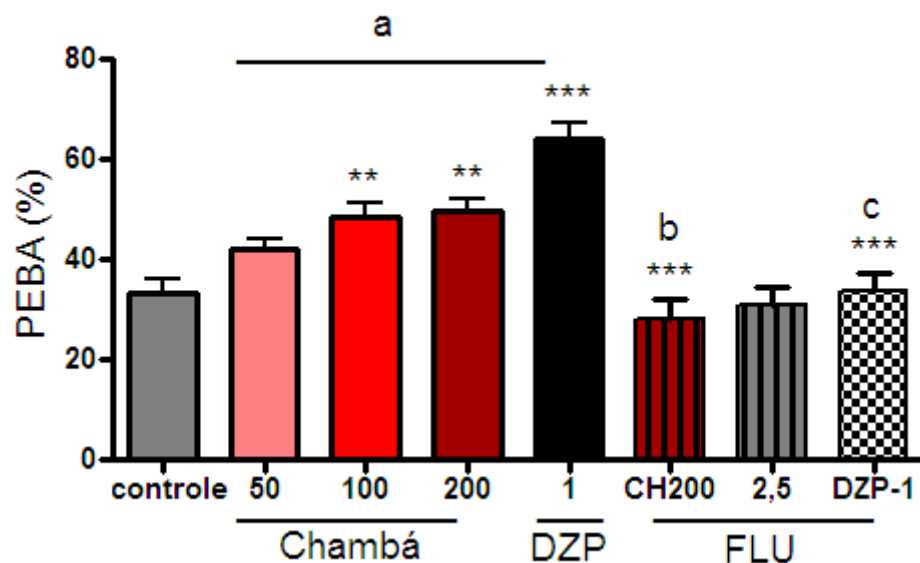


FIGURA 4.2 – Efeito do Chambá (50, 100 e 200 mg/Kg), Diazepam (1 mg/Kg) e Flumazenil (2,5 mg/Kg) sobre a percentagem de entradas nos braços abertos (PEBA) no teste Labirinto em Cruz Elevado em camundongos.

Controle (veículo), chambá (v.o.) e diazepam (DZP; 1 mg/kg, i.p.) foram administrados 30 (i.p.) ou 60 min (v.o.) antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM da percentagem de entradas nos braços abertos (PEBA) durante 5 minutos. A letra (a) representa a significativa diferença quando comparado ao controle; a letra (b) representa a significativa diferença quando comparado ao grupo Chambá 200 mg/Kg (CH 200); a letra (c) representa a significativa diferença quando comparado ao grupo Diazepam 1 mg/Kg (DZP-1). Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste post hoc. Valores significativos: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

4.3

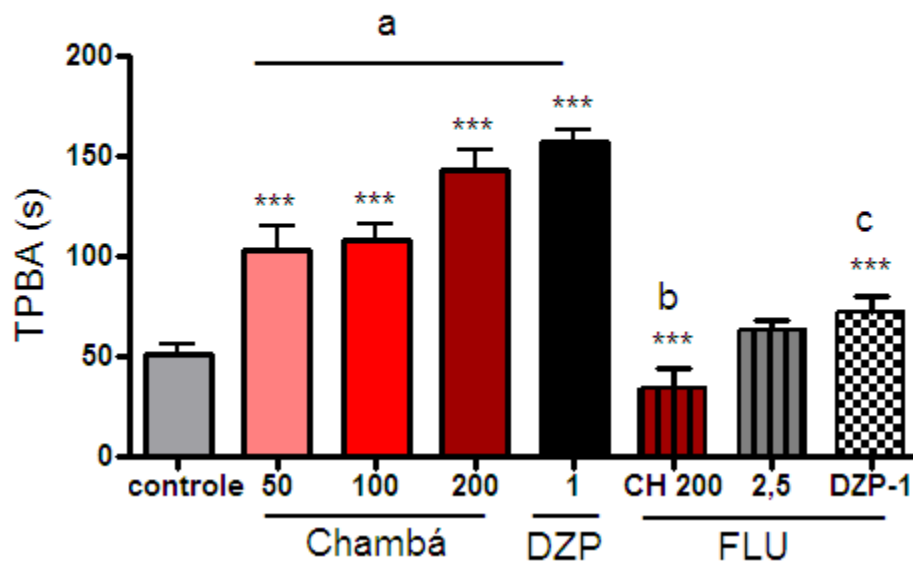


Figura 4.3 – Efeito do Chambá (50, 100 e 200 mg/Kg), Diazepam (1 mg/Kg) e Flumazenil (2,5 mg/Kg) sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) no teste Labirinto em Cruz Elevado em camundongos.

Controle (veículo), chambá (v.o.) e diazepam (DZP; 1 mg/kg, i.p.) foram administrados 30 (i.p.) ou 60 min (v.o.) antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) durante 5 minutos. A letra (a) representa a significativa diferença quando comparado ao controle; a letra (b) representa a significativa diferença quando comparado ao grupo Chambá 200 mg/Kg (CH 200); a letra (c) representa a significativa diferença quando comparado ao grupo Diazepam 1 mg/Kg (DZP-1). Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste post hoc. Valores significativos: *** $p < 0,001$.

4.4

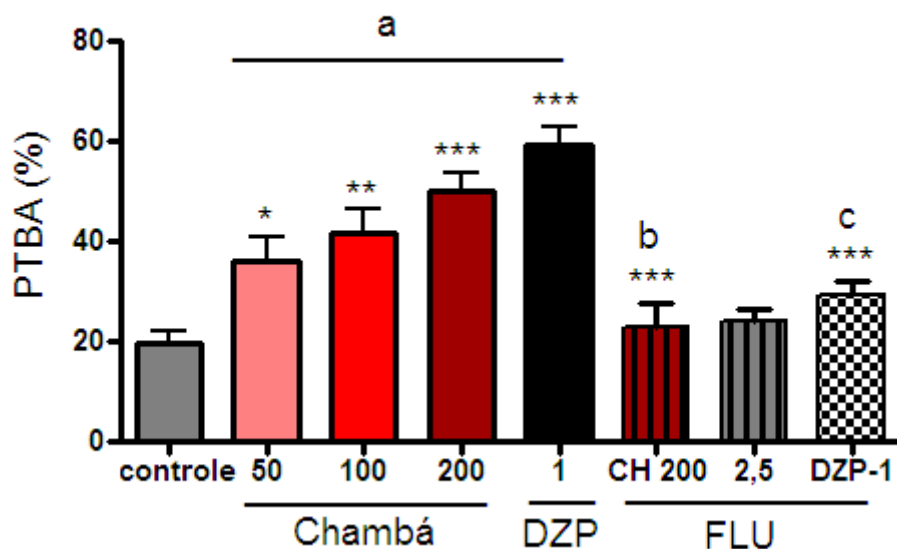


Figura 4.4 – Efeito do Chambá (50, 100 e 200 mg/Kg), Diazepam (1 mg/Kg) e Flumazenil (2,5 mg/Kg) sobre a percentagem do tempo de permanência nos braços abertos (PTBA) no teste Labirinto em Cruz Elevado em camundongos.

Controle (veículo), chambá (v.o.) e diazepam (DZP; 1 mg/kg, i.p.) foram administrados 30 (i.p.) ou 60 min (v.o.) antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM da percentagem de tempo de permanência nos braços abertos (PTBA) durante 5 minutos. A letra (a) representa a significativa diferença quando comparado ao controle; a letra (b) representa a significativa diferença quando comparado ao grupo Chambá 200 mg/Kg (CH 200); a letra (c) representa a significativa diferença quando comparado ao grupo Diazepam 1 mg/Kg (DZP-1). Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste post hoc. Valores significativos: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

4.1.2 Teste Claro/Escuro

O tratamento agudo por via oral com o chambá nas doses de 50,100 e 200 mg/Kg, no teste Claro/Escuro, aumentou o parâmetro tempo de permanência no *box* claro: (**Figura 4.5**) [CH50: $142,4 \pm 3,02$ (7); CH 100: $152,2 \pm 3,48$ (6); CH200: $149,6 \pm 4,07$ (8); $p < 0,01$] quando comparados com o controle [$121,1 \pm 8,92$ (7)].

Diazepam (1 mg/Kg), utilizado como padrão positivo, aumentou o tempo de permanência no *box* claro [DZP-1: $197,7 \pm 8,21$ (7); $p < 0,001$] em relação ao controle (**Figura 4.5**).

4.5

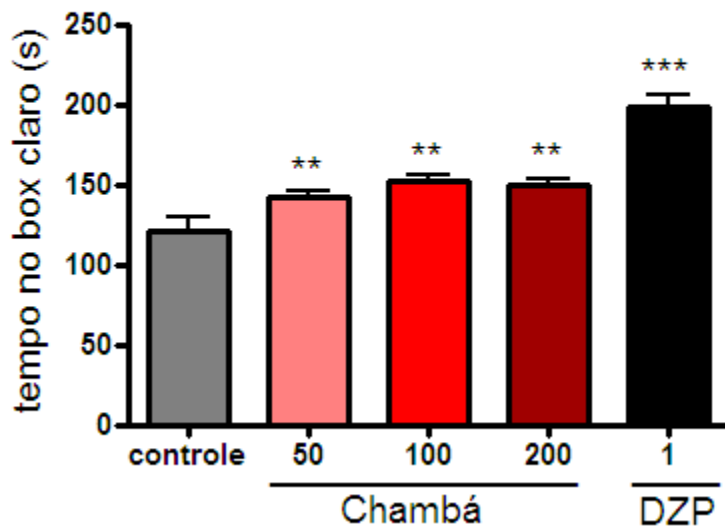


Figura 4.5 - Efeito do Chambá (50, 100 e 200 mg/Kg) e Diazepam (1 mg/Kg) sobre o tempo de permanência no box claro no teste Claro/Escuro em camundongos.

Controle (veículo), chambá (v.o.) e diazepam (DZP; 1 mg/kg, i.p.) foram administrados 30 (i.p.) ou 60 min (v.o.) antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do tempo de permanência no box claro durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste post hoc. Valores significativos comparados ao controle (** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$).

4.1.3 Teste do Campo Aberto

Os animais tratados com chambá nas doses de 50, 100 e 200 mg/Kg (v.o.), não apresentaram alterações significativas na atividade locomotora (ALE) (**Tabela 1**) [CH50: $48,86 \pm 5,88$ (8); CH100: $47,00 \pm 6,49$ (8); CH200: $40,43 \pm 3,08$ (8)] em relação ao grupo controle [cont.: $36,88 \pm 3,16$ (8)].

Nenhuma alteração foi observada nos parâmetros grooming (G) e rearing (R) com os animais tratados com chambá nas doses de 50, 100 e 200 mg/Kg (**Tabela 1**) [(G) CH50: $5,33 \pm 0,49$ (8); CH100: $4,67 \pm 0,67$ (8); CH200: $3,71 \pm 0,36$ (8)] e [(R) CH50: $30,38 \pm 4,34$ (8); CH100: $26,50 \pm 4,90$ (8); CH200: $21,57 \pm 2,46$ (8)] quando comparados aos respectivos grupos controles [(G) cont.: $5,25 \pm 0,25$ (12); (R) cont.: $19,86 \pm 2,28$ (12)].

Diazepam (2 mg/Kg), utilizado como padrão positivo, reduziu todos os parâmetros analisados: ALE [DZP-2: $20,92 \pm 0,40$ (12)]; grooming [DZP-2: $1,64 \pm 0,39$ (12)] e rearing [DZP-2: $4,27 \pm 0,57$ (12)] quando comparados aos controles (**Tabela 1**).

TABELA 1 – Efeito do Chambá e Diazepam sobre a atividade locomotora (ALE), grooming e rearing no teste campo aberto em camundongos.

Tratamento	Parâmetros		
	A.L.E.	Grooming	Rearing
Controle	36,88 ± 3,165	5,250 ± 0,250	19,86 ± 2,28
Chambá 50 mg/Kg, v.o.	48,86 ± 5,88	5,333 ± 0,49	30,38 ± 4,34
Chambá 100 mg/Kg, v.o.	47,00 ± 6,49	4,667 ± 0,67	26,50 ± 4,90
Chambá 200 mg/Kg, v.o.	40,43 ± 3,085	3,714 ± 0,36	21,57 ± 2,46
Diazepam, i.p.	20,92 ± 0,40**	1,643 ± 0,39***	4,273 ± 0,57**

Os valores representam a média ± EPM da atividade locomotora, grooming e rearing. Foram utilizados grupos de 8-12 animais. Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste post hoc. Valores significativos comparados ao controle (**p<0,01; ***p<0,001).

4.1.4 Rota Rod

O número de quedas e o tempo de permanência na barra foram os parâmetros analisados. O tratamento agudo por via oral com o extrato padronizado de chambá nas doses de 50, 100 e 200 mg/Kg, no teste rota rod mostrou que não houve alteração do número de quedas [CH50: $0,75 \pm 0,16$ (8); CH100: $0,50 \pm 0,27$ (8); CH200: $0,62 \pm 0,26$ (8)] quando comparados ao controle [cont.: $0,57 \pm 0,20$ (8)]. Também, nenhuma alteração foi observada no tempo de permanência na barra com os animais tratados com chambá nas mesmas doses descritas anteriormente [CH50: $57,50 \pm 0,60$ (8); CH100: $58,25 \pm 0,94$ (8); CH200: $58,00 \pm 0,91$ (8); cont.: $56,71 \pm 1,29$ (8)]. Por sua vez, Diazepam (2 mg/Kg), utilizado como padrão positivo, aumentou o número de quedas [DZP-2: $2,62 \pm 0,18$ (8)] e reduziu o tempo de permanência na barra [DZP-2: $39,14 \pm 6,28$ (8)] quando comparados aos controles (**Tabela 2**).

TABELA 2 - Efeito do Chambá e Diazepam sobre o número de quedas e tempo de permanência na barra no teste rota rod em camundongos.

Tratamento	Parâmetros	
	Nº de Quedas	Tempo de Permanência(s)
Controle	0,5714 ± 0,2020	56,71 ± 1,29
Chambá 50 mg/Kg, v.o.	0,7500 ± 0,1637	57,50 ± 0,60
Chambá 100 mg/Kg, v.o.	0,5000 ± 0,2673	58,25 ± 0,94
Chambá 200 mg/Kg, v.o.	0,6250 ± 0,2631	58,00 ± 0,91
Diazepam, i.p.	2,625 ± 0,1830**	39,14 ± 6,28***

Os valores representam a média ± EPM do número de quedas e tempo de permanência na barra. Foram utilizados grupos de 8-12 animais. Para análise estatística do parâmetro número de quedas foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal –Wallis seguido por Dunns como teste post hoc. Para a análise do parâmetro tempo de permanência na barra foi realizado ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste post hoc. Valores significativos comparados ao controle (**p<0,01; ***p<0,001).

4.2 Avaliação da Atividade Antidepressiva

4.2.1 Teste do Nado Forçado

O tratamento agudo por via oral, nas doses de 50, 100 e 200 mg/Kg, do extrato padronizado de Chambá no teste do Nado Forçado mostrou que houve aumento no tempo de imobilidade em todas as doses utilizadas [CH50: $104,6 \pm 5,54$ (8), $p < 0,05$; CH100: $122,8 \pm 7,22$ (8), $p < 0,001$; CH200: $141,8 \pm 8,05$ (7), $p < 0,001$] quando comparados ao controle [$82,14 \pm 5,89$ (7)]. A Imipramina (10 mg/Kg), utilizada como padrão positivo, reduziu o tempo de imobilidade [IMI-10: $31,00 \pm 4,47$ (8); $p < 0,001$] em relação ao controle (**Figura 4.6**).

4.6

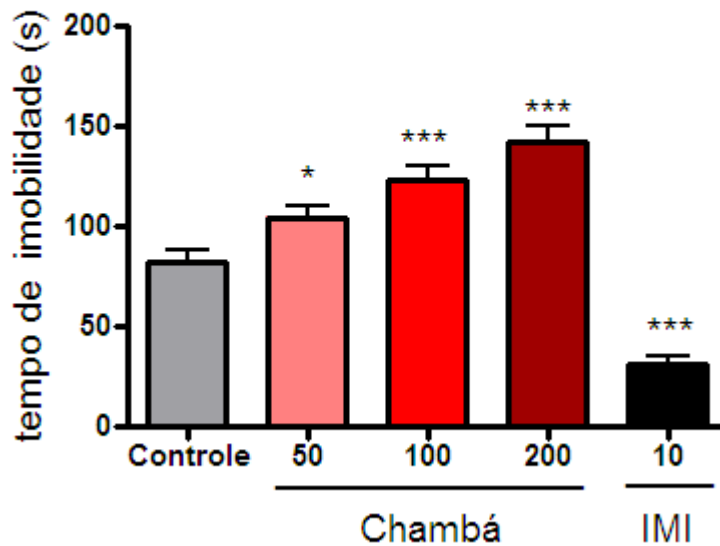


FIGURA 4.6 - Efeito do Chambá (50, 100 e 200 mg/Kg) e Imipramina (10 mg/Kg) sobre o tempo de imobilidade no teste Nado Forçado em camundongos.

Controle (veículo), chambá (v.o.) e imipramina (IMI; 10 mg/kg, i.p.) foram administrados 30 (i.p.) ou 60 min (v.o.) antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do tempo de imobilidade durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste post hoc. Valores significativos comparados ao controle (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$).

4.2.2 Teste da Suspensão da Cauda

Os resultados decorrentes do tratamento agudo por via oral, nas doses de 50, 100 e 200 mg/Kg, do extrato padronizado de Chambá no teste da suspensão da cauda são apresentados na **Figura 4.7**. Foi observado um aumento significativo no tempo de imobilidade em todas as doses utilizadas [CH50: $159,7 \pm 12,36$ (8), $p < 0,05$; CH100: $76,17 \pm 9,25$ (8), $p < 0,05$; CH200: $136,7 \pm 11,40$ (7); $p < 0,05$] quando comparados ao controle [$104,4 \pm 9,82$ (8)]. A Imipramina (30 mg/Kg), utilizada como padrão positivo, reduziu o tempo de imobilidade [IMI-30: $22,44 \pm 2,86$ (9), $p < 0,001$] em relação ao controle.

4.7

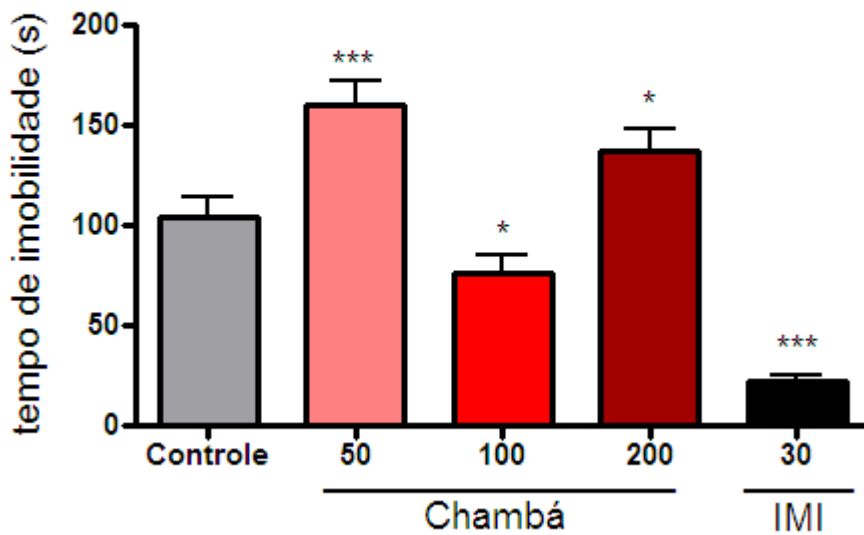


FIGURA 4.7 - Efeito do Chambá (50, 100 e 200 mg/Kg) e Imipramina (30 mg/Kg) sobre o tempo de imobilidade no teste da Suspensão da Cauda em camundongos.

Controle (veículo), chambá (v.o.) e imipramina (IMI: 30 mg/kg, i.p.) foram administrados 30 (i.p.) ou 60 min (v.o.) antes do experimento. Os valores representam a média \pm EPM do tempo de imobilidade durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste post hoc. Valores significativos comparados ao controle (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$).

4.3 Avaliação da Atividade Sedativa/Hipnótica e Anticonvulsivante

4.3.1 Teste do Tempo de Sono Induzido por Pentobarbital

Neste teste foram analisados dois parâmetros: a latência do sono, em segundos e a duração do sono, também em segundos. O chambá diminuiu a latência do sono somente na dose de 200 mg/Kg [CH 200: $121,8 \pm 8,29$ (8), $p < 0,001$], no entanto nas doses de 50 e 100 mg/Kg não foi observada nenhuma alteração [CH50: $163,3 \pm 10,10$ (8), $p \geq 0,05$; CH100: $163,9 \pm 12,26$ (8), $p \geq 0,05$] em relação ao controle [cont.: $182,4 \pm 10,85$ (9)] (**Tabela 3**).

Nenhuma alteração foi observada na duração do sono nos animais tratados com chambá nas doses de 50, 100 e 200 mg/Kg [CH50: $2205 \pm 343,3$ (8); CH100: $2470 \pm 246,9$ (8); CH200: $3536 \pm 584,1$ (8), $p \geq 0,05$] quando comparados ao controle [cont.: $2530 \pm 527,8$]. Como esperado, o diazepam 1 mg/Kg, i.p., reduziu a latência do sono [DZP-1: $104,7 \pm 2,52$ (9), $p < 0,001$] e aumentou a duração do sono [DZP-1: $6137 \pm 303,4$ (9), $p < 0,001$] em relação aos grupos controles (**Tabela 3**).

TABELA 3 – Efeito do Chambá e Diazepam sobre a latência de sono e duração do sono no teste Tempo de Sono Induzido por Pentobarbital em camundongos.

Tratamento	Parâmetros	
	Latência(s)	Tempo de sono(s)
Controle	182,4 ± 10,85	2530 ± 527,8
Chambá 50 mg/Kg, v.o.	163,3 ± 10,10	2205 ± 343,3
Chambá 100 mg/Kg, v.o.	163,9 ± 12,26	2470 ± 246,9
Chambá 200 mg/Kg, v.o.	121,8 ± 8,292***	3536 ± 584,1
Diazepam, i.p.	104,7 ± 2,528***	6137 ± 303,4***

Os valores representam a média ± EPM da latência de sono e da duração de sono. Foram utilizados grupos de 8-10 animais. Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste post hoc. Valores significativos comparados ao controle (**p<0,001).

4.3.2. Teste da Convulsão Induzida por Pentilenotetrazol

Neste teste foram avaliadas as latências de convulsão e morte, em segundos. Os animais tratados com chambá nas doses de 50, 100 e 200 mg/Kg não alteraram a latência de convulsão [CH50: $80,86 \pm 6,99$ (8); CH100: $124,1 \pm 10,36$; CH200: $75,71 \pm 4,99$, $p \geq 0,05$] em relação ao controle [cont.: $95,57 \pm 4,46$ (8)] (**Tabela 4**).

O parâmetro latência de morte não foi alterado com nenhuma das doses de chambá utilizadas [CH50: $515,6 \pm 99,07$ (8); CH100: $331,6 \pm 52,99$ (8); $258,7 \pm 23,34$ (8), $p \geq 0,05$] quando comparados ao controle [cont.: $407,0 \pm 25,41$ (8)]. O diazepam 1 mg/Kg aumentou a latência da convulsão [DZP-1: $312,4 \pm 24,56$ (8), $p < 0,001$] e evitou a morte de 100% dos animais [DZP-1: $1800 \pm 0,00$ (8), $p < 0,001$] em relação ao controle (**Tabela 4**).

TABELA 4 – Efeito do Chambá e Diazepam sobre a latência de convulsão e de morte no teste de Convulsão Induzida por Pentilenotetrazol em camundongos.

Tratamento	Parâmetros	
	Latência de convulsão (s)	Latência de morte(s)
Controle	95,57 ± 4,461	407,0 ± 25,41
Chambá 50 mg/Kg, v.o.	80,86 ± 6,988	515,6 ± 99,07
Chambá 100 mg/Kg, v.o.	124,1 ± 10,36	331,6 ± 52,99
Chambá 200 mg/Kg, v.o.	75,71 ± 4,989	258,7 ± 23,34
Diazepam, i.p.	312,4 ± 24,56***	1800 ± 0,00***

Os valores representam a média ± EPM da latência de convulsão e latência de morte. Foram utilizados grupos de 8 animais. Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste post hoc. Valores significativos comparados ao controle (**p<0,01). (***)p<0,001).

4.4 Determinação das Concentrações de Monoaminas

A análise química realizada pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em amostras de tecido cerebral (córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado) mostrou que o tratamento agudo com o extrato padronizado de *Justicia pectoralis* na dose de 200 mg/Kg promoveu alterações nas concentrações das monoaminas.

4.4.1 Córtex Pré-frontal

O tratamento agudo por via oral do extrato padronizado de na dose de 200 mg/Kg causou uma redução da concentração de dopamina (DA) no córtex pré-frontal quando comparado ao grupo controle (**Figura 4.8**) [cont.: $776.7 \pm 110,8$ (7); CH200: $1929 \pm 36,26$ (8), $p < 0,01$]. Houve, também, redução da concentração de DOPAC (**Figura 4.9**) quando comparado ao controle [cont.: $8.700 \pm 0,99$ (7); CH200: $4.100 \pm 0,59$ (8), $p < 0,01$]. Já a concentração de HVA não foi alterada [cont.: $40,40 \pm 7,05$ (6); CH200: $45,05 \pm 5,03$ (8), $p \geq 0,05$] (**Figura 4.10**).

A **Figura 4.11** mostra que houve uma redução da concentração de noradrenalina (NE) quando comparado ao controle [cont.: $2324 \pm 110,8$ (7); CH200: $1929 \pm 36,26$ (8), $p < 0,01$]. Com relação a 5-HT e seus metabólitos foi observado que o chabá reduziu a concentração de serotonina (**Figura 4.12**), entretanto não alterou, significativamente, a concentração de seu metabólito 5-HIAA (**Figura 4.13**), quando comparados aos seus respectivos grupos controle: 5-HT [cont.: $56,67 \pm 6,52$ (7); CH200: $35,03 \pm 1,92$ (7), $p < 0,05$]; 5-HIAA [cont.: $282,0 \pm 27,99$ (7); CH200: $241,3 \pm 22,16$ (7), $p \geq 0,05$].

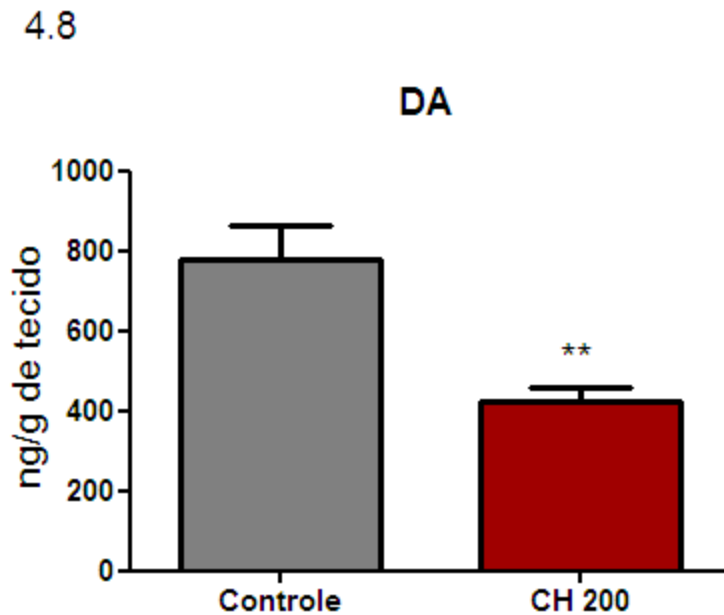


FIGURA 4.8 – Determinação da concentração de DA em córtex pré-frontal após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do córtex pré-frontal. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (DA = dopamina). As barras representam a média \pm EPM de 7-9 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test. Valores significativos: ** $p < 0,01$ vs controle.

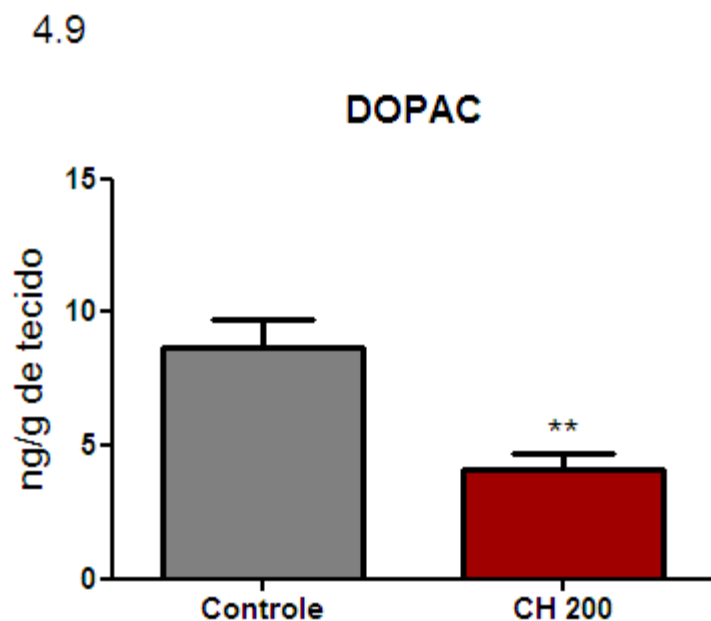


FIGURA 4.9 – Determinação da concentração de DOPAC em córtex pré-frontal após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do córtex pré-frontal. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (DOPAC = ácido diidrofenil acético). As barras representam a média \pm EPM de 7-9 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test . Valores significativos: ** $p < 0,01$ vs controle.

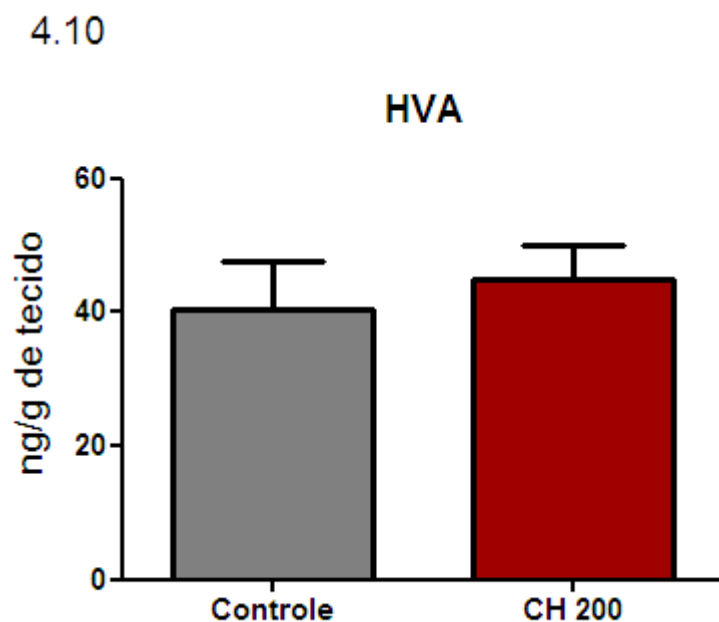


FIGURA 4.10 – Determinação da concentração de HVA em córtex pré-frontal após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do córtex pré-frontal. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (HVA = ácido homovalínico). As barras representam a média \pm EPM de 5-8 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test.

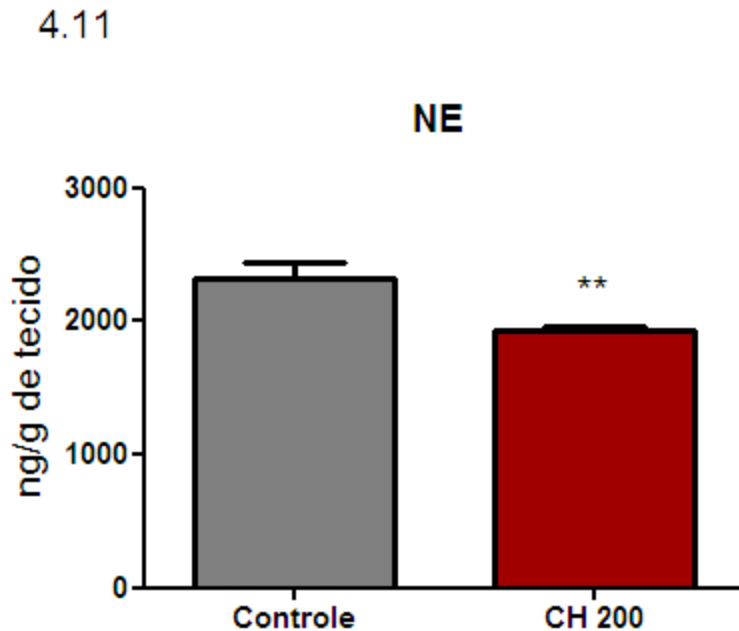


FIGURA 4.11 – Determinação da concentração de NE em córtex pré-frontal após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do córtex pré-frontal. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (NE = noradrenalina). As barras representam a média \pm EPM de 5-8 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test. Valores significativos: ** $p < 0,01$ vs controle.

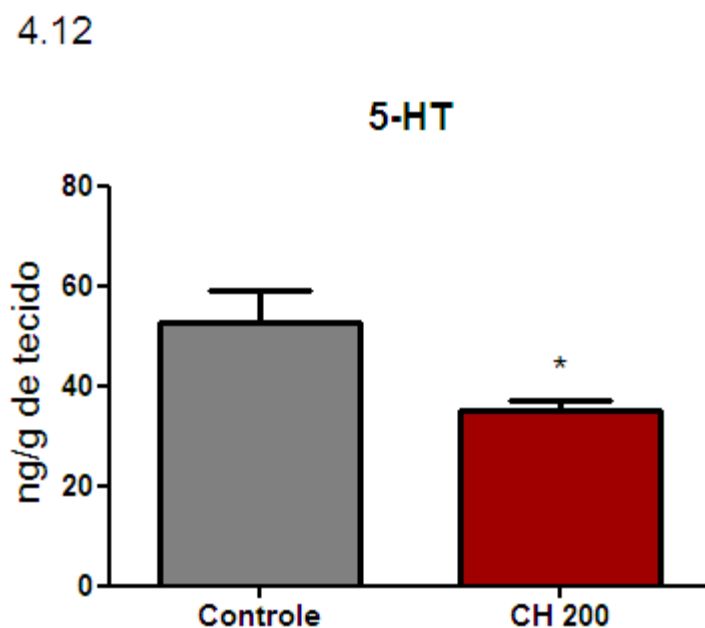


FIGURA 4.12 – Determinação da concentração de 5-HT em córtex pré-frontal após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do córtex pré-frontal. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (5-HT = serotonina). As barras representam a média \pm EPM de 5-8 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test. Valores significativos: * $p < 0,05$ vs controle.

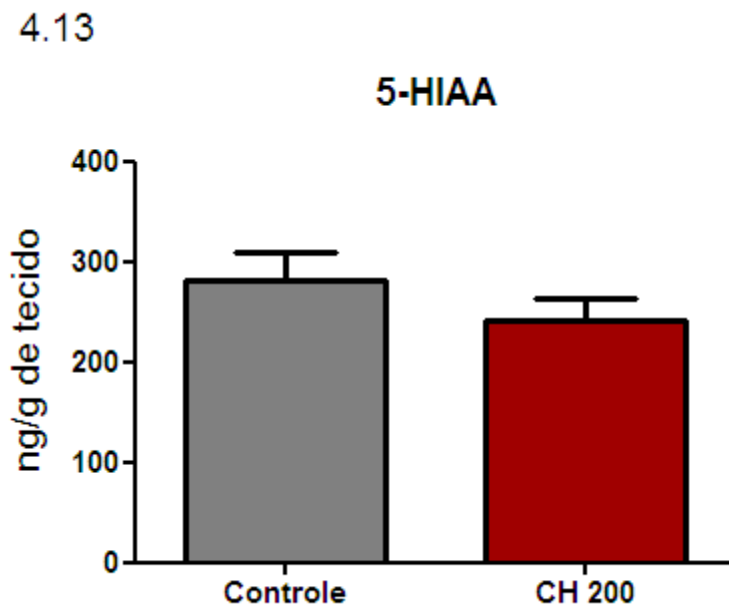


FIGURA 4.13 – Determinação da concentração de 5-HIAA em córtex pré-frontal após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do córtex pré-frontal. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (5-HIAA = ácido 5-hidroxiindolacético). As barras representam a média \pm EPM de 5-8 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test.

4.4.2 Hipocampo

A **Figura 4.14** mostra que o tratamento agudo por via oral do extrato padronizado de na dose de 200 mg/Kg não alterou, significativamente, as concentrações de dopamina (DA) e seu metabólito (DOPAC) (**Figura 4.15**) quando comparados aos seus respectivos controles: DA [cont.: $659,4 \pm 113,5$ (5); CH200: $478,7 \pm 81,63$ (7), $p \geq 0,05$]; DOPAC [cont.: $83,07 \pm 18,11$ (6); CH200: $45,51 \pm 9,29$ (7), $p \geq 0,05$]. Ocorreu um aumento da concentração de HVA (**Figura 4.16**) quando comparado ao controle [cont.: $875,5 \pm 84,58$ (5); CH200: $3190 \pm 448,5$ (6), $p < 0,01$].

Com relação à concentração de noradrenalina (NE), a **Figura 4.17** demonstra que ocorreu uma redução quando comparado ao controle [cont.: $1654 \pm 114,4$ (6); CH200: $1271 \pm 103,6$ (8), $p < 0,05$].

A análise dos resultados mostrou que não houve alteração da concentração de 5-HT quando comparado ao controle (**Figura 4.18**) [cont.: $27,57 \pm 10,23$ (6); CH200: $35,94 \pm 13,04$ (7), $p \geq 0,05$]. Ocorreu um aumento da concentração de seu metabólito 5-HIAA quando comparado ao controle (**Figura 4.19**): 5-HIAA [cont.: $366,1 \pm 33,87$ (7); CH200: $1464 \pm 79,21$ (7), $p < 0,001$].

4.14

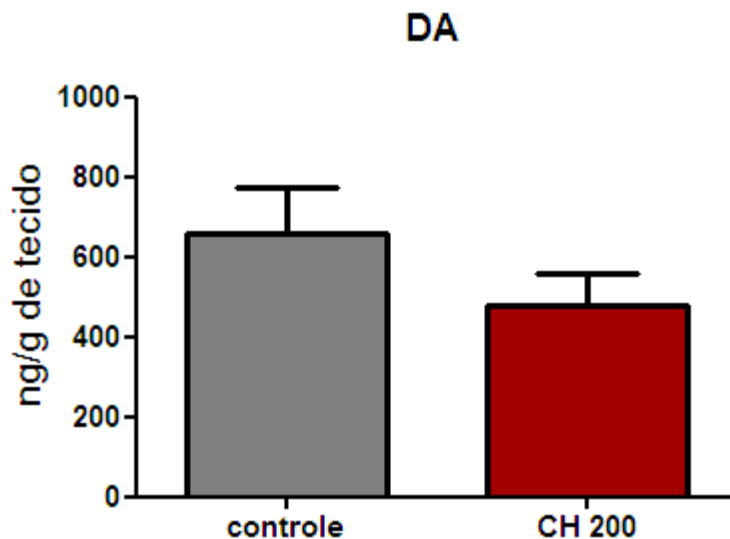


FIGURA 4.14 – Determinação da concentração de DA em hipocampo após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do hipocampo. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (DA= dopamina). As barras representam a média \pm EPM de 5-8 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test de Student.

4.15

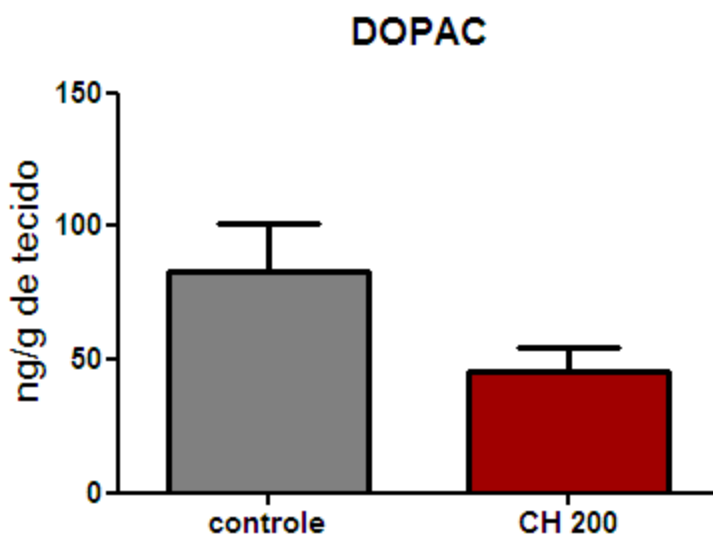


FIGURA 4.15 – Determinação da concentração de DOPAC em hipocampo após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do hipocampo. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (DOPAC = ácido diidrofenoil acético). As barras representam a média \pm EPM de 7-9 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test de Student.

4.16

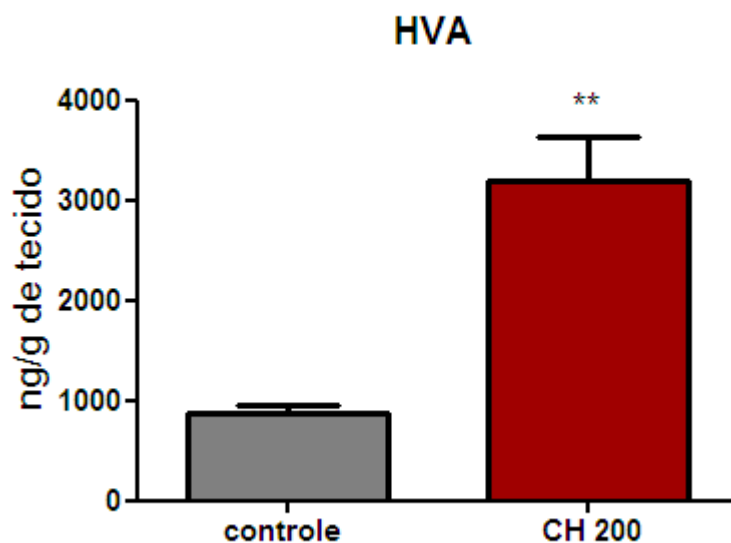


FIGURA 4.16 – Determinação da concentração de HVA em hipocampo após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do hipocampo. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (HVA = ácido homovalínico). As barras representam a média \pm EPM de 5-7 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test . Valores significativos: ** $p < 0,01$ vs controle.

4.17

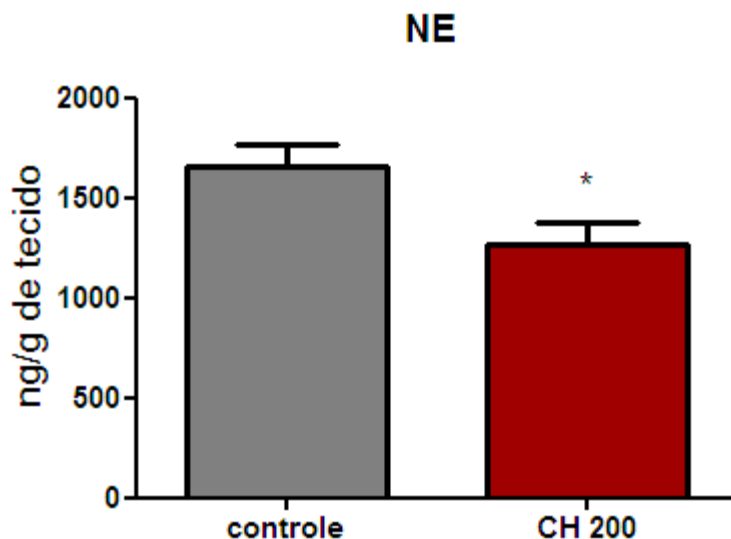


FIGURA 4.17 – Determinação da concentração de NE em hipocampo após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do hipocampo. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (NE = noradrenalina). As barras representam a média \pm EPM de 7-9 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test . Valores significativos: * $p < 0,05$ vs controle.

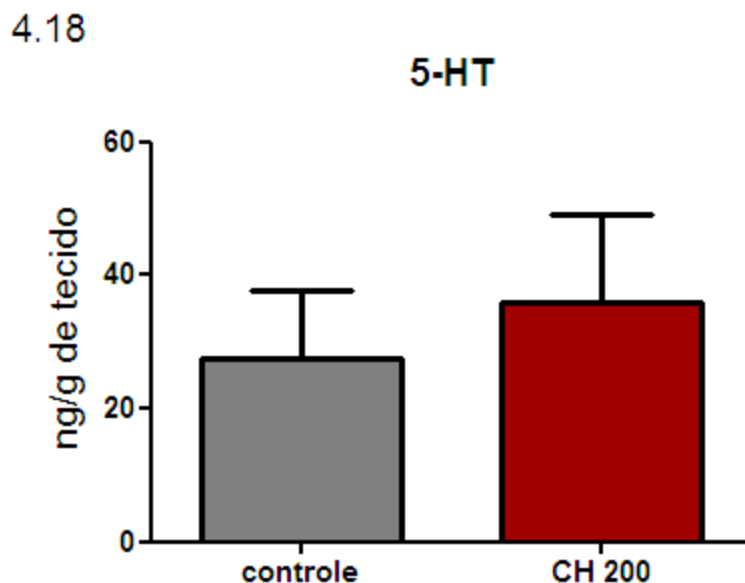


FIGURA 4.18 – Determinação da concentração de 5-HT em hipocampo após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do hipocampo. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (5-HT = serotonina). As barras representam a média \pm EPM de 7-9 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test.

4.19

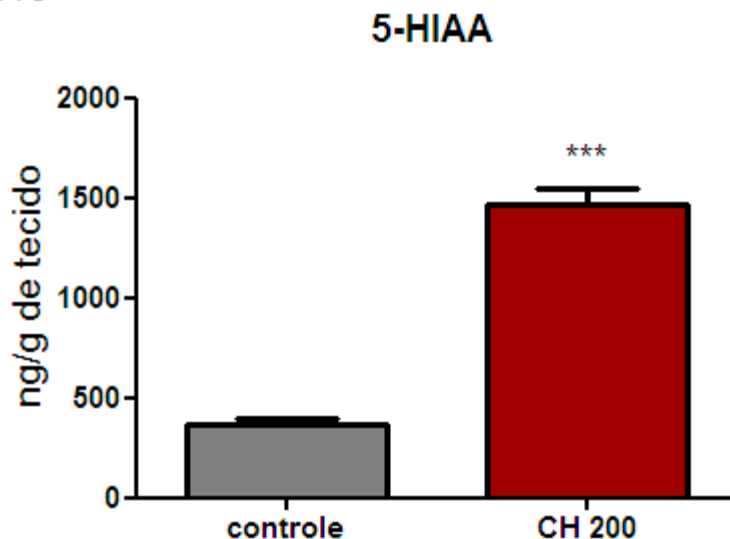


FIGURA 4.19 – Determinação da concentração de 5-HIAA em hipocampo após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do hipocampo. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (5-HIAA = ácido 5-hidroxiindolacético). As barras representam a média \pm EPM de 7-9 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test . Valores significativos: *** $p < 0,001$ vs controle.

4.4.3 Corpo Estriado

Chambá reduziu as concentrações de DA (**Figura 4.20**) e de seus metabólitos DOPAC (**Figura 4.21**) e HVA (**Figura 4.22**) quando comparados aos seus respectivos controles: DA [cont.: $1821 \pm 147,5$ (6); CH200: $832,9 \pm 97,49$ (7), $p < 0,001$]; DOPAC [cont.: $2658 \pm 226,7$ (8); CH200: $1596 \pm 175,8$ (6), $p < 0,001$]; HVA [cont.: $973,6 \pm 98,94$ (7); CH200: $472,8 \pm 55,28$ (8), $p < 0,001$].

Não foi observada alteração na concentração de noradrenalina comparada ao controle (**Figura 4.23**) [cont.: $1777 \pm 115,5$ (8); CH200: $1969 \pm 89,71$ (7), $p \square 0,05$].

Com relação as concentrações de 5-HT e seu metabólito, foi observado que o chambá não alterou a concentração de serotonina em relação ao controle (**Figura 4.24**), entretanto aumentou a concentração de 5-HIAA (**Figura 4.25**) quando comparado ao controle: 5-HT [cont.: $991,5 \pm 133,8$ (7), $p \square 0,05$]; 5-HIAA [cont.: $314,5 \pm 22,94$ (8); CH200: $1467 \pm 150,3$ (6), $p < 0,001$].

4.20

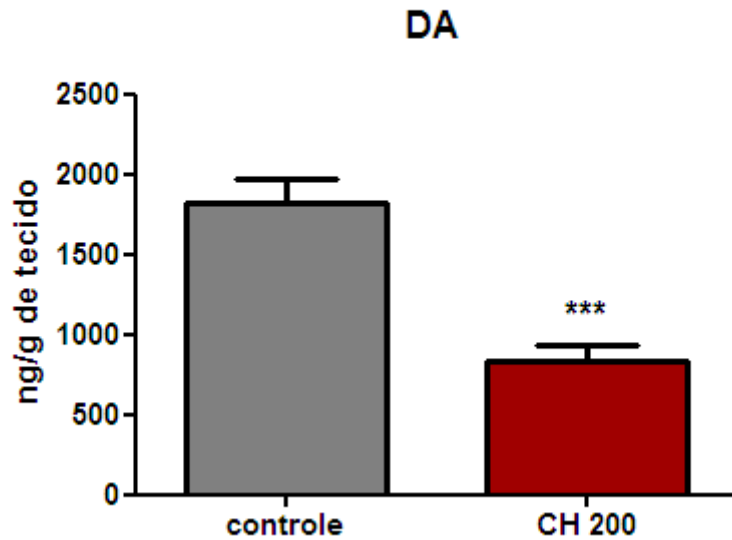


FIGURA 4.20 – Determinação da concentração de DA em corpo estriado após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do corpo estriado. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (DA = dopamina). As barras representam a média \pm EPM de 7-9 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test . Valores significativos: *** $p < 0,001$ vs controle.

4.21

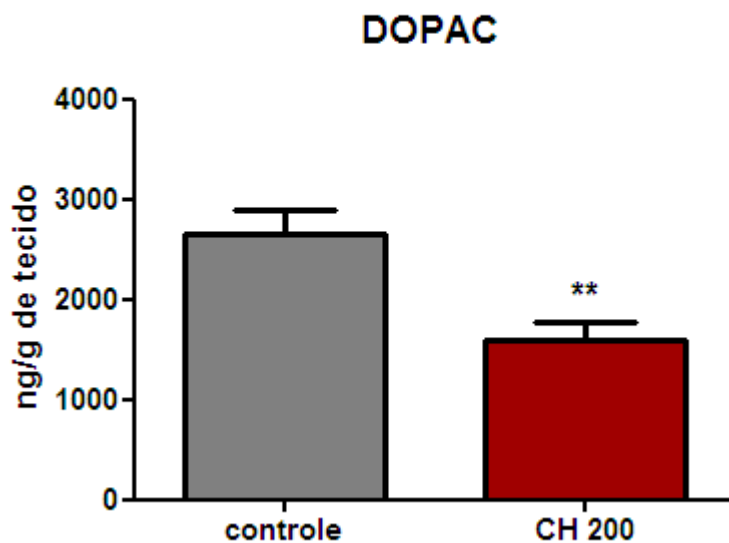


FIGURA 4.21 – Determinação da concentração de DOPAC em corpo estriado após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do corpo estriado. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (DOPAC = ácido diidrofenil acético). As barras representam a média \pm EPM de 7-9 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test . Valores significativos: ** $p < 0,01$ vs controle.

4.22

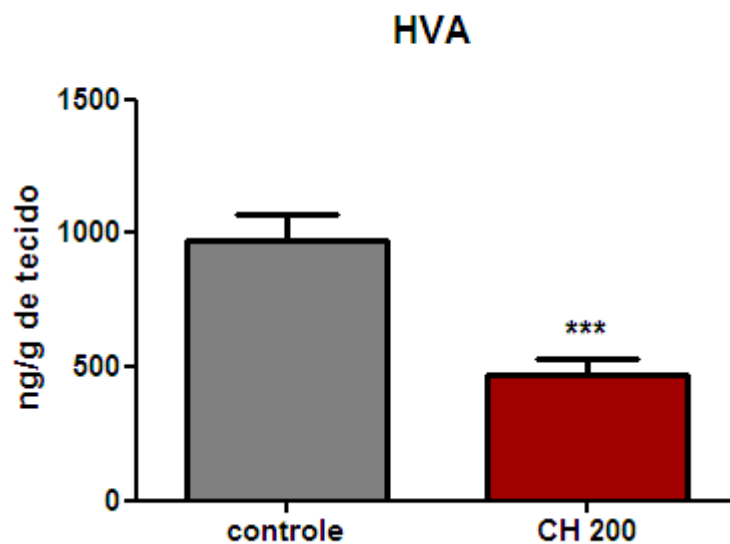


FIGURA 4.22 – Determinação da concentração de HVA em corpo estriado após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do corpo estriado. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (HVA = ácido homovalínico). As barras representam a média \pm EPM de 7-9 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test . Valores significativos: *** $p < 0,001$ vs controle.

4.23

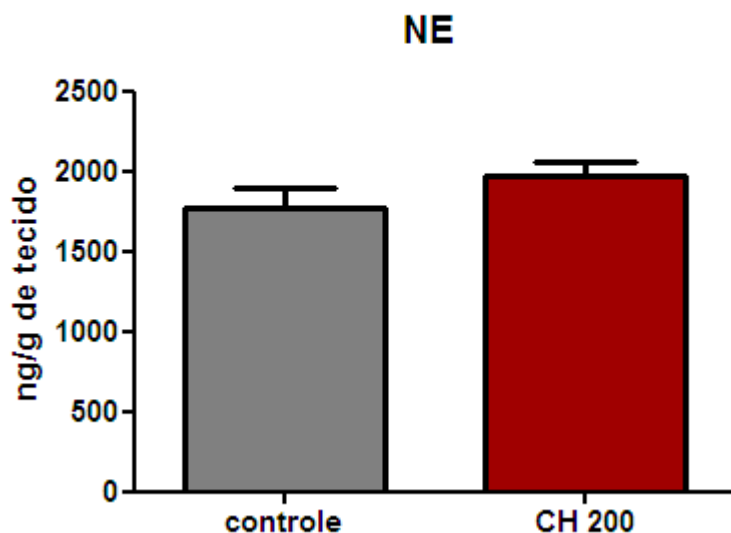


FIGURA 4.23 – Determinação da concentração de NE em corpo estriado após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do corpo estriado. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (NE = noradrenalina). As barras representam a média \pm EPM de 7-9 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test .

4.24

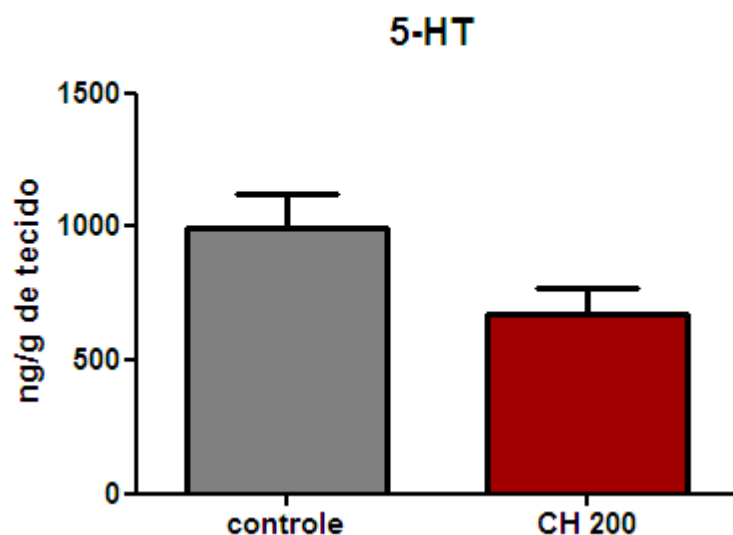


FIGURA 4.24 – Determinação da concentração de 5-HT em corpo estriado após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do corpo estriado. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (5-HT = serotonina). As barras representam a média \pm EPM de 7-9 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test .

4.25

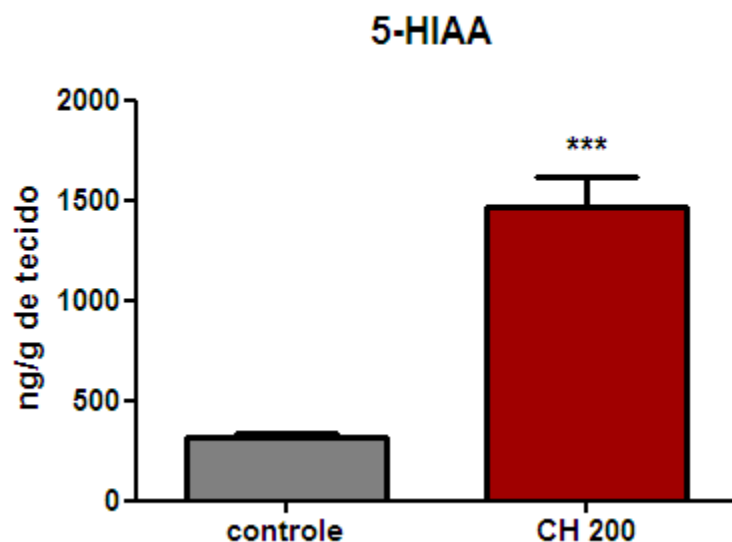


FIGURA 4.25 – Determinação da concentração de 5-HIAA em corpo estriado após o tratamento agudo com chambá 200 mg/Kg em camundongos.

Controle (veículo), chambá (CH 200 mg/Kg, v.o.) foram administrados. Os animais foram sacrificados e dissecados 60 minutos após os tratamentos para a retirada do corpo estriado. A determinação das monoaminas foi realizada pela técnica HPLC com detecção eletroquímica. (5-HIAA = ácido 5-hidroxiindolacético). As barras representam a média \pm EPM de 7-9 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizado t test. Valores significativos: *** $p < 0,001$ vs controle.

DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

Neste estudo, os efeitos do extrato aquoso padronizado da *Justicia pectoralis* (Chambá), contendo cumarina e umbeliferona como principais constituintes, foram observados em vários modelos animais de comportamento, como labirinto em cruz elevado (plus maze), claro/escuro, campo aberto, barra giratória (rota rod), nado forçado, suspensão da cauda, tempo de sono e convulsões induzidas por pentilenotetrazol. Estes testes são modelos clássicos para *screening* de atividades sobre o sistema nervoso central (SNC) em animais e fornecem informações como desempenho psicomotor, locomoção, atividade relaxante muscular, ansiolítica, antidepressiva, sedativa/hipnótica e anticonvulsivantes.

Nos modelos animais de ansiedade labirinto em cruz elevado e claro/escuro, o efeito do Chambá foi comparado ao do Diazepam na dose de 1 mg/Kg. Assim como, a mesma dose do diazepam foi utilizada como controle positivo nos testes tempo de sono induzido por pentobarbital e convulsão induzida por pentilenotetrazol. No campo aberto e rota rod, testes que avaliam o relaxamento muscular do animal, a dose do Diazepam utilizada em comparação ao Chambá foi de 2 mg/Kg. Para a avaliação da atividade antidepressiva nos modelos nado forçado e suspensão da cauda, utilizou-se imipramina 10 e 30 mg/Kg, respectivamente, em comparação aos efeitos do Chambá.

O labirinto em cruz elevado (LCE) é um dos principais modelos animais utilizados no estudo da ansiedade, pois se baseia no comportamento espontâneo da aversão ao ambiente causado pelo medo e ansiedade induzido pelo espaço aberto (TREIT et al., 1993), iluminado e alto (BUSH et al, 2007) O modelo utilizado atualmente foi validado comportamental, fisiológica e farmacologicamente, para ratos, por Pellow e colaboradores (1985) e, para camundongos, por Lister (1987). A grande utilização do teste é atribuída a sua simplicidade e, mais importante, ao fato de que o comportamento relacionado a ansiedade dos benzodiazepínicos é um método reproduzido mundialmente em laboratórios (BARBOSA et al, 2008). É conhecido que drogas ansiolíticas, como os benzodiazepínicos, e ansiogênicas, antagonista dos receptores

benzodiazepínicos, aumentam e reduzem, respectivamente, a exploração aos braços abertos (HANDLEY, MITHANI, 1984).

Como esperado, o diazepam produziu um significativo aumento dos parâmetros analisados, ou seja, número de entrada nos braços abertos (NEBA), percentagem de entrada nos braços abertos (PEBA), tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) e percentagem do tempo de permanência nos braços abertos (PTBA). Esses dados são similares aos encontrados em outros estudos, no qual diazepam e outros benzodiazepínicos produzem um robusto efeito ansiolítico em vários outros modelos animais de ansiedade (RABBANI et al., 2008).

A alteração comportamental observada após a administração aguda e oral do extrato padronizado de *Justicia pectoralis* no modelo labirinto em cruz elevado mostrou que o Chambá reduziu a aversão aos braços abertos, pois aumentou todos parâmetros observados com as doses 100 e 200 mg/Kg. Já o chambá na dose de 50 mg/Kg aumentou os parâmetros observados, com exceção da percentagem de entrada nos braços abertos (PEBA). Foi visto que o Chambá aumentou significativamente o número de entrada nos braços abertos, assim como, o tempo de permanência nos braços abertos, sugerindo um efeito ansiolítico similar ao do diazepam. De acordo com Ariza et al.(2007), a cumarina produz um significativo efeito, comparado ao obtido com o diazepam neste teste. Isso demonstra que compostos cumarínicos possuem atividade ansiolítica baseada nos modelos comportamentais utilizados.

Agentes ansiolíticos aumentam e agentes ansiogênicos reduzem a entrada e o tempo gasto nos braços abertos do labirinto em cruz elevado (PELLOW et al., 1985). De fato, trabalhos anteriores mostram que o flumazenil, antagonista competitivo do receptor GABA_A/Benzodiazepínico, preveniu os efeitos ansiolíticos do diazepam no LCE (KURIBARA, MARUYAMA, 1996; KURIBARA et al., 1998; LUSCOMBE et al., 1991). Com a finalidade de investigar o mecanismo de ação do efeito ansiolítico do chambá, foi utilizado o flumazenil para avaliar o possível envolvimento do sistema gabaérgico. Para tanto, foi escolhido o teste do LCE, por ser mais sensível para testar drogas ansiolíticas do tipo benzodiazepínicas (PELLOW et al. 1985; RODGERS et al. 1997). Os resultados mostraram que o flumazenil reverteu o efeito ansiolítico do chambá em todos os parâmetros analisados, do mesmo modo que reverteu os

efeitos do diazepam (LUSCOMBE et al., 1991), sugerindo assim, que o chambá apresenta efeito ansiolítico, e, este efeito parece estar relacionado com o sistema gabaérgico, mais especificamente envolvido com os receptores GABAA/Benzodiazepínico.

Para corroborar com os resultados encontrados no modelo labirinto em cruz elevado foi realizado o teste claro/escuro, no qual é observado o tempo de permanência do animal no *box* claro. Estudos realizados por Imaizumi et. al., (1984a,b) demonstraram que substâncias ansiolíticas aumentam a locomoção e o tempo de permanência no *box* claro, enquanto substâncias ansiogênicas diminuem esses parâmetros, e os animais que permanecem mais tempo no *box* escuro, aumentam o tempo de permanência no *box* escuro, com marcada redução desses parâmetros no *box* claro (SHIMADA et a., 1995). Com base nestes estudos, e em informações de que a expressão de um estado ansiolítico em animais pode ser refletido por um aumento do tempo de permanência no *box* claro, os resultados deste estudo forneceram evidências de que o chambá apresentou um efeito ansiolítico, já que todas as doses utilizadas aumentaram o parâmetro observado.

Outros testes de ansiedade também podem ser utilizados para investigar a atividade ansiolítica de substâncias, como exemplo, a interação social em camundongos, no qual a agressividade é o parâmetro observado (FILE, HIDE, 1978). De acordo com este teste, Chanfrau et al.(2008), também confirmou a atividade ansiolítica da *Justicia pectoralis*.

Muitos modelos animais de ansiedade tem sido desenvolvidos com base na sua sensibilidade aos benzodiazepínicos. No entanto, altas doses podem induzir sedação, causar uma significativa redução dos parâmetros observados (CRAWLEY, 1981) e resultar em falso-positivo/negativo nos modelos de ansiedade. Portanto, para verificar a relação do efeito ansiolítico do chambá com alteração da atividade locomotora foi realizado o teste campo aberto (TREIT, FUNDYTUS, 1989).

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,

rearing e *grooming* em roedores, observados no campo aberto, são os parâmetros comportamentais mais usados para descrever influências dos eventos da vida ou da administração de drogas (MONTGOMERY, 1958; ARAKAWA, IKEDA, 1991; REX et al., 1996). O modelo de campo aberto possibilita discutir a especificidade do efeito de uma droga, caso ela seja estimulante, sedativa, ansiolítica ou ansiogênica (LISTER, 1987)

Dados na literatura demonstraram que a redução na atividade locomotora espontânea dá uma indicação do nível de excitabilidade do sistema nervoso central (MANSUR et al., 1971), e, esta redução pode estar relacionada com a sedação resultante da depressão do sistema nervoso central (OZTURK et al., 1996; PEREZ et al., 1998). No presente estudo, o chambá não alterou a atividade locomotora dos animais, em todas as doses utilizadas, não apresentando efeito sedativo no campo aberto. O diazepam, na dose de 2 mg/kg, diminuiu a atividade locomotora mostrando seu efeito sedativo. Isso mostra que a atividade ansiolítica do chambá não está relacionada com a atividade motora.

Em alguns estudos o *rearing* tem sido focalizado como um aspecto de comportamento exploratório (JOHANSSON, AHLENIUS, 1989), embora outros trabalhos relatem que agentes ansiolíticos diminuem o número de *rearing* (HUGHES, 1972; STOUT, 1994). Na literatura é referido que o aumento de *grooming* é observado em roedores apreensivos (ARCHER, 1973), e em um grande número de estudos, pesquisadores observaram que drogas ansiolíticas reduzem o *grooming* no campo aberto (DUNN et al., 1981; MOODY et al., 1993; BARROS et al., 1994). Neste estudo, não houve alteração no *rearing* e *grooming* no campo aberto, com o chambá nas doses utilizadas no experimento. O diazepam, na dose de 2 mg/kg, diminuiu o *rearing* e *grooming*.

A coordenação motora é um comportamento complexo e pode refletir equilíbrio, força muscular e alterações na deambulação. Dificuldades na *performance* motora podem prejudicar a realização de testes comportamentais. O teste da barra giratória rota *rod* foi proposto por Dunham & Miya, (1957). Este mede o efeito de relaxamento muscular ou incoordenação motora (CARLINI, BURGOS, 1979; SEDELIS et al., 2001). Nesse caso, quanto mais intenso for o efeito, menor será o tempo em que o animal consegue se equilibrar sobre a barra. Ressalta-se, no

entanto, que se trata de um método não-específico, uma vez que mede indistintamente, efeitos neurológicos, estimulantes e depressores sobre a coordenação motora, aos quais também é atribuído o termo neurotoxicidade (DALLMEIER, CARLINI, 1981). O chambá não alterou a coordenação motora no teste do rota *rod*, nas doses utilizadas, diferenciando-se do diazepam 2 mg/kg (droga ansiolítica que nesta dose apresenta efeito relaxante muscular), que aumentou o número de quedas e diminuiu o tempo de permanência na barra. Estes resultados sugerem que as ações do chambá não são exercidas através do bloqueio neuromuscular periférico, mas sim provocados centralmente (PEREZ et al., 1998; AMOS et al., 2001).

Acredita-se que o estresse e a depressão são fenômenos inter-relacionados. O estresse é tipicamente implicado na etiologia das desordens depressivas ou como uma consequência delas (LLOYD, 1980; ANISMAN, ZACHARKO, 1982; BROWN, 1993; SHERRILL et al., 1997; TURNER, LLOYD, 1999). 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. Os dois modelos animais amplamente utilizados para *screening* de novas drogas antidepressivas são os testes do nado forçado e da suspensão da cauda. Esses testes são bastante sensíveis e relativamente específicos para a maioria das classes de drogas antidepressivas, incluindo, os antidepressivos tricíclicos, os inibidores seletivos da recaptação de serotonina, os inibidores da MAO (monoamina oxidase) e os atípicos (STERU et al., 1985; DETKE et al., 1995; PORSOLT et al., 1987;).

O fenômeno comportamental observado nos testes parece ser resultado da exposição a uma situação inescapável, onde o animal divide seu comportamento em períodos de atividade vigorosa (tentativa para escapar) e de imobilidade (comportamento de espera) (STERU et al., 1985). No teste do nado forçado, o animal é colocado em um recipiente com água onde é impossível escapar, já no modelo de suspensão da cauda, o animal é preso pela cauda onde, também, não há forma de sair dessa situação. Embora a relação entre imobilidade (uma postura mantida que reflete um estado de “desespero comportamental” no qual o animal é rendido pelo desejo de escapar) e depressão sejam controversas (GARDIER et al., 2001), é bem demonstrado que drogas com atividade depressiva aumentam o tempo de imobilidade do animal (PORSOLT et al., 1987; FERNANDEZ-TERUEL et al., 1990). O teste do nado forçado é mais sensível que o

teste da suspensão da cauda em detectar drogas com atividade antidepressiva, visto que, doses menores de drogas, como a imipramina, são suficientes para apresentar um efeito antidepressivo no nado forçado (PORSOLT et al., 1987).

Foi observado que chambá aumentou o tempo de imobilidade em ambos os testes. Os resultados também mostraram que a imipramina (inibidor da recaptação de noradrenalina e serotonina) usada como padrão positivo nos testes do nado forçado e suspensão da cauda, também diminuiu o tempo de imobilidade dos animais, corroborando com os estudos que mostram a sensibilidade destes testes às várias doses de drogas antidepressivas (KULKARNI, DHIR, 2007). Os resultados deste estudo forneceram evidências de que o chambá apresentou um efeito depressor, uma vez que houve um aumento no tempo de imobilidade em ambos os testes realizados.

Sabe-se que as cumarinas apresentam atividade antidepressiva (PEREIRA et al., 2009; CHEN et al., 2005), portanto, esperava-se que o chambá, extrato padronizado tendo cumarinas como principais constituintes, também apresentasse esse efeito. A atividade depressora observada nos modelos comportamentais pode sugerir que as doses utilizadas não forneceram a quantidade de cumarina necessária para desencadear efeito antidepressivo. Em outra questão, o extrato foi administrado de forma aguda e, assim como ocorre com a maioria dos fármacos antidepressivos, o efeito do extrato do chambá poderia ser evidenciado após vários dias, necessitando para isso que fosse realizado um tratamento subcrônico, ou até mesmo, crônico nos animais.

Bem como os dois fatores acima descritos há também a possibilidade de que a metodologia utilizada para o preparo do extrato padronizado não tenha extraído quantidades suficientes de cumarina, necessitando, para tal fim, um aprimoramento da técnica.

O teste do tempo de sono induzido por pentobarbital permite verificar a atividade sedativa/hipnótica de uma substância, considerando o efeito sinérgico, ou seja, quando duas drogas que possuem o mesmo efeito são utilizadas juntas espera-se a potencialização do efeito, no caso deste modelo, o tempo de sono. Portanto, o princípio deste teste é verificar se uma droga

possui a capacidade de potencializar o efeito sedativo e hipnótico do pentobarbital sódico (RILEY, SPINKS, 1958).

Os resultados do chambá mostraram que houve uma diminuição da latência do sono na dose de 200 mg/Kg, e não houve nenhuma alteração na duração do sono com nenhuma das doses utilizadas. A literatura afirma que a diminuição da latência e o aumento na duração do sono são típicos de drogas depressoras do SNC (WILLIANSOON et al., 1996). Com base nas análises dos modelos comportamentais antidepressivos observou-se que o chambá apresentou atividade depressora do sistema nervoso central, mas não causa sedação ou hipnose. Neste experimento, a ausência de efeito sedativo/hipnótico do chambá foi corroborada no teste do campo aberto, no qual os animais tratados com chambá, em todas as doses, não tiveram alteração da atividade locomotora espontânea.

O pentilenotetrazol (PTZ) induz convulsões que são semelhantes aos sintomas observados nas crises de ausência, e fármacos utilizados no tratamento desse tipo de convulsão suprimem as crises geradas pelo PTZ (MARESCAUX et al., 1984). As convulsões do tipo tônico-clônica generalizadas podem ser estudadas através de modelos que utilizem a administração sistêmica de substâncias químicas convulsivantes, muito usadas no *screening* de drogas anticonvulsivantes (SWINYARD, 1949; SWINYARD et al., 1952).

O método de induzir convulsões através da administração de pentilenotetrazol (PTZ) é bastante utilizado na triagem de drogas anticonvulsivantes (LOWSON et al., 1991). Os efeitos do PTZ são largamente mediados pelo receptor GABA_A, embora o mecanismo de bloqueio do receptor pelo PTZ ainda não esteja esclarecido. Sabe-se que o PTZ age via sítio picrotoxina (situado no interior do canal de cloreto) no complexo receptor GABA_A-benzodiazepínico-canal de cloreto, reduzindo o influxo de íons cloreto (JUNG et al., 2002; HANSEN et al., 2004).

O diazepam, utilizado como padrão positivo nos experimentos, aumentou a latência da convulsão e obteve 100% e sobrevivência dos animais. O chambá não alterou a latência para a primeira convulsão em nenhuma das doses utilizadas. O tempo para a morte também não foi alterado por nenhuma dose de chambá.

A análise da concentração de noradrenalina (NE), serotonina (5-HT), dopamina (DA) e seus respectivos metabólitos no córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado dos animais tratados com o extrato padronizado de *Justicia pectoralis* (chambá) mostrou que, de maneira geral, o chambá alterou, resultando em redução das concentrações de monoaminas, bem como de seus metabólitos, nas regiões cerebrais utilizadas. Esses resultados confirmam a atividade depressora do extrato, determinada após a análise dos modelos animais comportamentais de depressão.

Acredita-se que as monoaminas estejam envolvidas na patogenia de muitas doenças mentais. Sabe-se da participação da dopamina na psicose, pois muitos fármacos antipsicóticos bloqueiam receptores dopaminérgicos (SEEMAN, 1987), já a serotonina está envolvida em muitos distúrbios neuróticos, incluindo ansiedade, distúrbios do pânico (AGHAJANIAN, 1994) e depressão (COHEN, 1995) e, por fim, vários estudos experimentais e clínicos indicaram que o sistema noradrenérgico está envolvido na fisiopatologia da depressão (FRAZER, 2000; NUTT, 2006). O tratamento da depressão depende do entendimento da fisiopatologia e do mecanismo pelo qual os fármacos antidepressivos atuam. O distúrbio depressivo foi reconhecido, inicialmente, como um fenômeno bioquímico (SCHILDKRAUT, 1965) e desde a aceitação da teoria monoaminérgica acredita-se que a depressão é devido a uma deficiência da atividade das monoaminas biógenas (SVENSSON, 2000; BRUNELLO et al., 2002; HENSLER, 2003; BLIER, WARD, 2003).

Após vários anos de estudo sobre o mecanismo envolvido na depressão um grande número de evidências reforça a idéia do importante papel das monoaminas no evento depressivo. Sabe-se que fármacos antidepressivos de diferentes grupos químicos atuam em vários sítios modificando de forma aguda os níveis de monoaminas nas sinapses. Por outro lado, drogas que causam depleção dos níveis de monoaminas podem induzir depressão (GOODWIN, BUNNEY, 1971).

Vários pesquisadores tem tentado estabelecer uma relação entre as estruturas límbicas e o sistema monoaminérgico para explicar as reações de defesa dos indivíduos frente a situações

estressantes e perigosas (HARRO, ORELAND, 2001; LE DOUX, 2000). Alterações na mediação monoaminérgica destes circuitos límbicos tem sido usados no estudo da neurobiologia da ansiedade. Por exemplo, alterações nos sistemas monoaminérgicos de estruturas que se comunicam com o núcleo *accumbens*, como o córtex pré-frontal, devem contribuir ao surgimento dos sintomas de alguns tipos de desordens da ansiedade, como a Desordem do Estresse Pós-Traumático e Depressão (CHROUSOS, GOLD, 1992; POST, 1992; CHARNEY et al., 1993; SOUTHWICK et al., 1993; GOLDSTEIN et al., 1994, 1996).

Foi sugerido que a falta de noradrenalina e/ou serotonina na fenda sináptica é a base neurológica para a depressão (PRANGE, 1964; BUNNEY, DAVIS, 1965; SCHILDKRAUT, 1965; COPPEN, 1967; LAPIN, OXENKRUG, 1969). Essa teoria sempre encontrou dificuldades para ser consolidada, pois o efeito das drogas antidepressivas somente é evidenciado após algumas semanas do início do tratamento. Após a realização dos trabalhos de Vetulani e Sulser (1975), pesquisadores desviaram a atenção sobre o efeito imediato dos antidepressivos com relação à concentração de monoaminas na fenda sináptica para alterações nas características e funções dos receptores (BAKER, GREENSHAW, 1989). Alterações em receptores dos neurotransmissores foram encontradas em suicidas vítimas de depressão, no entanto, isso é interpretado em termos de uma redução dos níveis de monoaminas (MANN et al., 1986; LEONARD, 2000,).

A maior inervação noradrenérgica do cérebro, incluindo todas as sinapses noradrenérgicas no córtex cerebral e hipocampo é originada do núcleo do *locus coeruleus*. A participação da noradrenalina na fisiopatologia da depressão é baseada na evidência demonstrada de que a ativação do *locus coeruleus* é ansiogênico em primatas (REDMOND, 1987; SINGEWALD, SHARP, 2000).

Alguns estudos relatam que vítimas suicidas (ARANGO, 1996) ou pacientes depressivos (BAUMANN, 1999) apresentam uma redução no número de neurônios noradrenérgicos no locus coeruleus. Trabalhos mostram que drogas que afetam a transmissão noradrenérgica, como as que inibem a recaptação de noradrenalina nos terminais nervosos, ou seu metabolismo (inibidores da MAO), são efetivas na depressão (DENCKER, 2000).

Estudos recentes utilizando uma nova técnica de mensuração veno-arterial de concentração de gradientes para avaliar o nível de monoaminas observou que a liberação de NA estava marcadamente reduzida em pacientes depressivos (LAMBERT et al., 2000). Dessa forma, estudos em humanos implicam o envolvimento do sistema noradrenérgico na fisiopatologia da depressão, e esta visão é consistente com os efeitos dos antidepressivos em animais. Não há evidência consistente sobre o mecanismo específico, mas está claro que a alteração da atividade dos neurônios noradrenérgicos está envolvida na ação de drogas antidepressivas.

O crescente interesse no papel da serotonina na psiquiatria nos últimos anos é, provavelmente, devido aos estudos que comprovam que pacientes depressivos apresentam alteração do conteúdo neural de serotonina e, principalmente, após a demonstração de que inibidores altamente seletivos da recaptação de serotonina são antidepressivos bastante efetivos (OWENS, NEMEROFF, 1994).

Consideráveis evidências tem sustentado a hipótese de que alterações na função serotoninérgica no sistema nervoso central ocorrem em pacientes com depressão, como redução da concentração de serotonina em tecidos *postmortem* de pacientes depressivos e suicidas, e aumento da concentração de 5-HIAA, metabólito da serotonina. A primeira geração de antidepressivos efetivos clinicamente tem uma ação comum sobre os neurônios nora e serotoninérgico (ANGULO et al, 1991).

Maes e Meltzer (1995) afirmam que o papel da serotonina na depressão não está bem esclarecido, mas sabe-se que a alteração na atividade serotoninérgica está diretamente relacionada na patogênese ou evento fisiopatológico da depressão, ou seja, uma redução da concentração de 5-HT atua como um fator de vulnerabilidade na patologia (BRODY et al., 2000).

A dopamina foi a terceira amina biógena envolvida na teoria da depressão, pois verificou-se que o efeito depressor da reserpina também é atribuído a ação sobre a DA (RANDRUP, BRAESTRUP, 1977). Um outro argumento para o papel da DA na depressão é estabelecida pela co-ocorrência com a distúrbio de Parkinson (KAPPUR, MANN, 1992; TASSIN et al., 1998),

pois a incidência de depressão neste distúrbio, no qual é associado com a degeneração do sistema dopaminérgico nigroestriatal é muito alta (CUMMINGS, 1985) e o tratamento para o Parkinson com L-DOPA nem sempre alivia os sintomas da depressão nesses pacientes (CUMMINGS, 1985).

Além dos efeitos da dopamina sobre a locomoção e movimentos estereotipados, existem várias evidências farmacológicas e neuroquímicas dando suporte à hipótese de que a dopamina apresenta também um importante papel nas desordens afetivas. De fato, alguns estudos mostram que os metabólitos da dopamina estão reduzidos no fluido cerebrospinal de pacientes deprimidos (SEE et al., 1992) e a administração de agonistas dopaminérgicos melhora o humor em pacientes bipolar (JIMERSON, 1987). A idéia é corroborada pelo fato de que o estresse crônico reduz a liberação basal de dopamina, assim como leva à depressão, e de que drogas com ação antidepressiva tendem a facilitar a transmissão dopaminérgica (HARRO, ORELAND, 2001).

Estudos foram realizados sobre os efeitos dos antidepressivos no sistema dopaminérgico e observaram que muitas drogas com diferentes ações possuem a habilidade de melhorar a funcionalidade da neurotransmissão dopaminérgica nos sistemas mesoestriatais, mesolímbicos e mesocortical (PLAZNIK, KOSTOWSKY, 1987; DELINI-STULA et al., 1988; SERRA et al., 1990; TANDA et al., 1994). A exposição aguda ao evento causador de estresse produz uma alteração tempo-dependente bifásico na liberação de dopamina no sistema mesolímbico. O aumento inicial da liberação de DA, provavelmente está relacionado com a reação rápida ao evento inesperado (IMPERATO et al., 1993). No entanto, com a continuidade do evento desagradável há uma profunda redução da liberação de dopamina no *nucleus accumbens* (IMPERATO et al., 1993; GAMBARANA et al., 1999).

Já foi descrito que a depleção de DA no córtex pré-frontal de ratos e macacos está relacionada com o prejuízo da atenção seletiva, aumento da atividade motora espontânea, estereotipia comportamental e alteração do estado emocional, inclusive produzindo comportamentos ansiedade-símile (CARTER, PYCOK, 1980; LE MOAL, SIMON, 1991; BUBSER, KOCH, 1994; ESPEJO, 1997; LACROIX et al., 1998).

Em conjunto com estudos em humanos, esses resultados sugerem que a neurotransmissão dopaminérgica é reduzida na depressão, e que essa alteração, possivelmente, serve como base para a redução da energia e motivação do paciente deprimido (HARRO, ORELAND, 2001).

Baseado nesses estudos e sobre o conhecimento da interação entre os sistemas monoaminérgicos, Tassin et al.(1998) formulou a hipótese que sugere que todos os antidepressivos possuem como mecanismo primário de ação o re-estabelecimento da transmissão dopaminérgica em estruturas límbicas. Antidepressivos normalizam a alteração dopaminérgica e, isso pode ser um dos mecanismos de seu efeito terapêutico, mas essa ação é, também, mediada por outros sistemas de neurotransmissores.

Neurônios dopaminérgicos na substância negra *pars reticulata* (SNpr) e área tegmental ventral (ATV) tem vias descendentes para o núcleo da rafe dorsal, o maior foco de neurônios serotoninérgicos, e para o *locus coeruleus* (LC), o maior foco de neurônios noradrenérgicos. Isto mostra que as três catecolaminas são interconectadas (GUERCE, MILON, 1983), sugerindo que a alteração de uma monoamina produz modificações nas outras na mesma direção.

Considerando que a ação regulatória das monoaminas sobre o estado emocional em situações estressantes deva constituir um mecanismo subjacente à ação terapêutica dos antidepressivos, pode-se estabelecer uma relação entre os presentes resultados como o conceito de depressão.

A ansiedade é uma desordem emocional geralmente associada a depressão. Os sintomas da ansiedade coexistem com a depressão (KRAVITZ et al., 1990; BAKISH, 1999). A ansiedade generalizada e a social, assim como os ataques de pânico com depressão são comorbidades comuns na população geral (KESSLER, WITTCHEN, 1999). Van Praag et al., (1998) propôs que muitos casos de depressão são caracterizados por uma causalidade iniciada na ansiedade e, subseqüentemente, desencadeando um estado de depressão. A base biológica para esse desenvolvimento não está clara, mas a lógica é sustentada pela sequência finalizando com

depressão. Por isso, o tratamento com antidepressivos reduz primeiro a ansiedade e depois o retardo motor e quadro depressivo (KATZ et al., 1987; 1994).

Em modelos animais de ansiedade, o chambá mostrou ser promissor, pois, apresentou atividade ansiolítica, parecendo envolver, como descrito anteriormente, o receptor GABA_A/Benzodiazepínico. Nas doses utilizadas, o chambá mostrou atividade ansiolítica desprovida de efeitos sedativos. Esse resultado é bastante vantajoso, visto que a maioria dos fármacos ansiolíticos clássicos, como exemplo, os benzodiazepínicos, possui como efeito colateral a sedação. Da mesma forma, o fitoterápico *kava kava* (*Piper methysticum*), bastante utilizado como ansiolítico (LEBOT et al., 1997; PITTLER et al., 2000), também possui efeito sedativo, considerado indesejado, pois compromete a realização das atividades diárias do usuário.

Em modelos para verificar a atividade antidepressiva de drogas, o chambá apresentou efeito depressor, que foi confirmado com a determinação da concentração de monoaminas, supostamente envolvidas na patogenia da depressão. Como discutido, anteriormente, o efeito depressor do chambá pode ser atribuído a vários fatores, dentre eles, a dose fornecida aos animais, a duração do tratamento, bem como a metodologia de extração utilizada.

Este estudo fornece futuras evidências experimentais para a eficácia terapêutica do chambá, um extrato padronizado das partes aéreas da espécie *Justicia pectoralis* Jacq. var *stenophylla* Leonard em alguns distúrbios no sistema nervoso central. Estudos sobre a neurobiologia da ansiedade e depressão, com foco em regiões cerebrais fortemente envolvidas nesses distúrbios (por exemplo, amígdala), estudos neuroquímicos sobre a concentração de aminoácidos cerebrais em animais tratados com chambá, alteração nos esquemas de tratamento dos animais, assim como estudos da interação droga-receptor, são necessários para elucidar os mecanismos de ação do chambá apropriadamente.

CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

A análise dos resultados apresentados neste trabalho permitiu as seguintes conclusões:

Nos testes do labirinto em cruz elevado e claro/escuro, o chambá comprovou seu efeito ansiolítico, pois aumentou todos os parâmetros analisados;

O mecanismo de ação ansiolítico do chambá, analisado no teste do labirinto em cruz elevado, parece estar relacionado com o receptor GABA_A/Benzodiazepínico, pois seu efeito ansiolítico foi revertido pelo flumazenil, antagonista deste receptor;

No teste do campo aberto, o chambá não alterou a atividade locomotora, o *grooming* e *rearing*, sugerindo ser desprovido de efeito sedativo;

No teste do rota rod, a coordenação motora dos animais não foi alterada, mostrando que os efeitos desta substância não estão relacionados com o bloqueio neuromuscular periférico, mas sim, ocasionados centralmente;

Nos testes do nado forçado e suspensão da cauda, o chambá apresentou efeito depressor, pois aumentou o tempo de imobilidade dos animais;

No teste do tempo de sono induzido por pentobarbital, o chambá não alterou a duração do sono dos animais, ou seja, não potencializou o efeito sedativo/hipnótico do pentobarbital sódico e, dessa forma, não apresentou efeito sedativo;

No teste da convulsão induzida por pentilenotetrazol, o chambá não alterou as latências de convulsão e de morte, demonstrando não apresentar a atividade anticonvulsivante.

Após a análise das monoaminas, verificou-se que o chambá reduziu a concentração das aminas biógenas observadas, corroborando com o efeito depressor observados nos modelos nado forçado e suspensão da cauda.

Portanto, este trabalho permitiu concluir que o chambá apresenta efeito ansiolítico, depressor do Sistema Nervoso Central, mas sem possuir efeito sedativo. Além disso, observou-se que o chambá é desprovido de atividade anticonvulsivante.

REFERÊNCIAS

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGHAJANIAN, G.K.; LAKOSKI, J.M. Hyperpolarization of serotonin neurons by serotonin and LSD: studies in brain slices showing increased K⁺ conductance. **Brain Res.**, v.305, p.181-185, 1994.

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice. A review. **Anim. Behav.**, v. 21, p. 205-35, 1973.

ALMEIDA, R.N.; MOTTA, S.C.; LEITE, J.R. Óleos essenciais com propriedades anticonvulsivantes. **Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y aromáticas**, v. 2, n. 1, p. 3-5, 2003.

ALVES, T.M.A. *et al.* Biological screening of brazilian medicinal plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 3, p. 367-373, 2000.

AMOS, S. *et al.* Neuropharmacological effect of the aqueous extract of *Sphaeranthus senegalensis* in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 78, p. 33-37, 2001.

ANGULO, J. *et al.* Isolation stress increases tyrosine hydroxylase mRNA in the *locus coeruleus* and midbrain and decreases proenkephalin mRNA in the striatum and *nucleus accumbens*. **Molecular Brain Research**, v. 11, p. 301-308, 1991.

ANISMAN, H.; ZACHARKO, R.M. Depression: the predisposing influence of stress. **Behavioral and Brain Sciences**, v. 5, p. 89-137, 1982.

ARAKAWA, O.; IKEDA, T. Apomorphine effects on single and paired rat open-field behavior. **Physiology & Behavior**, v. 50, p. 189-194, 1991.

ARANGO, V.; UNDERWOOD, M.D.; MANN, J.J. Fewer pigmented *locus coeruleus* neurons in suicide victimis: preliminary results. **Biological Psychiatry**, v. 39, p. 112-120, 1996.

ARIZA, S.Y.; RUEDA, D.C.; RINCÓN, J.; LINARES, E.L.; GUERRERO, M.F. Efectos farmacológicos sobre el sistema nervioso central inducidos por cumarina, aislada de *Hygrophila tytha*. **Rev. Fac. Quim. Farm.**, v.14, p.51-58, 2007.

ASCHEER, J.A. *et al.* Bupropion: a review of its mechanism of antidepressant activity. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 56, p. 395-401, 1995.

BANNERMAN, D.M.; RAWLINS, J.N.P.; MCHUGH, S.B.; DEACON, R.M.J.; YEE, B.K.; BAST, T.; ZHANG, W.N.; POTHUIZEN, H.H.J.; FELDON, J. Regional dissociations within the hippocampus-memory and anxiety. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 28, p.273-283, 2004.

BAKER, G.B.; GREENSHAW, A.J. Effects of long-term administration of antidepressants and neuroleptics on receptors in the central nervous system. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 9, p. 1-44, 1989.

BAKISH, D. The patient with comorbid depression and anxiety: the unmet need. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 60, p. 20-24, 1999.

BARBOSA, P.R. *et al.* The Aqueous Extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* Reduce Anxiety-Related Behaviors Without Affecting Memory Process in Rats. **Journal of Medicinal Food**, v. 11, n. 2, p. 282–288, 2008.

BARROS, H.M. *et al.* The effects of GABAergic drugs on grooming behavior in the open field. **Pharmacology & Toxicology**, v. 74, p. 339-344, 1994.

BARROS, R.F.M. **Efeito da radiação solar sobre o crescimento e produção de cumarinas em *Justicia pectoralis* var *stenophylla* Leonard.** 1992. 143 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.

BAUMANN, B. *et al.* Tyrosine hydroxylase immunoreactivity in the locus coeruleus is reduced in depressed non-suicidal patients but normal in depressed suicide patients. **European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**, v. 249, p. 212-219, 1999.

BEN-ARI, Y.; TREMBLAY, E.; OTTERSEN, O.P. Injections of kainic acid into the amygdaloid complex of the rat: an electrographic, clinical and histological study in relation to the pathology of epilepsy. **Neuroscience**, v. 5, p. 515-528, 1980.

BEN-ARI, Y. *et al.* Electrographic, clinical and pathological alterations following systemic administration of kainic acid, bicuculdeoxyglucose or pentylenetetrazole: metabolite mapping using the deoxyglucose method with special reference to the pathology of epilepsy. **Neuroscience**, v. 6, p. 1361-1391, 1981.

BLIER, P.; WARD, N.M. Is there a role for 5-HT_{1A} agonists in the treatment of depression ? **Biol. Psychiatry**, v.53 (3), p.193-203.

BLISS, E.L.; AILION, J.; ZWANZIGER, J. Metabolism of norepinephrine, serotonin and dopamine in rat brain with stress. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, U.S.A., v. 164, n. 1, p. 122-134, 1968.

BLUM, D.; REED, M.; METZ, A. Prevalence of major affective disorders and maniac symptoms in persons with epilepsy: a community survey. **Neurology**, v. 58, (Suppl 4A): S175, 2002.

BORMANN, J. Electrophysiology of GABA_A e GABA_B receptor subtypes. **Trends Neuroscience**, v. 11, p. 112-116, 1988.

BOWERY, N.G. GABA_B receptor pharmacology. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 33, p. 109-147, 1993.

BRANDÃO, M.L. Comportamento emocional In: **Psicofisiologia: As bases fisiológicas do comportamento**. 2o ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2001, cap.7, p.125-149.

BRODY, A.L. *et al.* Personality changes in adult subjects with major depressive disorder or obsessive-compulsive disorder treated with paroxetine. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 61, p. 349-355, 2000.

BROWN, A.S.; GERSHON, S. Dopamine and depression. **Journal of Neural Transmission**, v. 91, p. 75-109, 1993.

BROWN, G.W. The role of life events in the aetiology of depressive and anxiety disorders. In: STANNFORD S., SAMON, P. **Stress: from synapse to syndrome**. London: Academic Press, 1993. p. 23-50.

BRUNELLO, N *et al.* The role of noradrenaline and selective noradrenaline reuptake inhibition in depression. **Eur. Neuropsychopharmacol**, v. 12 (5), p.461-475, 2002.

BUBSER, M.; KOCH, M. Prepulse inhibition of the acoustic startle response of rats is reduced by 6-hydroxydopamine lesions of the medial prefrontal cortex. **Psychopharmacology**, v. 113, p. 487-492, 1994.

BURKE, R.E.; GREENBAUM, D. Effect of post-mortem factors on muscarinic receptor subtypes in rat brain. **Journal of Neurochemistry**, v. 49, p. 529-596, 1987.

BUNNEY, W.E.; DAVIS, J.M. Norepinephrine in depressive reactions. **Archives of General Psychiatry**, v. 13, p. 483-494, 1965.

BUSH, D.E.A.; FRANCO, J.V. Individual differences in elevated plus-maze exploration predicted progressive-ratio cocaine self-administration break points in Wistar rats. **Psychopharmacology**, v. 194, p. 211–219, 2007.

CAMPOS, M.G.; CUNHA, A.P. **Farmacognosia e Fitoquímica**. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 2005.

CANNISTRARO, P.A. Neural Circuitry of Anxiety: Evidence from Structural and Functional Neuroimaging Studies. **Psychopharmacology Bulletin**, v. 37, n. 4, p. 8-25, 2003.

CARLINI, E.A.; BURGOS, V. *Screening* farmacológico de ansiolíticos: metodologia laboratorial e comparação entre o diazepam e o clorobenzapam. **Revista da Associação Brasileira de Psiquiatria**, v. 1, p. 25-31, 1979.

CARLINI, E.A. *et al.* Pharmacology of Lemon-grass (*Cymbopogon citratus* Stapf). Effects of teas prepared from leaves on laboratory-animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 17, p. 37-64, 1986.

CARTER, C.J.; PYCOCK, C.J. Differential effects of central serotonin manipulation on hyperactive and stereotyped behaviour. **Life Science**, v. 23, p. 953-960, 1978.

CAVALHEIRO, E.A. *et al.* Spontaneous recurrent seizures in rats: amino acid and monoamine determination in the hippocampus. **Epilepsia**, v. 35, p. 1-11, 1994.

CHAGNON, N.F.; Le QUESNE, P.; COOK, J.M. Yanomame hallucinogens: anthropological, botanical and chemical findings. **Current Anthropology**, v. 12, p. 72-74, 1971.

CHANFRAU, J.E.R. *et al.* Estudios preliminares de extractos fluidos 30% de *Justicia pectoralis* Jacq. var. *stenophylla* Leonard. **Revista Cubana Planta Medica**, v. 13, n. 4, 2008.

CHARIANDY, C.M. *et al.* Screening medicinal plants from Trinidad and Tobago for antimicrobial and insecticidal properties. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 64, p. 265-270, 1999.

CHARNEY, D.S. *et al.* Psychobiologic mechanisms of posttraumatic stress disorder. **Archives of General Psychiatry**, v. 50, p. 294-305, 1993.

CHEN, Y.; KONG, L.D.; XIA, X.; KUNG, H.F.; HANG, L.Z. Behavioral and biochemical studies of total furocoumarins from seeds of *Psoralea corylifolia* in the forced swimming test in mice. **Journal Ethnopharmacology**, v.96, p.451-459, 2005.

CHROUSOS, G.P.; GOLD, P.W. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. **JAMA**, v. 267, p. 1244-1252, 1992.

CLAUSTRE, Y. *et al.* Pharmacological studies on stress-induced increase in frontal cortical dopamine metabolism in the rat. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 238, n. 2, p. 693-700, 1986.

COPPEN, A. The biochemistry of affective disorders. **British Journal of Psychiatry**, v. 113, p. 1237-1264, 1967.

COSTA-LOTUFO, L.V. *et al.* Attenuating effects of melatonin on pilocarpine-induced seizures in rats. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 131, p. 521-529, 2002.

COSTA, E.; SANDLER, M. **Monoamine Oxidase: New Vistas**. New York: Raven, 1972

CRAWLEY, J.N. Neuropharmacologic specificity of a simple model for the behavioural actions of benzodiazepines. **Pharmacology Biochemistry Behavior**, v. 15, p. 695-699, 1981.

CUMMINGS, J.L. Psychosomatic aspects of movement disorders. **Advances in Psychosomatic Medicine**, v. 13, p. 111-132, 1985.

DALLMEIER, K.; CARLINI, E.A. Anesthetic, hypothermic, myorelaxant and anticonvulsant effects of synthetic eugenol derivatives and natural analogues. **Pharmacology**, v. 22, p. 113-127, 1981.

DEAKIN, J.F.; GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S. 5-HT receptors subtypes and the modulation of aversion. In: MARSDEN, C.A.; HEAL, D.J. **Central Serotonin Receptors and Psychotropic Drugs**. London: Blackwell, 147-174, 1992.

DELINI-STULA, A., RADEKE, E.; van RIEZE, H. Enhanced functional responsiveness of the dopaminergic system: the mechanism of anti-immobility effects of antidepressants in the behavioral despair test in the rat. **Neuropharmacology**, v. 27, p. 943-947, 1988.

DETKE, M.J.; RICKELS, M.; LUCKI, I. Active behavior in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. **Psychopharmacology**, v. 121, p. 66-72, 1995.

DEUTCH, A.Y.; ROTH, R.H. The determinant of stress-induced activation of the prefrontal cortical dopamine system. **Progress in Brain Research**, v. 85, p. 367-402, 1990.

DE VRIES, J.X.; TAUSCHER, B.; JOSHI, B.S. Constituents of *Justicia pectoralis* Jacq. Gas chromatography/mass spectrometry of simple coumarins, 3-phenylpropionic acid and their hydroxyl and methoxy derivatives acid. **Biomed Environ Mass Spectrom**, v. 15, p. 413-417, 1988.

DHIR, A.; NAIDU, P.S.; KULKARNI, S.K. Protective effect of cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors but not non-selective cyclooxygenase (COX)-inhibitors on ethanol withdrawal-induced behavioural changes. **Addict Biol**, v. 10 (4), p.329-335, 2007.

DREVETS, W.C. Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features of mood disorders. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 11, p. 240-249, 2001.

DUNHAM, N.W.; MIYA, T.S. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficits in rats and mice. **Journal of the American Pharmaceutical Association**, v. 46, n. 3, p. 208, 1957.

DUNN, A.J.; GUILD, A.L.; KRAMARCY, N.R.; WARE, M.D. Benzodiazepines decrease grooming in response to novelty but not ACTh or beta-endorphin. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 15, p. 605-608, 1981

DUNN, A. Stress-related changes in cerebral catecholamine and indoleamine metabolism: lack of effect of adrenalectomy and corticosterone. **Journal of Neurochemistry**, New York, v.51, n.2, p.406-412, 1988.

ENGEL, J.JR.; 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. 796-800, 2001.

ESPEJO, E.F. Selective dopamine depletion within the medial prefrontal cortex induces anxyogenic-like effects in rats placed on the elevated plus maze. **Brain Research**, v. 762, p. 281-284, 1997.

EVANS, D.L. *et al.* Mood disorders in the medically ill: scientific review and recommendations. **Biological Psychiatry**, v. 58, p. 175-189, 2005.

FADDA, F.; ARGIOLOS, A.; MELIS, M.R.; TISSARI, A.H.; ONALI, P.L.; GESSA, G. Stress-induced in 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) levels in the cerebral cortex and n. accumbens: reversal by diazepam. **Life Sciences**, U.S.A, v.23, p.2219-2224, 1978.

FELDMAN, R.S.; MEYER, J.S.; QUENZER, L.F. Catecholamines. In: **Principles of neuropsychopharmacology**. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates, 1997. p. 277-344.

FERREIRA, S.H. **Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 2002.

FONSECA, F. N. Development and validation of analytical method for *Justicia pectoralis* and its derivated product by HPLC. 6TH INTERNATIONAL CONGRESS OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, 2007, Ribeirão Preto, Brasil.

GAMBARANA, C. *et al.* A chronic stress that impairs reactivity in rats also decreases dopaminergic transmission in the *nucleus accumbens*: a microdialysis study. **Journal of Neurochemistry**, v. 72, p. 2039-2046, 1999.

GARAKANI, A.M.D.; MATHEUS, S.J.M.D.; CHARNEY, D.S.M.D. Neurobiology of Anxiety. Disorders and Implications for treatment. **The Mount Sinai Journal of Medicine**, vol. 73, p. 941-949, 2006.

GAWRON, A.; GLOWNIAK, K. Cytostatic activity of coumarins in vitro. **Planta Medica**, v.9, p.526-529, 1987.

GEORGE, M.S.; WASSERMAM, E.M.; WILLIAMS, W.A.; CALLABAN, A.; KETTER, T.A.; BASSER, P.; HALLET, M.; POST, R.M. Daily repetitive transcranial magnetic stimulation (Rtms) improves mood in depression. **Neuroreport** 6, 1853-1856, 1995

GERFEN, C. R. The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization in the basal ganglia. **Annu Rev Neurosci.**, v. 15, p. 285-320, 1992.

GILDENGERS, A.G. *et al.* Medical burden in late-life bipolar and major depressive disorders. **The American Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 16, p. 194-200, 2008.

GOLDMAN-RAKIC, P.S.; LERANTH, C.; WILLIAMS, S.M.; MONS, N.; GEFFARD, M. Dopamine synaptic complex with pyramidal neurons in primate cerebral cortex. **Proceedings of the National Academy of Science of America**, v. 86, n.22, p.9015-9019, nov, 1989.

GOLDMAN-RAKIC, P. Cellular basis of working memory. **Neuron**, v. 14, p. 477-485, 1995.

GOLDSTEIN, L.E. *et al.* The NMDA glycine site antagonist (+)-HÁ-966 selectively regulates conditioned stress-induced metabolic activation of the mesoprefrontal cortical dopamine but not serotonin systems: a behavioral, neuroendocrine, and neurochemical study in the rat. **The Journal of Neuroscience**, v. 14, n. 8, p. 4937-4950, 1994.

GOLDSTEIN, L.E. *et al.* Role of the amygdale in the coordination of behavioral, neuroendocrine, and prefrontal cortical monoamine responses to psychological stress in the rat. **The Journal of Neuroscience**, v. 16, n. 15, p. 4787-4798, 1996.

GOMES, M.M. Epilepsias: uma prioridade nacional em cuidados de saúde. **Revista Brasileira de Neurologia**, v. 30, n. 5, p. 14-17, 1994.

GOMES, MM. Frequência populacional de epilepsia. **Revista Brasileira de Neurologia**, v. 33, n. 1, p. 3-7, 1997.

GOODWIN, F.K.; BUNNEY JR., W.E. Depression following reserpine: a re-evaluation. **Seminars in Psychiatry**, v. 3, p. 435-448, 1971.

GUERCE, D.E.; MILON, A.H. Serotonin and dopamine afferents to the *locus coeruleus*: a biochemical study after lesioning of the ventral mesencephalic tegmental A-10 region and the *raphe dorsalis*. **Brain Research**, v. 263, p. 344-347, 1983.

GRAEFF, F.G. Seronergic systems. **Neuropsychiatry of the basal ganglia**, v.20, n.4, p.723-739, dec.1997.

HALES, R.E.; YUDOFKY, S.C. **Tratado de Psiquiatria clínica**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

HALLMAN, H.; JOSSON, G. Neurochemical studies on central dopamine neurons-regional characterization of dopamine turnover. **Medical Biology**, v. 62, p. 209, 1984.

HANDLEY, S.L.; MITHANI, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour. **Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology**, v. 327, p. 1-5, 1984.

HARRO, J.; ORELAND, L. Depression as a spreading adjustment disorder of monoaminergic neurons: a case for primary implication of the *locus coeruleus*. **Brain Research Reviews**, v. 38, p. 79-128, 2001.

HENSLER, J.G. Regulations of 5-HT1A receptor function in brain following agonist or antidepressant administration. **Life Science**, v.72, p.1665-1682, 2003.

HIGGINS, N.P.; PEEBLES, C.L.; SUGINO, A.; COZZARELLI, N.R. Purification of subunits of *Escherichia coli* DNA gyrase and reconstitution of enzymatic activity. **Proceeding Academic Science**, v. 75 (4), p.1773-1777.

HUGHES, R.N. Chlordiazepoxide-modified exploration in rats. **Psychopharmacology**, Berlin, v. 24, p. 462-469, 1972.

IMAIZUMI, M.; MIYAZAKI, S.; ONODERA, K. Effects of xanthine derivatives in a light/dark test in mice and contribution of adenosine receptors. **Methods and findings in experimental and clinical Pharmacology**, v. 16, p. 639-644, 1994a.

IMAIZUMI, M. *et al.* A fully automated apparatus for a light/dark test measuring anxiolytic or anxiogenic effects of drugs in mice. **Japanese Journal of Psychopharmacology**, v. 14, p. 83-91, 1994b.

IMPERATO, A.; CABIB, S.; PUGLISI-ALLEGRA, S. Repeated stressful experiences differently affect in time-dependent responses of the mesolimbic dopamine system to the stressor. **Brain Research**, v. 601, p. 333-336, 1993.

JACOBS, B.L.; ABERCROMBIE, E.D.; FORNAL, C.A.; LEVINE, E.S.; MORILAK, D.A.; STAFFORD, I.L. Single-unit and physiological analyses of brain norepinephrine function in behaving animals. **Progress in Brain Research**, v.88, p.159-165, 1991.

JIMERSON, D.C. Role of dopamine mechanisms in the affective disorders. In: H.Y. Meltzer (Ed.), **Psychopharmacology: the third generation of progress**. Raven Press, New York, p. 505-511, 1987.

JOCA, S.R. *et al.* The antidepressive-like effect of oxcarbazepine: possible role of dopaminergic neurotransmission. **European Neuropsychopharmacology**, v. 10, p. 223-228, 2000.

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

JUNG, M.E.; LAL, H.; GATCH, M.B. The discriminative stimulus effects of pentylenetetrazol as a model of anxiety: recent developments. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 26, n. 4, p. 429-439, 2002.

KALIA, M. Neurobiological basis of depression an update. **Metabolism: clinical and experimental**, v. 54, p. 24-27, 2005.

KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSEL, T.M. In: _____. **Principles of Neural Science**. 4th ed. United States: McGraw-Hill, 2000.

KANEYUKI, H.; YOKOO, H.; TSUDA, A.; YOSHIDA, M.; MIZUKI, Y.; YAMADA, M.; TANAKA, M. Psychological stress increases dopamine turnover selectively in mesoprefrontal dopamine neurons of rats: reversal by diazepam. **Brain Research**, v. 557, p.154-161, 1991.

KAPPUR, S.; MANN, J.J. Role of the dopaminergic system in depression. **Biological Psychiatry**, v. 32, p. 1-17, 1992.

KATZ, M.M. *et al.* The timing, specificity, and clinical prediction of tricyclic drug effects in the depression. **Psychological Medicine**, v. 17, p. 297-309, 1987.

KATZ, M.M. *et al.* Drug-induced actions on brain neurotransmitter systems and changes in the behaviors and emotion of depressed patients. **Neuropsychopharmacology**, v. 11, p. 89-100, 1994.

KENT, J.M.; MATHEW, S.J.; GORMAN, J.M. Molecular targets in the treatment of anxiety. **Biological Psychiatry**, v. 52, n. 10, p. 1008-1030, 2002.

KESSLER, R.C.; WITTCHEN, H.U. Anxiety, mood, and substance abuse disorders: patterns and correlates of comorbidity. **European Neuropsychopharmacology**, v. 9, p. 142-144, 1999.

KIM, J.H. *et al.* Antidepressant-like effects of Albizzia julibrissin in mice: involvement of the 5-HT1A receptor system. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 87, p. 41-47, 2007.

KNOL, M.J. *et al.* Depression as a risk factor for the onset of type 2 diabetes mellitus. A meta-analysis. **Diabetologia**, v. 49, p. 837-845, 2006.

KOOB, G. F.; BLOOM, F. E. Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. **Science**, v. 242, p. 715-23, 1988.

KOOB, G. F. Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. **Trends Pharmacol Sci**, v. 13, p. 177-84, 1992

KRAVITZ, H.M. *et al.* Antidepressant or antianxiety? A study of the efficacy of antidepressant medication. **Psychiatry Research**, v. 32, p. 141-149, 1990.

KRISHNAN, V.; NESTLER, E.J. The molecular neurobiology of depression. **Nature**, v. 455, p. 894-902, 2008.

KURIBARA, H.; MARUYAMA, Y. The anxiolytic effect of oriental herbal medicines by na improved plus-maze test in mice: involvement of benzodiazepine receptors. **Jpn. J. Neuropsychopharmacol.**, v. 18, p. 179-190, 1996.

KURIBARA, H.; STAVINOHA, W.B.; MARUYAMA, Y. Behavioral pharmacological characteristics of honokiol, an anxiolytic agent in extracts of magnolia bark, evaluated by an elevated plus-maze test in mice. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 50, p. 819-826, 1998.

LACROIX, L. *et al.* The effects of pyramidal cells of the medial prefrontal cortex on latent inhibition, prepulse inhibition, food hoarding, elevated plus maze, active and locomotor activity in the rat. **Neuroscience**, v. 88, p. 431-442, 1998.

LAPIN, I.P.; OXENKRUG, G.F. Intensification of the central serotonergic processes as a possible determinant of the thymoleptic effect. **Lancet**, v. 1, p. 132-136, 1969.

LAMBERT, G. *et al.* Reduced brain norepinephrine and dopamine release in treatment-refractory depressive illness. **Archives of General Psychiatry**, v. 57, p. 787-793, 2000.

LANG, A. E.; LOZANO, A. M. Parkinson's disease. First of two parts. **N Engl J Med.**, v. 339, p. 1044-53, 1998a.

LEAL, L.K.A.M. *et al.* Antinociceptive, anti-inflammatory and bronchodilatador activities of Brazilian medicinal plants containing coumarin: a comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 70, p.151-159, 2000.

LEBOT, V.; MERLIN, M.; LINDSTROM, L. Kava- the Pacific elixir: the definitive guide to its ethnobotany, history, and chemistry. Rochester, V.T.: Healing Arts Press, 1997.

LE DOUX, J.E. Emotion circuits in the brain. **Annu. Rev. Neurosci.**, v. 23, p. 155-184, 2000.

LE MOAL, M.; SIMON, H. Mesocorticolimbic dopaminergic network: functional and regulatory roles. **Physiological Reviews**, v. 71, p. 155-234, 1991.

LENT, R. **Cem Bilhões de Neurônios – Conceitos Fundamentais de Neurociências**. Editora Atheneu, 2004. p. 651-668.

LEONARD, B.E. Evidence for a biochemical lesion in depression. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 61, p. 12-17, 2000.

LISTER, R.G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 29, p. 180-185, 1987.

LLOYD, C. Life events and depressive disorders reviewed. Events as precipitating factors. **Archives of General Psychiatry**, v. 37, p. 541-548, 1980.

LINO, C.S. *et al.* Analgesic and anti-inflammatory activities of *Justicia pectoralis* Jacq. And its constituents: coumarin and umbelliferone. **Phytotherapy Research**, v. 11, p. 211-215, 1997.

LOWSON, S.; GENT, J.P.; GOODCHILD, C.S. Convulsive thresholds in mice during the recovery phase from anaesthesia induced by propofol, thiopentone, methohexitone and etomidate. **British Journal of Pharmacology**, v. 102, n. 4, p. 879-882, 1991.

LUSCOMBE, G.P.; MAZURKIEWICZ, S.E.; BUCKETT, W.R. Flumazenil antagonizes the anxiolytic effect of chlordiazepoxide, buspirone and dothiepin in the elevated plus maze. **British Journal of Pharmacology**, v. 104, p. 216, 1991.

MAAS, J.W.; DEKIRMENJIAN, H.; FAWCETT, J. Catecholamine metabolism, depression and stress. **Nature**, v.230, p. 330-331, april, 1971.

MACNAUGHTON, N.; GRAY, J.A. Anxiolytic action on the behavioural inhibition system implies multiple types of arousal contribute to anxiety. **Journal of Affective Disorders**, v. 61, p.161-176, 2000

MACRAE, W.D.; TOWERS, G.H.N. *Justicia pectoralis*: a study of the basis for its use as a hallucinogenic snuff ingredient. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 13, p. 93-111, 1984.

MAES, M.; MELTZER, H.Y. The serotonin hypothesis of major depression. In: F.E. Bloom, D.J. Kupfer. **Psychopharmacology: the Fourth Generation of Progress**. New York: Raven Press, 1995. p. 933-944.

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

MANN, J.J. *et al.* Increased serotonin₂ and β -adrenergic receptor binding in the frontal cortices of suicide victims. **Archives of General Psychiatry**, v. 43, p. 954-959, 1986.

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

MAO, Q.Q. *et al.* Antidepressant-like effect of peony glycosides in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, p. 272-275, 2008.

MARCHETTI, R.L.; DAMASCENO, B.P. Epilepsia: Psicopatologia e comportamento. In: Guerreiro, C.A.M.; Guerreiro, M.M.; Cendes, F.; Cendes, I.L. **Epilepsia**. São Paulo: Editora Lemos, 2000. p. 231-242.

MARESCAUX, C. *et al.* A model of chronic spontaneous petit mal-like seizures in the rat: comparison with pentylenetetrazol-induced seizures. **Epilepsia**, v. 25, n. 3, p. 326-331, 1984.

MARINHO, M.M.F. *et al.* Inhibitory action of a calcium channel blocker (nimodipine) on seizures and brain damage induced by pilocarpine and *lithium*-pilocarpine in rats. **Neuroscience Letters**, v. 235, p. 13-16, 1997.

MARINHO, M.M.F. *et al.* Effects of lithium, alone or associated with pilocarpine, on muscarinic and dopaminergic receptors and on phosphoinositide metabolism in rat hippocampus and striatum. **Neurochemistry International**, v. 33, p. 299-306, 1998.

MARSHALL, M.E.; MENDELSON, L.; BUTLER, K.; RILEY, L.; CANTRELL, J.; WISEMAN, C.; TAYLOR, R.; MACDONALD, J.S. Treatment of metastatic cell carcinoma with coumarin (1,2-benzopyrone) and cimetidine: a pilot study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 5 (6), p.862-866, 1987.

MARTIN, P.; MASSOL, J.; COLIN, J.N.; LACOMBLEZ, L.; PUECH, A.J. Antidepressant profile of bupropion and three metabolites in mice. **Pharmacopsychiatry**, v. 23; p. 187-194, 1990.

MATTEI, R.; DIAS, R.F.; ESPÍNOLA, E.B.; CARLINI, E.A.; BARROS, S.B.M. Guaraná (*Paulinea cupana*): toxic behavioral effects in laboratory animals and antioxidant activity in vitro. **J. Ethnopharmacology**, v. 60, p. 111-6, 1998.

MELDRUM, B.; CHAPMAN, A. Epileptic seizures and epilepsy. In: Siegel G.J.; Agranoff, B.W.; Albers, R.W.; Fisher, S.K.; Uhler, M.D. 6th ed. **Basic Neurochemistry, Molecular, cellular and medical aspects**. U.S.A: Lippicott Williams and Wilkins, 1999. p. 785.

MICHAELI, D.; MOLAVI, A.; MIRELMAN, D.; HANOCH, A.; WEINSTEIN, L. Mode of action of coumermycin A: comparisons with novobiocin. **Antimicrobians Agents Chemotherapy**, v.10, p.95-99, 1970.

MILLS, J.; PASCOE, K.O.; CHAMBERS, J. Preliminary investigations of the wound healing properties of a Jamaica folk plant (*Justicia pectoralis*). **The West Indian Medical Journal**, v. 35, p. 190-193, 1986.

MISSALE, C. *et al.* Dopamine receptors: from structure to function. **Physiological Reviews**, v. 78, p. 189-225, 1998.

MITTE, K. *et al.* A meta-analytic review of the efficacy of drugs treatment in generalized anxiety disorder. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, v. 25, p. 141-150, 2005.

MOGENSEN, G.J.; JONES, D.L.; YIM, C.Y. From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. **Progress in Neurobiology**, v. 14, p.69-97, 1980.

MONTERO, A.C.R. *et al.* Genotoxicidad de *Justicia pectoralis* Jacq. (tilo). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 13, n. 2, 2008.

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

MOODY, T.W.; MERALI, Z.; CRAWLEY, J.N. The effects of anxiolytics and other agents on rat grooming behavior. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 90, p. 281-290, 1993.

NESTLER, E. J. *et al.* Neurobiology of depression. **Neuron**, v. 34, p. 13–25, 2002.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Fundamentos de Farmacobotânica**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 1998.

OLIVEIRA, A.F.M.; ANDRADE, L.H.C. Caracterização morfológica de *Justicia pectoralis* JACQ e *J. gendarussa* BURM. F. (ACANTHACEAE). **Acta Amazônica**, v. 30, n. 4, p. 569-578, 2000.

OLIVEIRA, A. L. *et al.* *Achyrocline satureioides* (LAM.) DC. (Marcela), Asteraceae, Avaliação Comparativa da Droga Vegetal e Estudos Preliminares de Otimização da Extração. **Caderno de Farmácia**. v. 17, p. 33-38, 2001.

OWENS, M.J.; NEMEROFF, C.B. Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. **Clin. Chem.**, v.40/2, p.288-295, 1994.

OZTURK, Y. *et al.* Effect of *Hypericum perforatum* L. and *Hypericum calximun* L. extract on the central nervous system in mice. **Phytomedicine**, v. 3, p. 139-146, 1996.

PARRA, A.L. *et al.* Comparative study of assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, v. 8, n. 5, p. 395-400, 2001.

PAYA, M.; HALLIWEL, B.; HOULT, JR. Interactions of a series of coumarins with reactive oxygen species: scavenging of superoxide, hypochlorous acid and hydroxyl radicals. **Biochemical Pharmacology**, v.44 (2), p.205-214, 1992.

PENNARTZ, C.; GROENEWEGWN, H.; LOPEZ DA SILVA, F.H. The nucleus accumbens as a complex of functionally distinct neuronal ensemble: an integration of behavioural, electrophysiological and anatomical data. **Progress in Neurobiology**, v. 42, p.719-761, 1994.

PRANGE, A. The pharmacology and biochemistry of depression. **Diseases of the Nervous System**, v. 25, p. 217-221, 1964.

PELLOW, S. *et al.* Validation of open:closed arm entries in an elevated plus maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 14, p. 149-167, 1985.

PEREIRA, E.C. *et al.* Coumarin effects on amino acid levels in mice prefrontal cortex and hippocampus. **Neuroscience Letters**, v.454, p.139-142, 2009.

PEREZ, R.M.G. *et al.* Neuropharmacological activity of *Solanum nigrum* fruit. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 62, p. 43-48, 1998.

PHELPS, E.A.; LEDOUX, J.E. Contributions of the amygdale to emotion processing: from animal models to human behavior. **Neuron**, v. 48, p. 175-187, 2005.

PITTLER, M.I.I.; ERNST, E. Efficacy of kava extract for treating anxiety: systematic review and meta-analysis. **Journal Clinical Psychopharmacology**, v.20, p.84-89, 2000.

PLAZNIK, A.; KOSTOWSKY, W. The effects of antidepressants and electroconvulsive shocks of the function of the mesolimbic dopamine system: a behavioral study. **European Journal of Pharmacology**, v. 135, p. 152-158, 1987.

PORSOLT, R.D.; ANTON, N.B.; JALFRE, M. Behavioural despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Archives Internationales de Pharmacodynamie**, v. 229, p. 327-336, 1987.

POST, R.M. Transduction of psychosocial stress into the neurobiology of recurrent affective disorder. **American Journal of Physiology**, v. 149, p. 999-1010, 1992.

RABBANI, M.; SAJJADI, S.E.; MOHAMMADI, A. Evaluation of the anxiolytic effect of *Nepeta persica* Boiss. in mice. **eCAM Advance Access Publication**, v. 5, n. 2, p. 181-186, 2008.

RANDRUP, A.; BRAESTRUP, C. Uptake inhibition of biogenic amines by newer antidepressant drugs: relevance to the dopamine hypothesis of depression. **Psychopharmacology**, v. 53, p. 309-314, 1977.

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

REDMOND, D.E. Studies of the *nucleus locus coeruleus* in monkeys and hypotheses for neuropsychopharmacology. In: H.Y. Meltzer. **Psychopharmacology: the Third Generation of Progress**. New York: Raven Press, 1987. p. 967-975.

REINHARD, J.F.; BANNON, M.J.; ROTH, R.H. Activation by stress of dopamine synthesis and metabolism in the prefrontal cortex: antagonism by diazepam. **Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v.318, p.374-377, 1982.

REX, A.; STEPHENS, D.N.; FINK, H. "Anxiolytic" action of diazepam and abecarnil in a modified open field test. **Pharmacology Biochemistry Behavior**, v. 53, p. 1005-1012, 1996.

RILEY, H.; SPINKS, A. Biological assessment of tranquilizers. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 10, p. 657-71, 1958.

RIZZINI, C.T. Contribuição ao crescimento da tribo Justiciae (Acanthaceae). **Arq. Jard. Bot.**, v. 9, p. 37-69, 1948.

RODGERS, R.J. *et al.* Animal models of anxiety on ethological perspective. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 30, p. 289-304, 1997.

ROLLAND, A. *et al.* Behavioural effects of the American traditional plant *Eschscholzia californica*: sedative and anxiolytic properties. **Planta Med.**, v. 57, p. 212-6, 1991.

ROSSETTI, Z.L. *et al.* Depletion of mesolimbic dopamine during behavioral despair: partial reversal by chronic imipramine. **European Journal of Pharmacology**, v. 242, p. 313-315, 1993.

ROTH, R.H.; TAM, S-Y.; IDA, Y.; YANG, J.X.; DEUTCH, A.Y. Stress and mesocorticolimbic dopamine systems. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 537, p.138-147, 1988.

SCHILDKRAUT, J.J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **The American Journal of Psychiatry**, v. 122, p. 509-520, 1965.

SCOTT, R.A.; LHATOO, S.D.; SANDER, J.W. The treatment of epilepsy in developing countries: where do we go from here? **Bull World Health Organ**, v. 79, n. 4, p. 344-51, 2001.

SEE, R.E.; ADAMS-CURTIS, L.; CHAPMAN, M.A. Assessment of dopamine release by in vivo microdialysis in the nucleus accumbens of rats following acute and chronic administration of desipramine. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 654, p. 522-524, 1992.

SEEMAN, P. Dopamine receptors and the dopamine hypothesis of schizophrenia. **Synapse**, v.1, p.133-152, 1987.

SERRA, G. *et al.* Possible role of dopamine D₁ receptor in the behavioral subsensitivity to dopamine agonists induced by chronic treatment with antidepressants. **Brain Research**, v. 527, p. 234-243, 1990.

SESACK, S.R.; PICKEL, V.M. Prefrontal cortical efferents in the rat synapse on unlabeled neuronal targets of catecholamines terminal in the nucleus accumbens septi and on dopamine neurons in the ventral tegmental area. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 320, p.145-160, 1992.

SHERRILL, J.T. *et al.* Is life stress more likely to provoke depressive disorders in women than in man? **Depress Anxiety**, v. 6, p. 395-405, 1997.

SHIMADA, T. *et al.* The modified light/dark transition test in mice: evaluation of classic and putative anxiolytic and anxiogenic drugs. **General Pharmacology**, v. 26, p. 205-210, 1995.

SHULTES, R.E. The future of plants as sources of new biodynamic compounds. In: Swain T. **Plants in the Development of Modern Medicine**. Cambridge, MA: Harvard University Press, 1972. p. 103-124.

SILVILOTTI, L.; NISTRÌ, A. GABA receptor mechanisms in the central nervous system. **Progress in Neurobiology**, v. 36, p. 35-92, 1991.

SINGEWALD, N.; SHARP, T. Neuroanatomical targets of anxiogenic drugs in the hindbrain as revealed by Fos immunocytochemistry. **Neuroscience**, v. 98, p. 759-770, 2000.

SOUSA, M.P. *et al.* **Constituintes químicos de plantas medicinais brasileiras**. Fortaleza: Impr. Universitária, 1991. 416 pp.

SOUTHWICK, S.M. *et al.* Abnormal noradrenergic function in posttraumatic stress disorder. **Archives of General Psychiatry**, v. 50, p. 266-274, 1993.

STERU, L. *et al.* Tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v. 85, p. 367-70, 1985

STOUT, J.C.; WEISS, J.M. An animal model for measuring behavioral responses to anxiogenic and ansiolytic manipulation. **Pharmacology Biochemistry Behavior**, v. 47, p. 459-465, 1994.

STOPPE Jr, A.; CORDAS, T.A. Síndrome do pânico. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 58, n. 7, p. 475-479, 2001.

SVENSSON, T.H. Brain noradrenaline and the mechanisms of action of antidepressant drugs. **Acta Psychiatr. Scand**, v.402, p.18-27, 2000

SWEENEY, D.R.; MAAS, J.W.; HENINGER, G.R. State anxiety, physical activity, and urinary 3-methoxy-4-hydroxyphenethylene glycol excretion. **Archives of General Psychiatry**, .35, p.1418-1423, dec.1978.

SWINYARD, E.A. Laboratory assay of clinically effective antiepileptic drugs. **Journal of the American Pharmaceutical Association**, v. 38, n. 4, p. 201-204, 1949.

SWINYARD, E.A.; BROWN, W.C.; GOODMAN, L.S. Comparative assays of antiepileptic drugs in mice and rats. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 106, n. 3, p. 319-330, 1952.

TANAKA, M. *et al.* Involvement of the brain noradrenaline system in emotional changes caused by stress in rats. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 597, p. 159-174, 1990.

TANDA, G. *et al.* Increase of extracellular dopamine in the prefrontal cortex: a trait of drugs with antidepressant potential? **Psychopharmacology**, v. 115, p. 285-288, 1994.

TASSIN, J.P.; DARRACQ, L.; BLANC, G.; TROVERO, F. Integrating the monoamine systems. In: Mike Briley; Stuart Montgomery. **Antidepressant Therapy at the Dawn of the Third Millennium**. Saint Louis, 1998. 348 p.

THIERRY, A.M.; FEKETE, M.; GLOWIINSKI, J. Effects of stress on the metabolism of noradrenaline, dopamine and serotonin (5-HT) in the central nervous system of the rat. II. Modifications of serotonin metabolism. **European Journal of Pharmacology**, v. 4, n. 4, p. 384-389, 1968.

THIERRY, A.M. *et al.* Selective activation of the mesocortical DA system by stress. **Nature**, v. 263, p. 242-243, 1976.

THORNES, R.D.; SHEEHAN, M.V. Coumarin and cimetidine in malignant melanoma. **Irish Medical Journal**, 76, 1, 1983.

TIMMONS, S.D. *et al.* α 2-adrenergic receptor-mediated modulation of calcium current in neocortical pyramidal neurons. **Brain Research**, v. 1014, p. 184-196, 2004.

TIPPO, O.; STERN, W.L. **Humanistic Botary**. New York: W.W. Norton. 1977.

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

TREIT, D.; MENARD, J.; ROYAN, C. Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. **Parmacology Biochemistry Behavior**, v. 44, p. 463-469, 1993.

TUCKER, D.M. *et al.* Right frontal lobe activation and right hemisphere performance decrement during a depressed mood. **Arch. Gen. Psychiatry**, v.38, p.169-174, 1981.

TURNER, R.J.; LLOYD, D.A. The stress process and the social distribution of depression. **Journal of Health and Social Behavior**, v. 40, p. 4374-4404, 1999.

UYLINGS, H.B.M.; GROENEWEGEN, H.J; KOLB, B. Do rats have a prefrontal cortex? **Behavioural Brain Research**, v. 146, p. 3-17, 2003.

VAN PRAAG, H.M. Anxiety and increased aggression as pacemakers of depression. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 393, p. 81-88, 1998.

VENÂNCIO, E.T. *et al.* Neurobiologia das emoções e principais alvos farmacológicos: foco sobre medo e ansiedade. **Revista Eletrônica Pesquisa Médica**, v. 2, n. 4, p. 18-26, 2008. Disponível em: <www.fisfar.ufc.br/pesmed>. Acesso em: 30 maio 2009.

VETULANI, J.; SULSER, F. Action of various antidepressant treatments reduces reactivity of noradrenergic cyclic AMP-generating system in limbic forebrain, **Nature**, v. 257, p. 495-496, 1975.

VERPOORTE, R. Pharmacognosy in the new millennium: lead finding and biotechnology. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 52, p. 253-262, 2000.

VICENT, S.L.; KHAN, Y.; BENES, F.M. Cellular distribution of dopamine D1 and D2 receptors in rat medial prefrontal cortex. **The Journal of Neuroscience**, v. 13, n.6, p.2551-2564, jun. 1993.

WAMBEBE, C. Influence of some agents that affect 5-hydroxy-tryptamine metabolism and receptors on nitrazepam-induced sleep in mice. **Braz. J. Pharmacol.**, v. 84, p. 185-91, 1985

WEISS, J.M.; GOODMAN, P.A.; LOSITO, B.G.; CORRIGAN, S.; CHARRY, J.M.; BAILEY, W.H. Behavioral depression produced by an uncontrollable stressor: relationship to norepinephrine, dopamine and serotonin level in various regions of the rat brain. **Brain Research Reviews**, v.3, p. 167-205, 1981.

WILLIANSO, E.M.; OKPAKO, D.T.; EVANS, F.J. Selection, preparation and pharmacological evaluation of plant material. Chichester: John Wiley & Sons, 1996. p. 228.

WORLD HEALTH ORGANIZATION: New WHO guidelines to promote proper use in alternative medicines. Geneva: WHO, 2004.

YUDOFKY, S.C.; HALES, R.E. **Neuropsiquiatria e neurociências na prática clínica**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

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](#)