

Alexsandro Xavier Bueno

**EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO OBTIDO DAS
FOLHAS DA *Hyptis pectinata* (sambacaitá) SOBRE O
SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE ROEDORES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina da Universidade Federal de Sergipe, em obtenção ao grau de Mestre em Ciências da Saúde. Área de Concentração: Neurobiologia

Orientador:
Prof. Dr. Murilo Marchioro

SÃO CRISTOVÃO, SE

2005

Alexsandro Xavier Bueno

EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO OBTIDO DAS FOLHAS DA *Hyptis pectinata* (sambacaitá) SOBRE O SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE ROEDORES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina da Universidade Federal de Sergipe, em obtenção ao grau de Mestre em Ciências da Saúde. Área de Concentração: Neurobiologia

Aprovada em 29/07/2005

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Murilo Marchioro
UFS

Prof^ª. Dra. Rita de Cássia Trindade
UFS

Prof^ª Dra. Flávia Teixeira Silva
UFS

Dedico este trabalho

*A Flordenice, mãe e símbolo de todo o meu caráter e
força para ir em frente.*

*A minha amada esposa Helena, dedicada e amorosa,
a melhor mãe que minha filha poderia ter.*

*A Jorge, de tantos bons momentos de irmandade e
companheirismo sempre presente nesta jornada.*

A Elayne, irmã e parte de mim.

*A Lucinalda, por sua força e carinho que me
inspiram.*

*Ao meu pai Eurico, pela herança da inteligência e
gosto pelo trabalho,*

*A Caio Felipe, meu adorado sobrinho e meu esforço
para que trilhe os caminhos da ciência,*

*E, finalmente a minha doce filhinha, Alexya, fruto
do nosso amor, fonte de toda minha inspiração, a
quem, pelo trabalho, me furtei da atenção que
gostaria de dar nestes seus três meses de vida.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Murilo Marchioro, pela acolhida nesta orientação, permitindo-me aprender com sua experiência e espírito científico.

Ao Prof. Dr. Ângelo Roberto Antonioli, pela valorosa contribuição didática.

A Profa. Dra. Rita de Cássia Trindade, cujas sugestões contribuíram imensamente.

A Prof. Dra. Flávia Teixeira Silva, por suas orientações técnicas e auxílio no aprendizado do programa utilizado neste trabalho.

Aos alunos de iniciação científica Alisson e Igor e Tomás, cuja dedicação nas atividades experimentais foram inigualáveis.

Ao Prof. Evandro Sena, cujo contato na busca pela planta em estudo, propiciou uma bela amizade.

Aos colegas do curso de Mestrado em Ciências da Saúde: Estela, Antônio, Alexandre, Norma, Paula e Sérgio e Rubens.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

A ciência é uma mescla de dúvida e certeza. O bom cientista é arrogantemente humilde, o que não se reduz a um mero jogo de palavras: arrogante em relação ao método e humilde quanto à fé no seu conhecimento.

Bachrach

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do extrato total aquoso (ETA) obtido das folhas da *Hyptis pectinata* sobre o Sistema Nervoso Central (SNC) de roedores. Esta planta, popularmente conhecida como sambacaitá, é muito utilizada na medicina popular brasileira. Os seguintes modelos experimentais foram usados para detectar possíveis efeitos centrais do extrato: triagem farmacológica comportamental, campo aberto, nado forçado, hipotermia induzida por apomorfina, labirinto em cruz elevado e teste do sono induzido por barbitúrico. Na triagem farmacológica inicial, o único efeito detectado foi uma redução da frequência do comportamento de autolimpeza, na dose de 400 mg/Kg. No teste do campo aberto houve uma redução do tempo gasto na autolimpeza (ETA400: 51.3 ± 8.8 , $q=5.513$, $p<0.01$), efeito similar ao diazepam (con: 107.3 ± 14.2 ; diaz: 15.4 ± 4.3 , $q=9.049$, $p<0.001$). No teste do nado forçado o ETA (400 mg/Kg) reduziu o tempo de imobilidade do camundongo quando comparado ao controle (con: 181.3 ± 7.2 s; imip: 91.6 ± 8.9 s, $q=7.958$, $p<0.001$; ETA400: 111.6 ± 14.5 s, $q=6.193$, $p<0.001$), indicando um possível efeito antidepressivo. Este efeito foi confirmado no modelo da hipotermia induzida por apomorfina, onde o extrato (200 mg/Kg) antagonizou a redução na temperatura retal causada pela apomorfina (ETA200: -0.27°C , $q=5.588$, $p<0.001$), um efeito comparável ao do antidepressivo tricíclico imipramina (5 mg/Kg), um antidepressivo tricíclico clássico (controle: -1.08°C ; imip: 0.02°C , $q=7.589$, $p<0.001$). Nenhum efeito do ETA foi observado no Labirinto em Cruz Elevado ou no tempo de sono induzido por tiopental sódico. Estes resultados sugerem um possível efeito antidepressivo do extrato aquoso das folhas da *Hyptis pectinata*.

PALAVRAS-CHAVE: *Hyptis pectinata*; plantas medicinais; depressão.

ABSTRACT

In this work we studied the effects of the aqueous extract (AE) from the *Hyptis pectinata* leaves on rodents (mice and rats) central nervous system. The following experimental models were used to have access to possible central effects of the extract: pharmacological screening, open field, forced swimming, apomorphine-induced hypothermia, elevated plus maze and tiopental-induced sleepig duration. In the pharmacological screening test the only noticeable effect of the AE (400 mg/Kg) was a decrease in the frequency of grooming behavior. In the open field test the AE decreased the time rats spent grooming (AE400: 51.3 ± 8.8 , $q = 5.513$, $p < 0.01$), an effect similar to diazepam (con: 107.3 ± 14.2 ; diaz: 15.4 ± 4.3 , $q = 9.049$, $p < 0.001$). In the forced swimming test the AE (400 mg/Kg) decreased the immobility time of mice when compared with control (con: control: 181.3 ± 7.2 s; imip: 91.6 ± 8.9 s, $q = 7.958$, $p < 0.001$; AE400: 111.6 ± 14.5 s, $q = 6.193$, $p < 0.001$), indicating a possible antidepressive effect. This effect was confirmed in the apomorphine-induced hypothermia model where the extract (200 mg/Kg) antagonized the decrease in rectal temperature caused by apomorphine (AE200: -0.27°C , $q = 5.588$, $P < 0.001$), an effect similar to imipramine (5 mg/Kg), a classical tricyclic antidepressant (control: -1.08°C ; imip: 0.02°C , $q = 7.589$, $p < 0.001$). No effect of the AE was detected in the elevated plus maze and in the tiopental-induced sleeping time models. Our results suggest a possible antidepressive effect of the aqueous extract obtained from the leaves of *Hyptis pectinata*.

Keys-words: *Hyptis pectinata*; medicinal plants; depression.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Hyptis pectinata</i> (sambacaitá)	45
Figura 2a – Timol	46
Figura 2b – 5,6-dihydro- α -pyrone	46
Figura 2c – Pectinolídeos A, B e C	46
Figura 2d – Pectinolídeos D, E, F e G	46
Figura 3 – Campo Aberto	54
Figura 4 – O teste do Nado Forçado	56
Figura 5 – O Labirinto em Cruz Elevado	60
Figura 6 – Representação esquemática de montagem do LCE	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Fármacos obtidos a partir de matérias-primas vegetais	20
Tabela 02 – Modelos de ansiedade	32
Tabela 03 – Modelos de roedores sensíveis aos efeitos de agentes antidepressivos	35
Tabela 04 - Efeito do ETA da <i>Hyptis pectinata</i> no Teste do Campo Aberto em ratos	65
Tabela 05 – Efeito do ETA da <i>Hyptis pectinata</i> sobre o tempo de imobilidade no modelo do Nado Forçado	68
Tabela 06 – Diferença entre a temperatura basal retal e a temperatura após administração de apomorfina em camundongos	71
Tabela 07 – Efeitos do ETA da <i>Hyptis pectinata</i> na hipotermia induzida por apomorfina	71
Tabela 08 – Efeito do ETA da <i>Hyptis pectinata</i> sobre o modelo do Labirinto em Cruz Elevado em ratos	73
Tabela 09 – Efeito do ETA da <i>Hyptis pectinata</i> na potencialização do tempo de sono induzido por tiopental sódico	75

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01 - Efeito do ETA de <i>Hyptis pectinata</i> na distância percorrida no Teste do Campo Aberto	66
Gráfico 02 - Efeito do ETA de <i>Hyptis pectinata</i> no tempo de limpeza no Teste do Campo Aberto	66
Gráfico 03 - - Efeito do ETA da <i>Hyptis pectinata</i> no número de levantamentos no Teste do Campo Aberto	67
Gráfico 04 - Efeito do ETA de <i>Hyptis pectinata</i> sobre o tempo de imobilidade no Teste do Nado Forçado em camundongos	69
Gráfico 05 - Variação temporal da temperatura retal de camundongos após administração apomorfina	71
Gráfico 06 - Efeito do ETA da <i>Hyptis pectinata</i> no teste da hipotermia induzida por apomorfina	72
Gráfico 07 - Efeito do ETA de <i>Hyptis pectinata</i> sobre a porcentagem do tempo de permanência no braço aberto do Labirinto em Cruz Elevado	73
Gráfico 08 – Efeito do ETA de <i>Hyptis pectinata</i> sobre a porcentagem do número de entradas no braço aberto do Labirinto em Cruz Elevado	74
Gráfico 09 - Efeito do ETA de <i>Hyptis pectinata</i> sobre a distância total percorrida no Labirinto em Cruz Elevado	74
Gráfico 10 – Efeito do ETA de <i>Hyptis pectinata</i> sobre a latência para o desaparecimento do reflexo de endireitamento em camundongos	76
Gráfico 11 - Efeito do ETA de <i>Hyptis pectinata</i> sobre a duração do tempo de sono em camundongos	76

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 01 – Triagem farmacológica comportamental	51
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT	5-Hidroxitriptamina
ACTH	Hormônio Adenocorticotrófico
BZDs	Drogas benzodiazepínicas
CBRS	Receptores Benzodiazepínicos Centrais
CCK	Colecistocinina
COBEA	Colégio Brasileiro de Ética Animal
CRF	Fator de liberação da corticotropina
D ₂	Receptor dopaminérgico tipo 2
EPM	Erro Padrão da Média
ETA	Extrato Total Aquoso
<i>et al.</i>	E colaboradores
g	Grama
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GABA _A	Receptor ácido gama-aminobutírico tipo A
HHA	Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal
i.p.	Intra-peritonal
LCE	Labirinto em Cruz Elevado
MAO	Monoaminaoxidase
mg/Kg	Miligrama por quilograma
mg/mL	Miligrama por mililitro

p. ex.	Por exemplo
PBRs	Receptores Benzodiazepínicos Periféricos
S	segundos
SNC	Sistema Nervoso Central
UFS	Universidade Federal de Sergipe
v.o.	Via oral
Vs	Versus
α -MSH	Hormônio estimulante dos melanócitos

S U M Á R I O

1. INTRODUÇÃO

□ Plantas medicinais e saúde	15
□ Aspectos da Fisiologia Vegetal	21
□ Considerações gerais sobre ansiedade e as drogas ansiolíticas	23
□ Considerações gerais sobre depressão, drogas antidepressivas	25
□ Considerações gerais sobre estresse	27
□ Modelos animais usados para caracterização da atividade farmacológica no SNC	29
□ Modelos experimentais de Ansiedade	30
□ Modelos experimentais de depressão	32
□ Efeitos das drogas e das plantas medicinais sobre o Sistema Nervoso Central	35
□ Aspectos Fitoquímicos, Etnobotânicos e Etnomédicos do gênero Hyptis	42

2. OBJETIVOS 47

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material botânico	48
3.2.Preparação do Extrato Total Aquoso	48
3.3.Animais	48
3.4.Condições experimentais	49
3.5. Drogas	49
3.6. Análise Estatística	50
3.7.TESTES COMPORTAMENTAIS	

3.7.1 Triagem farmacológica	50
3.7.2 Modelo do Campo Aberto	52
3.7.3 Modelo do desespero comportamental - Nado forçado	55
3.7.4 Modelo da hipotermia induzida por apomorfina	57
3.7.5 Modelo do Labirinto em Cruz Elevado	57
3.7.6 Teste do sono induzido por barbitúrico	62
4. RESULTADOS	
4.1 Triagem farmacológica comportamental	64
4.2 Efeito do ETA no Teste do Campo Aberto	64
4.3 Efeito do ETA sobre o tempo de imobilidade no modelo do desespero comportamental – Nado Forçado	68
4.4 Efeito do ETA na hipotermia induzida por apomorfina	70
4.5 Efeito do ETA no modelo do Labirinto em Cruz Elevado	72
4.6 Efeito do ETA no teste da potencialização do tempo de sono induzido por tiopental sódico.	75
5. DISCUSSÃO	77
6. CONCLUSÃO	82
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

1. INTRODUÇÃO

1.1. Plantas medicinais e saúde

Nos últimos anos, a utilização de plantas medicinais como uma alternativa para o tratamento de saúde vem crescendo em todo o mundo. A esta prática dá-se o nome de Fitoterapia, palavra de origem grega que significa tratamento utilizando plantas. A Fitoterapia foi criada para designar tradições populares de tratamento, nas quais as plantas medicinais são usadas como medicamento. Inúmeras espécies são conhecidas por suas propriedades terapêuticas em muitas culturas, constituindo um poderoso arsenal de ervas que são usadas para diversos fins. O conhecimento popular advindo dos benefícios das plantas medicinais foi construído empiricamente através de várias gerações em diversas civilizações. Segundo Elizabetsky (1997), tal conhecimento, geralmente, é desenvolvido por grupamentos culturais que ainda convivem intimamente com a natureza, observando-a de perto no seu dia-a-dia, explorando suas potencialidades, mantendo vivo e crescente esse patrimônio pela experimentação sistemática e constante.

É fácil compreender o desenvolver deste processo quando se leva em consideração a grande biodiversidade de espécies vegetais existentes no planeta. A biodiversidade pode ser analisada pelo seu papel evolutivo, ecológico ou como recurso biológico. Sob o termo recursos biológicos, identificamos os componentes da biodiversidade que têm uma utilização direta, indireta ou potencial para humanidade. As atividades extrativas no meio natural constituem um dos principais usos da diversidade biológica. As espécies vegetais para uso medicinal têm recebido atenção especial pelos diferentes significados que as plantas medicinais assumem em nossa sociedade como um recurso biológico e cultural, destacando-se seu potencial genético para o desenvolvimento de novas drogas, possível fonte

de recursos financeiros, através de sua comercialização, para o resgate e fortalecimento da identidade cultural e como acesso primário à saúde para muitas comunidades (LÉVÊQUÉ, 1999).

A flora medicinal constitui um arsenal terapêutico de enorme importância, uma vez que as plantas vêm sendo empregadas tanto em preparações tradicionais (chás, sucos, xaropes, cataplasmas, tinturas, ungüentos etc.) quanto, mais recentemente, na forma de princípios ativos puros. Os remédios domésticos são, ainda, vistos com grande respeito, a exemplo da camomila (*Matricaria chamomila*) que tem mostrado eficácia em diversos casos de insônia, tanto quanto os soníferos modernos. Com isso, mesmo no mundo civilizado em que vivemos, onde a química triunfa e existe, também, uma grande diversidade de produtos para tratar a mesma doença, o homem não pode se afastar da natureza. De acordo com Balme (1982), a terapêutica moderna, composta por um grande número de medicamentos com ações específicas sobre receptores, enzimas e canais iônicos, não teria atingido o grau de desenvolvimento atual se não fosse o auxílio dos produtos naturais, notadamente aqueles derivados das plantas superiores.

São inúmeros os exemplos de medicamentos que foram desenvolvidos, direta ou indiretamente, de fontes naturais, especialmente de plantas, incluindo entre outros a morfina, a pilocarpina, os digitálicos, os curares, a quinina, a artemisinina, a atropina escopolamina e cromolin. Além disso, são também de origem natural vários medicamentos usados no tratamento do câncer (vimblastina, vincristina, taxol, campotequinas), as estatinas usadas no tratamento das dislipemias, vários imunossupressores e antibióticos. No entanto, o uso terapêutico de plantas medicinais ficou restrito à abordagem leiga desde o salto tecnológico da indústria farmacêutica ocorrido nas décadas de 50 e 60. Aproximadamente 25% dos fármacos empregados atualmente nos países industrializados advêm, direta ou indiretamente, de

produtos naturais, especialmente de plantas superiores. É importante mencionar o fato de que, durante os últimos 20 anos, os fármacos de origem natural que apareceram no mercado são, em proporção majoritária, oriundos de pesquisas científicas realizadas na China, Coréia e no Japão, sendo bem menor a contribuição dos países ocidentais neste período. Dessa forma, alguns potentes fármacos foram descobertos, e muitos deles ainda são usados na terapêutica atual. Apenas para citar alguns exemplos, podemos mencionar a morfina, isolada em 1803 por Setürner da *Papaver somniferum*, planta usada para acalmar a dor visceral. Posteriormente da mesma planta, foram isoladas a codeína em 1932, por Robiquet, e a papaverina em 1948, por Merck. Da *Ephedra sinica*, planta conhecida pelos chineses há 2.800 a.C., foi isolada a efedrina por Nagai, em 1887, que ainda é usada clinicamente como um potente agente broncodilatador. Podemos citar também a *Atropa belladonna* e a *Valeriana officinalis*, esta última usada como sedativa. A primeira é citada na literatura desde o início do século XVI, mas acredita-se que seu uso com finalidades terapêuticas iniciou-se muito antes. Seu principal constituinte ativo foi determinado como sendo o alcalóide hyoscyamina. Das plantas cardiotônicas, usadas pelos romanos e incorporadas à farmacologia de Londres em 1950, foi isolado o digital a partir das folhas de *Digitalis purpure*. Salienta-se ainda o caso da *Salix alba*, cujas cascas foram usadas durante milênios na Europa, Ásia e África para combater a febre e dor, mas que somente em 1763 foi estudada cientificamente pelo reverendo E. Stone, do condado de Oxford, Inglaterra, que comunicou a Real Sociedade sobre seu trabalho de observação clínica que durou seis anos, mostrando o efeito analgésico das cascas dessa planta. Em 1828, Buchner isolou a salicina e em 1860 Kolbe e Lauteman sintetizaram o ácido salicílico e seu sal sódico a partir do fenol, dando lugar, assim, à primeira produção de salicilatos. Somente em 1898, Felix Hoffman, sintetizou um composto de caráter menos ácido, acetilando o grupo hidroxila em posição orto, descobrindo assim o tão usado Ácido

Acetil Salicílico (AAS). Cabe mencionar que o AAS constitui o analgésico mais vendido no mundo, cujas cifras chegam a bilhões de dólares/ano, representando cerca de 1,2% do mercado mundial e aproximadamente 10% do mercado de analgésicos (YUNES & CALIXTO, 2001). Alguns outros exemplos de fármacos desenvolvidos a partir de plantas podem ser vistos na tabela 1.

Atualmente, é grande o interesse das indústrias farmacêuticas pelo uso da biodiversidade como fonte de novos medicamentos. Isto se deve à existência de diversos fatores motivacionais, tais como: necessidade de inovação e carência de novas drogas para o tratamento de patologias que permanecem ainda sem solução adequada, pressão entre as próprias indústrias e, sobretudo, por vantagens competitivas econômicas e declínio de produtividade. Aliado a estes fatores, o uso de produtos naturais como ponto de partida para o desenvolvimento de novos medicamentos oferece as seguintes vantagens: existência de uma grande quantidade de estruturas químicas, muitas classes de estruturas homólogas, existência de estruturas químicas bi e tridimensionais, possibilidade de utilização como banco de moléculas para screenings de alta capacidade, economia e fontes de novas moléculas para alvos moleculares complexos (FERREIRA, 1998; BALME, 1982).

Um grande mérito dos produtos naturais é a possibilidade da existência de diferentes compostos químicos que atuam em conjunto em determinado alvo molecular, o que possibilitaria a ocorrência de menores efeitos colaterais ou secundários para o consumidor, uma vez que a resposta total não é devida a uma simples e forte ação. Assim, problemas decorrentes da superdosagem seriam moderados. Nesse enfoque, podemos citar o exemplo do *Hypericum perforatum*, usado para o tratamento da depressão leve e moderada e que, em alguns países, chega a superar em vendas fármacos clássicos como a fluoxetina, o que é muito promissor, tendo em vista a ocorrência de efeitos indesejáveis provenientes do uso deste

fármaco, não muito diferente de outros antidepressivos tricíclicos, como demonstram Song *et al.* (1993).

A importância da utilização das plantas medicinais foi reconhecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS), que recomenda o seu uso como forma de reduzir os custos dos programas de saúde pública, provendo mais fácil acesso para a população mais pobre, principalmente nos países em desenvolvimento e subdesenvolvidos. Segundo dados desta Organização, 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam-se da medicina popular na atenção primária à saúde. Ferreira (1998), relata que este grupo populacional depende, em grande parte, dos chamados profissionais tradicionais para a cura de seus problemas de saúde, seja pelas dificuldades impostas ao acesso à biomedicina, especialmente a alopática, seja por questões de entendimento sobre a realidade social e aspectos culturais deste tipo de população. Assim, é inegável a importância desta alternativa terapêutica.

No Brasil, esta prática torna-se ainda mais difundida, principalmente devido à baixa eficiência do Sistema Público de Saúde, ao alto custo dos medicamentos industrializados, ao baixo poder aquisitivo da maioria da população e, mais recentemente, à falsificação de remédios. Nesse contexto, inserem-se várias comunidades da região do nordeste brasileiro que, apesar da grande biodiversidade existente, os indicadores de desenvolvimento sustentável mostram que em relação à equidade, saúde e educação, ela apresenta-se com os menores índices do país em quase todos os indicadores analisados. Portanto, essa riqueza em biodiversidade não tem sido traduzida em qualidade de vida para sua população, apesar de apresentar comunidades detentoras do saber tradicional sobre o ambiente natural (BRASIL, 2002).

FÁRMACO	CLASSE TERAPÊUTICA	ESPÉCIE VEGETAL
Artemisina	Antimalárico	<i>Artemisia annua</i> L.
Atropina	Anticolinérgico	<i>Atropa beladonna</i> L.
Capsaicina	Anestésico tópico	<i>Capsicum</i> spp.
Colchicina	Antirreumático	<i>Colchicum autumnale</i> L.
Digoxina, digitoxina	Glicosídeos cardíacos	<i>Digitalis purpurea</i> L. D. lanata Ehrhart
Escopolamina	Antiparkinsoniano	<i>Datura</i> spp
Emetina	Antiamoebiano	<i>Cephaelis ipecacuanha</i> (Brot) A. Rich.
Estrofantina, ouabaína	Glicosídeos cardíacos	<i>Strophanthus</i> spp.
Fisostigmina	Antiglaucomatoso	<i>Physostigma venenosum</i> Balf.
Morfina	Analgésico	<i>Papaver Somniferum</i> L.
Pilocarpina	Antiglaucomatoso	<i>Pilocarpus jaborandi</i> Holmes.
Quinina	Antimalárico	<i>Cinchona</i> spp.
Reserpina	Anti-hipertensivo	<i>Rauwolfia</i> spp.
Tubocurarina	Bloqueador neuromuscular	<i>Chondodendron tomentosum</i> Ruiz e Pavon
Vimblastina, vincristina	Antitumorais	<i>Catharanthus roseus</i> G. Don.

Tabela 1 - Exemplos de fármacos obtidos a partir de matérias-primas vegetais. Fonte: Yunes e Calixto, 2001.

1.2. Aspectos da Fisiologia vegetal

Uma planta é capaz de produzir mais compostos ou moléculas que um químico orgânico durante toda sua vida em um laboratório de síntese. Os compostos químicos sintetizados pelos vegetais podem ser divididos em dois grandes grupos. Os primeiros, essenciais para a sobrevivência das espécies vegetais, são chamados de metabólitos primários. Neste grupo estão incluídos os açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, nucleotídeos e seus polímeros derivados. Os produtos do metabolismo primário, através de rotas biossintéticas diversas e freqüentemente desconhecidas, originam, às custas de energia, o segundo grupo de compostos químicos – os metabólitos secundários. Estes últimos apresentam geralmente estruturas complexas, baixo peso molecular, marcantes atividades biológicas e, diferentemente do metabólito primário, são encontrados em concentrações relativamente baixas e em determinados grupos de plantas. A separação dessas duas vias metabólicas é muito obscura; e a classificação de compostos em primários e secundários depende muito da importância de determinado composto para uma determinada espécie. Os metabólitos secundários produzidos pelas plantas desempenham um papel fundamental nas suas interações de defesa contra predadores e patógenos. A fantástica variedade e complexidade de metabólitos especiais biossintetizados pelas plantas teriam se formado e evoluído como mecanismo de defesa desses vegetais às condições de adaptação e regulação. Historicamente, os metabólitos secundários produzidos pelas plantas vêm sendo utilizados pela humanidade como remédio desde o início da nossa civilização. Nos dias atuais, mesmo com o grande desenvolvimento de drogas obtidas por síntese orgânica eles continuam desempenhando um papel de destaque na saúde pública. Mais de 25% dos medicamentos em uso são derivados naturais ou produtos semi-sintéticos de origem natural. Os metabólitos secundários

apresentam algumas características, tais como: 1- não são vitais para a planta, na maioria das vezes, como alcalóides, 2- são a expressão da individualidade química do vegetal e diferem de espécie para espécie, tanto qualitativa quanto quantitativamente, 3- são produzidos em pequenas quantidades. Além das características citadas, essas substâncias podem estar presentes na planta o tempo inteiro ou somente produzidas mediante estímulo específico. Assim, a regulação do metabólito secundário depende da capacidade genética da planta em responder a estímulos internos ou externos e da existência desses estímulos no momento apropriado. Tem sido observado que a maioria de espécies vegetais apresenta um ou mais de um destes dois grupos de substâncias. O que normalmente diferencia as plantas medicinais é que as concentrações dessas substâncias são muito maiores, daí o seu emprego para fins terapêuticos. Alguns gêneros e algumas famílias de plantas apresentam substâncias bem específicas que podem caracterizá-las. Os principais metabólitos secundários produzidos pelas plantas encontram-se distribuídos nas seguintes classes químicas: alcalóides, terpenos, cumarinas, lignanas, flavanóides, benzenóides, quinóides, xantonas, lactonas, esteróides, óleos voláteis, quinonas, saponinas e taninos. Em relação às principais vias metabólicas que descrevem o metabolismo secundário, há três pontos de origem e produção de compostos secundários diferenciados mediante seus precursores: 1- ácido shiquímico, como precursor e inúmeros compostos aromáticos, 2- aminoácidos, fonte de alcalóides e peptídeos, 3- acetato, que através de duas rotas biossintéticas origina compostos como poliacetilenos, terpenos, esteróides e outros (; MANN, 1987; AWAD, 1989; LINCOLN & ZEIGER, 2004).

1.3. Considerações Gerais sobre Ansiedade e as Drogas Ansiolíticas

Para alguns autores, a ansiedade é um fenômeno humano subjetivo que não tem nenhum equivalente em animais experimentais, à exceção de algumas alterações somáticas e autônomas associadas. Biologicamente pode ser considerada como uma forma particular de inibição comportamental, oriunda de uma resposta a eventos externos não conhecidos, não gratificantes (em condições nas quais se espera uma recompensa) ou que gerem punição. Nos animais essa forma de inibição pode assumir a forma de imobilidade ou de supressão de uma resposta comportamental. É considerada um estado psicológico, por isso, difícil de mensurar, principalmente em situações onde o observador foca um limitado conjunto de respostas, freqüentemente, empregando dispositivos eletromecânicos ou eletrônicos (BELZUNG & PAPE, 1994; RANG *et al.*, 2001)

Para Graeff & Guimarães (1999), a ansiedade é emoção semelhante ao medo, porém enquanto ele é fruto de ameaça definida, na ansiedade a fonte de perigo é incerta ou desconhecida. A discussão entre ansiedade e angústia é feita por alguns autores, porém não há consenso a respeito do assunto. Também se discute a distinção entre a ansiedade e o medo, dois estados emocionais claramente relacionados. Em geral, considera-se o medo como provocado por estímulo ou situação bem definidos. A ansiedade, ao contrário, teria causas difíceis de especificar. (ANDREATINI *et al.*, 2001).

Situações em que o perigo não é tão evidente, porém vago e persistente e cujos indícios da causa do medo, não são conscientemente percebidos, referem-se ao denominado estado de apreensão. Contudo, as alterações psicofisiológicas que compõem a ansiedade são semelhantes às do medo, podendo-se admitir a identidade básica dos mecanismos neurais que integram ambos os estados emocionais. Estados de medo ou ansiedade ocorrem também em

situações de conflito, onde um mesmo comportamento é simultaneamente recompensado e punido, ou em situações novas ou desconhecidas, opondo-se à curiosidade exploratória. Alguns autores sugerem que a ansiedade manifesta-se em diferentes planos. O mais importante é o afetivo que, embora conhecido de todos, é difícil descrever com precisão. Sensações como a de estrangulamento ou constrição são comuns. São sensações desagradáveis e geram o desejo de se fazer alguma coisa para evitar, atenuar ou eliminar o estado de desprazer. Pensamentos que geram expectativa de fatos negativos são comuns no plano cognitivo. As preocupações assim geradas, interferem na capacidade de concentração e no desempenho de tarefas intelectuais. O sono é prejudicado, pois eleva-se o estado de vigília. Existem também alterações fisiológicas, como o aumento da frequência de batimentos e da força de contração do coração, tremores e sudorese, respiração difícil, hiperventilação ou parada respiratória. Pode haver hipersecreção gástrica, aumento da motilidade intestinal e urgência para micção e defecação (GRAEFF, 1984; GRAEFF & BRANDÃO, 1999; RANG *et al.*, 2001).

No aspecto bioquímico, vários neurotransmissores são implicados na ansiedade. Entre eles figuram as aminas biogênicas, como a noradrenalina, a serotonina e a dopamina, aminoácidos, como o GABA e a glicina, peptídeos, como o fator de liberação da corticotrofina ou CRF, o ACTH e a colecistocinina ou CCK, e esteróides, como a corticosterona (GRAEFF & BRANDÃO, 1999).

As drogas usadas para o combate à ansiedade são chamadas de ansiolíticos, que são classificados em: BZDs e não BZDs. Os ansiolíticos BZDs são assim denominados devido a estrutura química, baseada no anel BZD. Atuam através de sua ligação a um sítio regulador específico sobre o receptor GABA_A potencializando, assim, o efeito inibitório do GABA. Existem, ainda, subtipos de receptores de GABA_A em diferentes regiões do cérebro,

que diferem na sua sensibilidade aos benzodiazepínicos. Os ansiolíticos não BZDs interferem diretamente na neurotransmissão serotoninérgica (5-HT), como a buspirona, ipsapirona e gepirona (SHADER & GREENBLAT, 1993).

1.4 Considerações gerais sobre depressão, drogas antidepressivas

A depressão ou mania, chamados de distúrbios afetivos, são caracterizados por alterações do humor. A depressão constitui a manifestação mais comum, podendo variar de uma condição muito discreta, formando uma fronteira com a normalidade, até a depressão leve – algumas vezes denominada depressão psicótica – acompanhada de alucinações e delírios. Os transtornos depressivos incluem a depressão maior, a distmia e tipos não especificados de depressão (transtorno bipolar). Baldessarini (1995), caracteriza a depressão maior como aquela onde existe um ou mais episódios depressivos, com pelo menos duas semanas de humor deprimido ou perda de interesse na maior parte das atividades, acompanhadas de ao menos quatro sintomas adicionais de depressão, que incluem sentimentos de desesperança, desvalia, culpa, desamparo, associados a alterações de apetite e sono, fadiga, retardo ou agitação psicomotora, diminuição do desempenho sexual, dificuldade de concentração e raciocínios e pensamentos recorrentes sobre a morte, com ou sem tentativas de suicídio. A distmia (antiga neurose depressiva) é caracterizada por pelo menos dois anos de humor deprimido na maior parte dos dias, acompanhadas de sintomas depressivos que não chegam a caracterizar um episódio depressivo maior. A teoria da monoamina, postulada por Schildkraut (1965), estabelece que a depressão poder ser devido à redução dos níveis de monoaminas ou atividade neuronal. Wong & Licinio (2001), afirmam que a depressão é

considerada uma doença preocupante na sociedade de hoje, estimando que sua prevalência no tempo de vida das pessoas chegue a 21% em algumas regiões desenvolvidas.

As anfetaminas foram os primeiros agentes farmacológicos utilizados no tratamento da depressão endógena, sendo introduzidas na prática médica durante os últimos anos da década de trinta. São quimicamente semelhantes aos neurotransmissores, noradrenalina e dopamina. Em animais de laboratório, as anfetaminas aumentam a atividade exploratória e o comportamento instrumental dirigido à obtenção de recompensas ou a evitar a punição. Este efeito deve-se, principalmente, ao aumento da liberação de dopamina e à inibição da recaptação neuronal. Na década de 50, descobriram-se os inibidores da MAO, enzima que inativa a dopamina, e logo em seguida, surgiram os antidepressivos tricíclicos que bloqueiam a recaptação neuronal da 5-HT e noradrenalina (GRAEFF, 1984).

O manejo terapêutico dos transtornos afetivos é complexo. Os antidepressivos tricíclicos são os principais fármacos empregados no tratamento da depressão. Apresentam estrutura tricíclica e seu protótipo e primeiro composto sintetizado foi a imipramina. A principal ação farmacológica desse grupo é a capacidade de bloqueio da recaptação neuronal de monoaminas cerebrais (noradrenalina, serotonina e dopamina). O potencial desses compostos para bloquear a recaptação de cada um desses neurotransmissores é variável. Aminoaminas terciárias (imipramina, clomipramina, amitriptilina) são potentes bloqueadores de recaptação de serotonina, enquanto seus metabólitos desmetilados (as aminoaminas secundárias desipramina e nortriptilina) são bloqueadores seletivos de recaptação de noradrenalina. Ambos os grupos são bloqueadores pouco potentes da recaptação da dopamina (GRAEFF & BRANDÃO, 1999).

1.5. Considerações gerais sobre estresse

Considera-se homeostase como a manutenção de um estado de equilíbrio fisiológico interno que é mantida por forças reguladoras, chamadas de respostas adaptativas. Uma perturbação a este estado de equilíbrio, causada por força extrínseca ou intrínseca é denominada estresse. Os efeitos provenientes da exposição a eventos estressantes não controláveis e intensos que se observam em animais de laboratório são semelhantes às alterações comportamentais e fisiológicas muitas vezes encontradas na depressão clínica. Pode-se citar: redução na atividade motora, ganho de peso e sono, diminuição do comportamento competitivo, diminuição na capacidade de sentir prazer (expressa, p. ex., na diminuição de respostas que levem à estimulação de regiões cerebrais de recompensa, ou na diminuição do consumo de soluções adocicadas) e aumento de erro em tarefas de escolha/discriminação. Estas alterações são revertidas pelo tratamento com drogas antidepressivas ou por eletrochoque. Segundo Graeff & Guimarães (1999), inúmeros modelos de depressão foram baseados nas modificações comportamentais induzidas por exposição a diferentes estressores.

Uma série de evidências experimentais sugere uma hiperatividade do eixo-hipotalâmo-hipófise-adrenal (HHA) em pacientes com depressão e parece estar relacionada com a intensidade dos sintomas. Pacientes mais severos apresentam maior hiperatividade do eixo HHA, enquanto a remissão dos sintomas depressivos, espontânea ou decorrente do uso de drogas antidepressivas ou eletrochoque, é geralmente acompanhada de normalização desse eixo (NEMEROFF, 1996; MITCHELL, 1998).

Diversos estudos têm postulado a existência de uma distinta classe de sítios de ligação para benzodiazepínicos encontrados em tecidos periféricos e no SNC e que têm

mostrado ter funções fisiológicas, cumprindo, geralmente, os critérios de aceitação para um receptor farmacológico. Tais receptores, denominados PBRs diferem dos receptores benzodiazepínicos centrais – CBRS- pela inexistência de ligação com os ligantes específicos dos receptores GABA_A (MESTRE *et al.*, 1985; VERMA & SNYDER, 1989). Tem sido demonstrado ainda, que os PBRs estão envolvidos na atividade de regulação endócrina e que órgão endócrinos, como no córtex das glândulas adrenais, são ricos em PBRs (BENAVIDEZ *et al.*, 1984; DE SOUZA, 1985). Mestre *et al.* demonstraram o efeito modulatório do estresse sobre os PBRs em vários modelos animais e em humanos. Com base nestes estudos, uma nova linha de investigação aponta para pesquisas sobre o fator de liberação de corticotropina, que estão sendo sintetizados por vários laboratórios farmacêuticos para o uso em transtornos ansiosos e depressão (MITCHELL, 1998).

Diversos autores postulam que ratos expostos a situações estressantes, como em ambientes não familiares, apresentam uma frequência aumentada no comportamento de autolimpeza e que este comportamento serve para reduzir a excitação após a situação estressante (DELLIUS, 1967). Sabe-se ainda que existe uma relação direta entre o comportamento de autolimpeza e o nível de corticosteróides (VAN ERP *et al.*, 1994) e que a administração de ocitocina, α -MSH e ACTH diretamente no núcleo paraventricular do hipotálamo, inicia e mantém a autolimpeza (VAN ERP *et al.*, 1993).

1.6. Modelos animais usados para caracterização da atividade farmacológica no SNC

Segundo Mckinney (1984), modelos animais são preparações experimentais desenvolvidas para uma espécie com o propósito de estudar fenômenos que ocorrem em outras espécies.

O uso de modelos experimentais em diversas disciplinas médicas é bastante difundido, desde a introdução da patologia experimental por Claude Bernard, no século passado. No entanto, na área da Psiquiatria e, portanto, envolvendo o estudo do SNC, esse emprego é bem mais recente. Isso se deve principalmente ao fato de que os problemas nessa área são muito maiores e complexos. Um exemplo claro são os distúrbios de pensamento, que não podem ser reproduzidos em animais de laboratório. O campo da Farmacologia comportamental usa conceitos e técnicas derivados tanto da Farmacologia quanto da Psicologia para estudar as interações entre drogas e comportamentos, investigando processos comportamentais, psicológicos, às vezes neurobiológicos, que são alterados pela administração de drogas, de modo que a integração das abordagens comportamentais ou psicológicas com a investigação neurobiológica provê a base para o estudo sistemático das ações de drogas pertinentes aos seus efeitos clínicos em humanos. O advento de medicamentos com ação sobre processos do SNC como, por exemplo, as drogas que aliviam de modo relativamente seletivo certos sintomas da esquizofrenia, da ansiedade e da depressão, estimularam não só o seu uso clínico, como também forneceram informações úteis para a validação de modelos animais (LAPA *et al.*, 2003).

Gschwend (1984) afirma que somente modelos animais podem prover o grau de controle experimental necessário para conduzir a pesquisa neurocientífica e que conhecimento

dos mecanismos das ações das drogas podem ajudar os pesquisadores bioquímicos a sintetizar drogas que agem com maior segurança e seletividade.

1.6.1 Modelos experimentais de Ansiedade

Até o momento, presume-se que a base da maioria dos modelos animais de ansiedade é sustentada por mecanismos de ansiedade/defesa que são essenciais para a sobrevivência e são, por isso, minimamente, característicos de mamíferos. Estados de ansiedade humana e animal são, conseqüentemente, vistos como sendo um continuum e mediados por mecanismos similares. Hendrie *et al.* (1996), considera ser apropriado examinar os efeitos de drogas sobre os comportamentos ansiosos de animais para predizer a utilidade potencial destas drogas no tratamento das desordens humanas.

Os modelos usados no início das pesquisas com ansiolíticos (décadas de 50 e 60) no condicionamento clássico ou pavloviano, como também no condicionamento instrumental ou operante. Entre os primeiros, temos a chamada resposta emocional condicionada. É obtida em ratos, pareando repetidamente um estímulo acústico ou visual com choque elétrico nas patas. Com isso o estímulo, inicialmente neutro, passa a produzir um conjunto de alterações características, como “congelamento” (imobilidade, com tônus muscular aumentado), piloereção, olhos bem abertos, respiração irregular, bater de dentes, defecação e micção. A combinação deste teste com um comportamento instrumental possibilitou o aparecimento do primeiro modelo experimental de ansiedade, sobrepondo o condicionamento clássico aversivo a uma linha de base de pressão à alavanca, mantida pela apresentação de alimento a intervalos variáveis (supressão condicionada), revertida pela reserpina. Por inconsistências, este teste foi

substituído pelo testes de conflito ou punição, onde os animais são punidos com choque elétrico após receberem alimento, estimulados por um sinal acústico, gerando um conflito entre conseguir alimento e ser punido com choque, tendo como consequência a diminuição da frequência com que o animal pressiona a alavanca. Ansiolíticos benzodiazepínicos aumentam esta frequência, porém, os não benzodiazepínicos não surtem efeito. Atualmente buscam-se modelos que utilizam comportamentos naturais da espécie, baseados na Etologia. No caso da ansiedade, são medidos comportamentos de defesa a ameaças características da espécie (GRAEFF, 1999).

Sabe-se que drogas ansiolíticas aumentam os comportamentos exploratórios em vários paradigmas que empregam camundongos. Crawley (1985) relata que a base teórica deste efeito é sustentada numa desinibição de algumas respostas medrosas a um estranho ou aversivo ambiente, produzindo e aumentando a tendência natural do animal a explorar qualquer novo habitat.

Segundo Rodgers *et al.* (1997), mais de 30 modelos animais de ansiedade estão atualmente em uso. Enquanto alguns são baseados na Fisiologia (hipertermia) ou respostas endócrinas ao estresse (corticosterona plasmática), a grande maioria baseia-se em comportamentos naturais. Modelos comportamentais podem ser convenientemente classificados como aqueles de respostas condicionadas ou não condicionadas a um estímulo que parece ser capaz de causar ansiedade em humanos. Alguns exemplos destes modelos podem ser vistos na tabela 2.

Como foi dito anteriormente, os modelos condicionados não têm sido validados comportamentalmente devido ao conflito existente, pois envolvem a utilização de estímulos nocivos tais como choques elétricos ou procedimentos de privação de água/alimento que pode interferir com o componente da ação (BELZUNG & LE PAPE, 1994).

Respostas não condicionadas	Respostas condicionadas
Ansiedade/Bateria de testes de defesa	Esquiva passiva/ativa
Labirinto em Cruz Elevado/Labirinto Zero	Resposta emocional condicionada
Medo/Bateria de testes de defesa	Aversão gustativa condicionada
Livre exploração	Testes de conflito (pombos e primatas)
Holeboard	Retirada defensiva
Ameaça humana (primatas)	Estimulação dPAG
Exploração claro/escuro	Medo potencializado
Campo aberto	Teste da placa quadrada
Competição social	Conflito de Geller Seifter
Interação social	Aprendizado desamparado
Vocalização ultra-sônica (filhotes)	Vocalização ultra-sônica (adulto)

Tabela 2 - Alguns dos mais usados modelos de ansiedade. Fonte: Rodgers, 1997.

1.6.2 Modelos experimentais de depressão

Os primeiros modelos animais de depressão foram baseados nos efeitos dos antidepressivos, por exemplo, a reversão da ptose palpebral causada pela reserpina, sem relação com eventuais mecanismos do desenvolvimento do quadro depressivo. Uma nova abordagem a estes modelos surgiu com a proposta do modelo do desamparo aprendido, feita por Seligman & Mair (1967). Estes autores mostraram que cães submetidos a uma série de choques inescapáveis nas patas apresentam déficit de aprendizado em nova situação em que os choques poderiam ser evitados. Achados semelhantes foram verificados em outras espécies, como ratos. Embora a interpretação de que essa falha envolva aprendizado prévio da

inescapabilidade da situação seja controversa, ela é revertida por tratamento crônico com antidepressivos. Um outro modelo bastante empregado e que guarda semelhança com o desamparo aprendido, é o teste do Nado Forçado, ou desespero comportamental, desenvolvido por Porsolt *et al.* (1977). Neste teste, roedores são inicialmente submetidos a um período de nado forçado (treino); uma situação inescapável de estresse. Depois de 24 horas, o animal é novamente recolocado para nadar (teste), e a latência para ficar imóvel (apenas com pequenos movimentos que o impeçam de submergir) e/ou o tempo total de imobilidade são registrados. Tratamento subcrônico com antidepressivos, particularmente aqueles que bloqueiam a recaptação da noradrenalina, diminuem o tempo total de imobilidade e aumentam a latência para o primeiro período de imobilização.

Segundo Cryan *et al.* (2002), o amplo espectro de inconsistências que caracteriza a depressão realça a dificuldade dos pesquisadores em imitar a desordem em laboratório. De fato, dois sintomas humanos, pensamentos recorrentes de morte ou suicídio, ou excessivos pensamentos de culpa são impossíveis de reproduzir-se em animais de laboratório. A questão permanece impenetrável como se nós pudéssemos saber se um animal de laboratório está mesmo deprimido. Entretanto, numerosos esforços têm sido feitos para o desenvolvimento de modelos animais de depressão e os critérios para sua avaliação têm sido estabelecidos. Alguns dos mais amplamente citados critérios foram desenvolvidos por MacKinney and Bunney (1969) há trinta anos atrás. Eles propuseram que os requerimentos mínimos para um modelo animal de depressão são: a) que seja razoavelmente análogo à desordem humana em suas manifestações ou sintomatologia; b) exista uma mudança comportamental que possa ser monitorada objetivamente; c) as mudanças comportamentais observadas devem ser revertidas pelas mesmas modalidades de tratamento que são efetivas em humanos; d) deve ser reproduzível entre os investigadores. Os modelos comumente usados são diversos e foram

desenvolvidos originalmente baseados nas consequências comportamentais do stress, drogas, lesão ou manipulações genéticas. Muitos destes modelos têm sofrido iterativas melhorias para acompanhar os contínuos avanços no desenvolvimento de drogas com um crescente e amplo arsenal de ações farmacológicas. Vários paradigmas têm sido desenvolvidos e são instrumentos em detectar o potencial de novos componentes com ação antidepressiva em análises pré-clínicas. Os modelos comumente usados são diversos e foram desenvolvidos originalmente baseados nas consequências comportamentais do estresse, drogas, lesões ou manipulações genéticas. Alguns destes modelos podem ser vistos na tabela 3.

Modelo animal	Facilidade de uso	Nível de confiança	Especificidade
Teste do nado forçado	Alta	Alta	Alta
Teste do nado forçado modificado	Alta	Alta	Alta
Teste da suspensão da cauda	Alta	Alta	Alta
Bulbectomia olfatória	Média	Alta	Alta
Desamparo aprendido	Média	Média	Alta
Clomipramina neonatal	Média	Média	?
Estresse pré-natal	Média	?	?
Estresse crônico moderado	Baixa	Baixa	Alta
Habitante intruso	Baixa	?	Média
Mudanças na estimulação intracranial pela retirada de droga induzida	Baixa	Alta	Média

Tabela 3 – Modelos de roedores sensíveis aos efeitos de agentes antidepressivos. Fonte: Cryan, 2002.

1.7 Efeitos das drogas e das plantas medicinais sobre o Sistema Nervoso Central

Guyton (1997) define o Sistema Nervoso Central – SNC como sendo a sede da memória, do pensamento e da emoção, consistindo do cérebro e da medula espinhal. Está conectado a uma rede de células nervosas (neurônios) espalhadas por todo o corpo, sendo responsável pela maioria das funções de controle e regulação. Por seu intermédio as informações são transmitidas sob a forma de impulsos nervosos que passam por uma sucessão de neurônios, um após o outro, através das sinapses (ponto de contato entre neurônios),

permitindo atividades como contrações musculares, fenômenos viscerais e ritmos de secreção de algumas glândulas endócrinas, dentre outras. A comunicação entre os neurônios e entre estes e os órgãos efetores se dá através de substâncias químicas chamadas de neurotransmissores. Pode-se definir um neurotransmissor como uma substância que é liberada numa sinapse por um neurônio e que afeta uma outra célula, quer seja um neurônio ou um órgão efector, de maneira específica (KANDEL *et al.*, 2000).

O resultado da combinação do neurotransmissor com os receptores da membrana pós-sináptica é uma alteração na sua configuração espacial ou deformação do receptor. Essa alteração conformacional faz com que o receptor abra canais iônicos específicos, modificando rapidamente a polaridade elétrica da membrana; alternativamente, ativa enzimas formadoras de mensageiros químicos no citoplasma do neurônio pós-sináptico, que por sua vez provocam alterações mais lentas e persistentes das propriedades elétricas da membrana neuronal ou ainda modificam a velocidade de reações químicas no citoplasma e núcleo desse neurônio, alterando seu funcionamento. Uma droga pode interferir com a síntese do neurotransmissor, inibindo uma ou mais enzimas que promovem a conversão da molécula do precursor na do transmissor. Como resultado de tal inibição, a concentração do neurotransmissor no terminais nervosos fica diminuída, sendo menor a quantidade liberada pelo impulso nervoso. Deste modo, as funções mediadas pela neurotransmissão são em geral deprimidas pelos inibidores de síntese. Resultado semelhante é causado por drogas que bloqueiam a captação do neurotransmissor pelas vesículas sinápticas. Em consequência, estas são total ou parcialmente esvaziadas, liberando menos neurotransmissor à chegada do impulso nervoso. Nestes dois casos, os efeitos dos neurotransmissores estão diminuídos, porque declina sua concentração na fenda sináptica. Contudo, o mesmo resultado pode ser obtido, bloqueando-se diretamente os receptores pós-sinápticos. Graeff (1984), define como *antagonistas farmacológicos*,

aquelas drogas de configuração molecular semelhante à do neurotransmissor, mas cuja combinação com o receptor não resulta em uma deformação eficaz e impede que o neurotransmissor atue, diminuindo, ou mesmo bloqueando seus efeitos pós-sinápticos. Já os *agonistas farmacológicos* são tão semelhantes, quimicamente, ao neurotransmissor, que não só se combinam com seu receptor, como também o ativam.

Rang *et al.* (2001), enfocam duas razões que exprimem o desafio do entendimento dos efeitos das drogas no SNC. A primeira é sobre o significado especial que estas drogas têm para a espécie humana, já que além da importância clínica e terapêutica fundamental, são também as drogas que os seres humanos mais administram a si próprios sem intervenção do profissional de saúde (p. ex., álcool, chá e café, *cannabis*, nicotina, opiáceos, anfetaminas, etc.). A segunda razão é que do ponto de vista funcional, o SNC é muito mais complexo do que qualquer outro sistema do organismo, tornando muito mais difícil conhecer os efeitos das drogas.

Dentre as substâncias químicas, naturais ou sintéticas, que de alguma forma atuam sobre o SNC modificando as funções mentais e físicas, excitando, excitando, deprimindo ou provocando ação perturbadora, geralmente alterando o funcionamento básico das células nervosas, ou a comunicação entre elas, estão as genericamente denominadas: psicotrópicas ou psicoativas, psicolépticas ou depressoras, antinociceptivas ou analgésicas, neurolépticas ou tranqüilizantes (MASUR & CARLINI, 1989).

Em seu trabalho sobre plantas e o SNC, Carlini (2003), relata que as drogas provocadoras de alterações mentais, especialmente plantas, têm fascinado o homem desde cedo. Rodeado por superstições místicas, pensamentos mágicos e rituais religiosos, elas têm sempre ocupado a atenção humana, principalmente aqueles capazes de alterar a consciência e a sensibilidade. As drogas psicodislépticas, também chamadas drogas alucinogênicas, têm

ocupado muito do tempo dos pesquisadores, que direcionam a maioria dos seus esforços para entender o mecanismo de ação destas plantas e, conseqüentemente, o comportamento humano, pensamentos, humor, sensações, etc. (DELAY & DENIKER, 1961).

Muitos pesquisadores têm dedicado seu tempo aos estudos dos efeitos das plantas sobre o SNC, principalmente na tentativa de descobrir novos compostos ou mesmo para validar o uso destes vegetais pela população. Braggio *et al.* (2002) avaliaram as atividades farmacológicas da *Sesbania virgata*, demonstrando seu efeito analgésico e antiinflamatório, respectivamente nos testes de contorção abdominal induzida pelo ácido acético e edema induzido pela carragenina, porém não apresentou efeito depressor ao nível do SNC no teste do sono induzido por barbitúrico.

Espécies já conhecidas por suas propriedades sedativas são também motivo de estudos a fim de confirmar a sua eficácia, como é o caso da *Lippia alba*, a falsa melissa, amplamente usada pela medicina popular no Brasil, que teve seus efeitos sedativos e miorelaxantes confirmados nas análises (ZÉTOLA *et al.*, 2002). O *Mallotus pellatus* também está entre aquelas que apresentam efeito depressor do SNC, além de relaxante muscular (CHATTOPADHYAY *et al.*, 2003). *Thidax procumbens*, *Neurolaena lobata*, *Byrsonima crassifolia* e *Gliricidia sepium*, plantas comuns na etnomedicina da Guatemala, demonstraram grande diminuição da atividade motora, ptose palpebral, catalepsia e forte hipotermia em camundongos (CIFUENTES *et al.*, 2001).

A *Barleria lupulina*, planta distribuída no sul e oeste da Índia, foi testada farmacologicamente e apresentou uma redução geral do padrão comportamental em camundongos, potencializando o tempo de sono induzido por barbitúrico e diminuindo a resposta ao toque de uma maneira dose dependente (SUBA *et al.*, 2002).

Existem casos de plantas que são altamente tóxicas em certas doses, mas podem apresentar efeitos diversos em doses mais baixas, como é o caso do *Ricinus communis*, mais conhecida como mamona; o extrato do pericarpo desta planta provocou exoftalmia, tremores, convulsões clônicas e morte após alguns minutos quando administrado em doses que variavam de 0,2 a 0,7 g/Kg, porém nas doses de 0,5 a 50 mg/Kg os animais apresentaram retenção de memória no teste da esquiva inibitória (FERRAZ *et al.*, 1999).

É importante destacar que os estudos que analisam as diferentes frações dos extratos podem revelar efeitos diversos para um mesmo teste e direcionar as pesquisas por bioatividade. Para ilustrar, temos o exemplo da *Salvia aegyptiaca*, planta comum na Península Arábica, Egito, Israel, Iran e Afeganistão, usada na medicina popular como cosmético, na diarreia, doenças dos olhos, como antisséptico e antiespasmódico, além de desordens nervosas e tremores. Os testes confirmaram seu efeito antinociceptivo e antiinflamatório nas frações acetanólica e metanólica, mas no teste antipirético, somente a fração acetanólica mostrou significativa redução na temperatura retal de camundongos hipertérmicos (AL-YOUSUL *et al.*, 2002). Peng *et al.* (2000) avaliaram os efeitos de *Ziziphus jujuba* e descobriram que, em baixas doses, a planta possui atividade ansiolítica e que, em altas doses, o efeito é sedativo.

Outro aspecto a ser considerado é utilização de diferentes modelos comportamentais pelos pesquisadores. Isto possibilita caracterizar com maior precisão as ações farmacológicas que possam aparecer em diferentes vias. Assis *et al.* (2001) analisaram os efeitos farmacológicos da *Albizia inopinata* e constataram que o extrato não alterou o tempo de sono induzido por barbitúrico, mas potencializou a catalepsia induzida por haloperidol. Pérez-Guerrero *et al.* (2001), ao investigarem a atividade analgésica de *Cecropia obtusifolia*, observaram que no teste da placa quente (que avalia os efeitos centrais) o extrato

não demonstrou qualquer efeito, porém nos testes do ácido acético e da formalina (que avaliam efeitos periféricos) foi possível verificar uma ação analgésica.

A análise de diferentes espécies de um mesmo gênero tem mostrado que a especificidade de ações que se concentra em determinada espécie, não se repete dentro do gênero. Mendes *et al.* (2002) avaliaram a atividade do *Hypericum brasiliensi* e do *Hypericum cordatum* e verificaram que as ações ao nível do SNC destas plantas não são tão significativas quanto às da espécie *Hypericum perforatum*, usada comercialmente com sucesso para o tratamento da depressão leve e moderada (TYLER, 2001).

A atividade ansiolítica tem sido demonstrada em diversos estudos envolvendo plantas e a busca por novos agentes ansiolíticos tem sido intensa, visto que estas drogas possuem uma série de efeitos indesejáveis como amnésia anterógrada, dependência, síndrome de abstinência e decaimento das funções psicomotoras. Desde os tempos antigos algumas plantas têm sido usadas para diminuir a ansiedade. Atualmente, o uso destes extratos tem ganhado aceitabilidade por profissionais médicos e pacientes. Entretanto, para a maioria das plantas, os dados químicos e farmacológicos estão incompletos e os seus princípios ativos ainda não foram identificados. Entre tais plantas, *Passiflora incarnata*, *Valeriana officinalis* e *P. methyscum* reservam especial atenção (CARLINI, 2003).

Ao estudar plantas do semi-árido nordestino, Omena (2003), constatou que três das quatro espécies submetidas aos ensaios farmacológicos e das quais a população faz uso, possuem o efeito indicado. *Astronium urundeuva* (aroeira), *Lippia mycrophylla* apresentaram efeito neuroléptico. A *Amburana cearensis* (imburana de cheiro) somente na dose de 100 mg/Kg apresentou efeito depressor e *Maytemus rigida* (bom nome) apresentou indícios de droga psicoativa.

Com uso de drogas clássicas que atuam ao nível do SNC, alguns autores confirmam o efeito apresentado pelas plantas, indicando, às vezes o possível mecanismo fisiológico de ação. É o caso do *Ocimum sanctum*, que após apresentar efeitos antidepressivos comparáveis à imipramina (antidepressivo clássico), teve sua ação bloqueada pelo haloperidol e pelo sulpiride (agentes psicóticos que agem bloqueando os receptores D₂, mediadores da ação inibitória da dopamina), indicando possível ação envolvendo neurônios dopaminérgicos. A ação antidepressiva foi amplificada quando o extrato foi combinado com bromocryptine (potente agonista do receptor D₂) (SAKINA *et al.*, 1990).

Apesar de todas as vantagens oferecidas pelo uso das plantas medicinais, a utilização racional destes recursos naturais implica em troca de informações entre a população e a comunidade científica, visando estudos farmacológicos e toxicológicos, os quais, por fim darão ou não o suporte científico indispensável para a utilização das plantas medicinais no tratamento primário da saúde. Segundo Ferreira (1998), muito se tem a estudar acerca dos produtos naturais, já que das mais de 250.000 espécies de plantas no mundo, menos que 10% foram exaustivamente investigadas com vistas ao descobrimento de propriedades terapêuticas.

No Brasil, o país com maior diversidade genética vegetal do mundo, com mais de 55.000 espécies catalogadas, os estudos científicos sobre o assunto têm sido insuficientes, apesar da ampla utilização de plantas medicinais pela população, principalmente pela camada menos favorecida (DIAS, 1996). Este fato reforça a necessidade de maior investigação químico-farmacológica, não só para confirmar o efeito citado popularmente, como também para esclarecer quais os compostos estariam envolvidos numa determinada atividade farmacológica de uma planta.

Atualmente, muitos centros de pesquisa no Brasil e no exterior vêm desenvolvendo estudos sobre as propriedades farmacológicas das plantas medicinais,

chegando a resultados bastante promissores. Para tanto, essas pesquisas são levadas a cabo com ervas cultivadas dentro de padrões rígidos e sob estrito controle de qualidade, garantindo a regularidade na composição química (CORRÊA *et al.*, 1998)

No estado de Sergipe uma grande parte da população faz uso da fitomedicina e algumas das espécies utilizadas para o tratamento primário da saúde são endêmicas no Estado. Um bom exemplo é a *Hyptis pectinata*, ou "Sambacaitá", utilizada pela população local, especialmente para o tratamento de inflamações de diferentes tipos.

1.8 Aspectos Fitoquímicos, Etnobotânicos e Etnomédicos do gênero *Hyptis*

Hyptis pectinata (L.) Poit, conhecida popularmente no Brasil como "sambacaitá" ou "canudinho", é uma erva da família Lamiaceae, herbácea e de folhas opostas, cruzadas e aromáticas. Suas flores são pequenas, agrupadas em inflorescências, hermafroditas, pentâmeras, zigomorfas e bilabiadas (Fig. 1).

Sua distribuição é vasta. O gênero *Hyptis* possui mais de quarenta espécies espalhadas pela América, Oeste Africano e Oeste Indiano. É uma espécie aromática que ocorre naturalmente nas ilhas Fiji, Oeste Africano e Índia (PIETSCHMANN *et al.*, 1998) e nordeste brasileiro (BISPO *et al.*, 2001).

A utilização desta planta atualmente limita-se ao uso popular, sendo comum sua presença em hortas e jardins, porém o extrativismo é a forma usual de obtenção, o que na maioria das vezes tem acarretado em perdas, mesmo antes de serem estudadas. O seu uso mais freqüente é a ingestão na forma de chás (decoções e infusões) e bochechos, sendo considerada um antiinflamatório natural (CARVALHO, 1999). Na medicina popular é utilizada para vários fins: rinofaringite, congestão nasal e doenças de pele, distúrbios gástricos

e febre, infecções bacterianas e fúngicas (MALAN *et al.*, 1988; MARTINEZ, 1989; ROJAS *et al.*, 1992).

O óleo essencial da *H. pectinata* contém 33 compostos com uma predominância quantitativa de monoterpenos (95,8%). Os constituintes principais do óleo são *p*-cimeno, timol e β -terpineno, que juntos correspondem a mais de 68% do total. As propriedades anti-sépticas da planta são provavelmente favorecidas pela presença de grandes quantidades de timol (MALAN *et al.*, 1988) (Fig. 2a).

As investigações fitoquímicas da *Hyptis pectinata* ainda são poucas. A primeira 5,6-dihidro- α -pirona isolada da família Lamiaceae foi o hyptolídeo, obtido das folhas desta planta odorífera (Fig. 2b). Através do fracionamento direcionado pela atividade, três novos compostos foram isolados da *H. pectinata*. As 5,6-dihidro- α -pironas, então chamadas pectinolídeos A, B e C, foram isolados e caracterizados (Fig. 2c). *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* foram susceptíveis ao pectinolídeo A na concentração de 6,25 e 12,5 μ g/mL. Os compostos isolados também apresentaram uma alta citotoxicidade contra uma variedade de células cancerígenas (PEREDA-MIRANDA *et al.*, 1993). Em recente trabalho, Boalino *et al.* (2003), descreveram a estrutura química de mais duas 5,6-dihidro- α -pironas, os pectinolídeos D e E, além de uma tetrahidropirona e uma furanona, pectinolídeos F e G, respectivamente. (Fig. 2d). Outro pectinolídeo descoberto recentemente mostrou atividade contra uma variedade de estirpes de *Staphylococcus aureus* (FRAGOSO-SERRANO *et al.*, 2005).

O extrato aquoso das folhas da *H. pectinata* foi avaliado por suas propriedades antinociceptivas, utilizando-se os testes de contorções abdominais, chapa quente e de formalina. O mesmo extrato também foi avaliado por seus efeitos antiedematogênicos utilizando o teste de edema da pata de rato com carragenina e ácido araquidônico. O extrato

administrado via oral nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg teve um efeito antinociceptivo significativo no teste de contorções abdominais induzido pelo ácido acético, com uma redução de 43, 51 e 54% nas contorções, respectivamente, comparadas com o controle. Um aumento de latência na placa quente de 47 e 37,5%, também foi observado (BISPO *et al.*, 2001).

Efeitos na regeneração de hepatócitos também foram encontrados em ratos parcialmente hepactomizados (SILVA *et al.*, 2002).

Outras espécies do gênero têm mostrado diferentes atividades como é o caso da *Hyptis spicigera*, cujos diterpenos apresentaram atividade inseticida. A *Hyptis capitata* e *Hyptis verticillata* apresentaram ações anticancerígena e antiinflamatória (FRAGOSO-SERRANO *et al.*, 1999; LEE *et al.*, 1988; NOVEO *et al.*, 1993; KUHNT *et al.*, 1995)

Pode-se concluir, portanto, que se trata de um gênero com grande versatilidade nas ações sobre diferentes enfermidades, o que sugere a realização de novos estudos investigativos.

Especialmente, na Universidade Federal de Sergipe - UFS, a *Hyptis pectinata* tornou-se um protótipo para produção de fitoterápicos pelos bons resultados que tem apresentado em estudos realizados. Contudo, apesar de possuir uma baixa toxicidade, não sendo possível, inclusive, detectar sua Dose Letal (DL₅₀), como demonstrado por Bispo *et al.*, 2001, não há registros na literatura sobre seus efeitos no SNC. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos centrais do extrato aquoso da *Hyptis pectinata*, considerando que as doenças e distúrbios que envolvem este sistema, não têm apresentado muitas opções terapêuticas com relativa seletividade de ação, potência e com reduzidos efeitos tóxicos.



Figura 1 – *Hyptis pectinata* (sambacaitá)

ESTRUTURAS QUÍMICAS ENCONTRADAS NA *Hyptis pectinata*

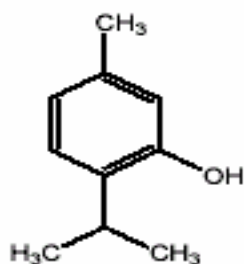


Figura 2a - Timol

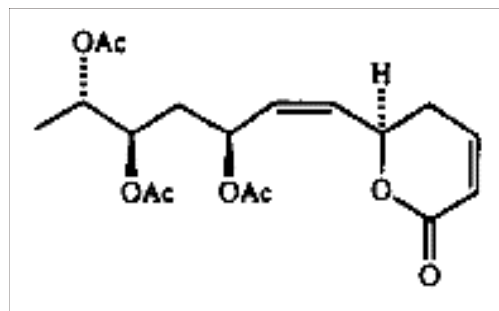
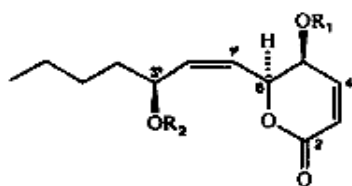
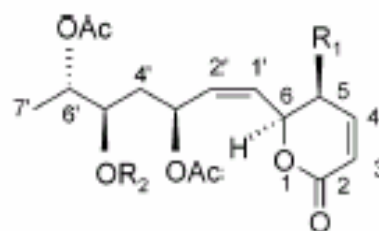


Figura 2b - 5,6-dihidro- α -pirone
Extraído de Pereda-Miranda *et al.*, 1993

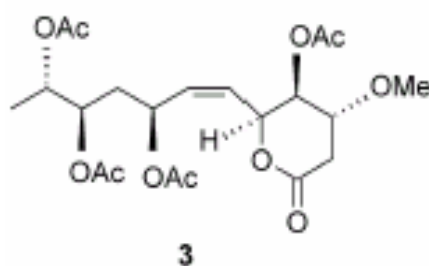


- 1** $R_1 = R_2 = \text{Ac}$
2 $R_1 = \text{Ac}, R_2 = \text{H}$
3 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{Ac}$

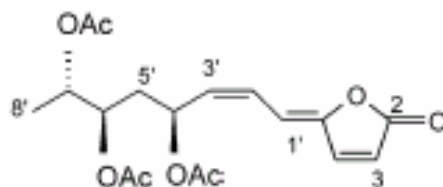
Figura 2c – Pectinolídeos A (1), B (2) e C (3).
Extraído de Pereda-Miranda *et al.*, 1993



	R_1	R_2
1	OH	H
2	OAc	Ac
5	H	Ac



3



4

Figura 2d – Pectinolídeos D (1), E (2), F (3) e G (4).
Extraído de Boalino *et al.*, 2003.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

- Estudar os efeitos sobre o sistema nervoso central do extrato liofilizado aquoso das folhas da *H. pectinata*.

2.2 Específicos

- Realizar triagem farmacológica para detectar possíveis efeitos centrais do Extrato Total Aquoso (ETA) obtido das folhas da *H. pectinata*;
- Testar o efeito do ETA sobre o comportamento de ratos no modelo do Campo Aberto;
- Testar o efeito do ETA sobre o comportamento de camundongos no modelo do nado forçado;
- Testar o efeito do ETA sobre o comportamento de camundongos no modelo da hipotermia induzida por apomorfina;
- Testar o efeito do ETA sobre o comportamento de ratos no Labirinto em Cruz Elevado – LCE;
- Testar o efeito do ETA sobre o comportamento de camundongos no modelo do tempo de sono induzido por barbitúrico;

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material botânico

Os espécimes de *Hyptis pectinata* foram coletados fora do período de floração na região metropolitana de Aracaju, Brasil (10° 54' S, 37° 05' O). Um exemplar foi identificado taxonomicamente e posteriormente depositado no Herbário do Departamento de Biologia da UFS sob o número ASE 2626.

3.2 Preparação do Extrato Total Aquoso - ETA

As folhas íntegras foram selecionadas para secagem em estufa. Após a desidratação, as folhas da *H. pectinata* foram trituradas até a obtenção de um pó de textura fina. Para preparação do extrato, acrescentou-se água destilada a este pó (3:10, p/v), mantendo-se a mistura sob constante movimento durante quatro horas e à temperatura de 35°C e posterior filtração.

O filtrado foi liofilizado e armazenado a 5°C. Somente nos dias de experimentação foi dissolvido em água destilada para obtenção do ETA nas concentrações desejadas.

3.3 Animais

Os experimentos realizados com animais neste trabalho estão de acordo com os princípios éticos para experimentação com animais estabelecidos pelo COBEA.

Foram utilizados camundongos Swiss machos (*Mus musculus*) (20-35 g) e ratos Wistar machos (250-350g) fornecidos pelo Biotério Central da UFS. Os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12 horas (claro: 06:00 hs às 18:00 hs; escuro: 18:00 hs às 06:00 hs) e em temperaturas com máxima de 35 °C e mínima de 25 °C com água e dieta balanceada à base de ração (Purina) *ad libitum*. Os animais foram divididos em grupos de dez camundongos ou 5 ratos e mantidos em gaiolas de polipropileno (33 x 40 x 17 cm) .

3.4 Condições experimentais

Os experimentos foram realizados no período compreendido entre 9:00 e 18:00 horas. Os animais eram transportados para sala de experimentação uma hora antes do início dos testes para adaptação e aclimação ao ambiente. Os animais dos grupos controle foram tratados com água e/ou solução salina 0,9 %, dependendo da via de administração das drogas usadas como controle a fim de evitar diferentes condições estressantes. As preparações do ETA e das drogas utilizadas somente foram realizadas momentos antes do início dos testes.

3.5 Drogas

As drogas usadas neste trabalho foram: diazepam (Cristália, Brasil), cloridrato de imipramina (Farmacofórmula, Brasil) e cloridrato de apomorfina (Sigma, USA). Todas as drogas foram dissolvidas em solução salina 0,9% antes de cada experimento.

3.6 Análise estatística

Os dados foram expressos como média $\pm$ SEM. A análise de variância (ANOVA) e o teste de comparações múltiplas de Tukey foram utilizados para avaliar as significâncias estatísticas das diferenças entre as médias dos grupos experimentais. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

3.7 Testes comportamentais

3.7.1 Triagem farmacológica

Utiliza-se a triagem farmacológica para observar os comportamentos que são indicativos de atividade central da substância em análise. Isto possibilita o direcionamento dos estudos psicofarmacológicos de acordo com os sinais apresentados pelos animais provenientes do efeito da droga. Trata-se, portanto, de um teste preliminar com a finalidade de se verificar os possíveis efeitos gerais sobre o SNC e, a partir do qual, direcionar a testes mais específicos.

Neste experimento quatro grupos de três camundongos foram tratados com água destilada (10 mL/Kg, v.o.) ou o ETA nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg (v.o.).

Após o tratamento, os animais foram observados por um período de 4 horas, durante as quais as alterações comportamentais foram registradas em intervalos de 30, 60, 120, 180 e 240 minutos. Os comportamentos específicos e suas intensidades foram registrados de acordo com a metodologia proposta por Irwin (1968), conforme esquema 1.

ESQUEMA 01. TRIAGEM FARMACOLÓGICA COMPORTAMENTAL

Nome da planta : _____ Dose: _____ Parte usada: _____
 Veículo: _____ Data: ____/____/____ Via de administração: _____
 Espécie animal: _____ Sexo: _____ Responsável técnico: _____
 Grupos: _____

Atividade farmacológica	Instantes de observações				
	0,5h	1h	2h	3h	4h
1-SNC					
a) Estimulante					
Hiperatividade					
Irritabilidade					
Agressividade					
Tremores					
Convulsões					
Piloereção					
Mov. Int. vibrissas					
b) Depressora					
Hipnose					
Ptose palpebral					
Sedação					
Anestesia					
Ataxia					
Refle. Endireita.					
Catatonía					
Analgesia					
Res. Toque dimin.					
Refl. Corne dim					
Refl. Auri. dimi.					
c) outros					
Ambulação					
Bocejo excessivo					
Auto limpeza					
Levantar					
Escalar					
Vocalizar					
Sacudir a cabeça					
Contorção abdom					
Abdução posterior					
Pedalar					
Estereotípia					
2-SNA					
Tipo de fezes					
Respiração forçada					
Lacrimejamento					
Micção					
Salivação					
Cianose					
Tono muscular					
Força para agarrar					

Quantificação dos efeitos: (0): sem efeito; (-): efeito diminuído; (+): efeito presente; (++) : efeito intenso.

3.7.2 Modelo do Campo Aberto

Originalmente descrito por Hall (1941), este teste baseia-se na premissa de que roedores têm aversão a ambientes novos e abertos, utilizando o conceito de atividade exploratória para mensurar o grau de emocionalidade que o animal apresenta neste novo ambiente. O pressuposto básico é que, no intuito de explorar o ambiente, o animal precisa locomover-se nele. Dessa forma a quantidade de movimento passa a ser um indicador de atividade exploratória. A atividade exploratória pode ser relacionada com as atividades inerentes à obtenção de informação acerca do ambiente, as quais abrangem não só as respostas reflexas atencionais imediatas, como também as respostas voluntárias típicas. Essas atividades já foram anteriormente descritas como exploração passiva e ativa, respectivamente, e equivalem aos comportamentos inspetivos e inquisitivos (BIRKE & ARCHER, 1983).

A relação medo/curiosidade já foi apontada como fator motivacional gerador da atividade exploratória. Salzen (1979), por exemplo, propõe que um ambiente familiar está embutido em um conjunto de representações internas ou modelos neurais que vêm sendo construídos através de exploração e que uma discrepância entre o modelo e a informação equivalente a uma alteração ambiental serve para ativar um sistema comportamental que tem por objetivo a eliminação da discrepância. As discrepâncias relativamente pequenas, como a introdução de novos estímulos em um ambiente familiar, produzem pequenos níveis de ativação e resultam numa aproximação e investigação da fonte de alteração, o que serve para o estabelecimento de um novo modelo e eliminação da discrepância. Uma alteração brusca no modelo vigente pode levar à completa ausência de atividade exploratória.

Comportamentos como levantar-se nas patas traseiras, autolimpeza e defecação são os parâmetros mais utilizados para medir o nível de ansiedade dos animais. Sabe-se ainda

que animais expostos ao estresse ou novos estímulos sofrem um aumento na secreção de esteróides, sendo assim, a medida desse hormônio pode ser usada para quantificar o nível de emocionalidade (LEVINE *et al.*, 1967).

Por estar historicamente relacionado às pesquisas sobre emocionalidade, o campo aberto vem sendo usado utilizado para avaliar o potencial ansiolítico de drogas. O formato mais comum do campo aberto é o circular (STEIN *et al.*, 1994) mas, alguns autores também se valem do formato quadrangular (BRUHWYLER *et al.*, 1991) (Figura 8).

O aparato experimental consiste de um compartimento com paredes de madeira e com o assoalho revestido de uma chapa de eucatex, medindo 60 X 60 X 30 cm. Essa arena é colocada em uma sala com isolamento acústico e é iluminada por uma lâmpada incandescente de 60 W, posicionada a 2,50 m do aparelho.

Cinco grupos de dez ratos receberam água destilada (10 mL/Kg, v.o.), diazepam (2 mg/Kg, i.p.) ou o ETA nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg (v.o.). O grupo da água destilada e os grupos dos ETA também receberam injeções i.p. de solução salina 0,9% e o grupo diazepam também recebeu água destilada (10 mL/Kg, v.o.), como forma de normalizar os tratamentos. Trinta minutos após cada tratamento, os animais foram submetidos a sessões de cinco minutos no campo aberto e os seguintes parâmetros foram analisados: distância total percorrida, número de levantamentos sobre as patas traseiras e quantidade de tempo gasto na autolimpeza. O comportamento dos animais foi monitorado através de uma microcâmera e analisado diretamente através do programa ANYMAZE® (www.anymaze.com). O início da análise ocorre no momento em que o animal é colocado no centro da arena, já que o programa imediatamente detecta sua presença. Antes da introdução de cada animal, a arena foi limpa com álcool a 5% para eliminar possíveis pistas decorrentes de odores deixados por outros

animais. Um intervalo de três minutos foi permitido para que houvesse a completa secagem por ventilação da arena antes da introdução do próximo animal.

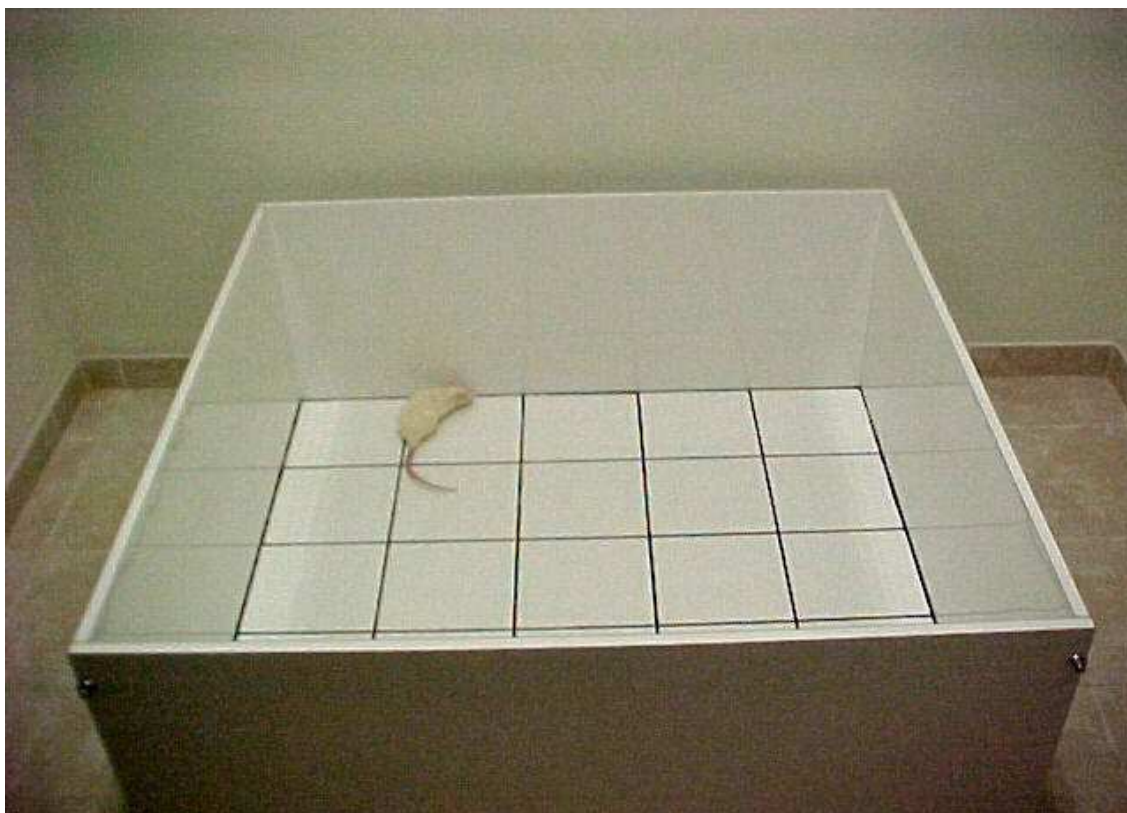


Figura 3 - O teste do campo aberto. Fotografia mostrando a arena utilizada neste teste. Os ratos exploram o novo ambiente e a distância percorrida, o número de levantamentos sobre as patas traseiras e a quantidade de tempo que os animais realizam a auto-limpeza são computados.

3.7.3 Modelo do desespero comportamental - Nado forçado

Este teste, também chamado de desespero comportamental, originalmente descrito por Porsolt *et al.* (1977), baseia-se na informação de que ratos expostos a uma situação de nado forçado tornam-se imóveis depois de um período de atividade física intensa, produzindo movimentos suficientes apenas para manter a cabeça acima da superfície da água. Como certas drogas antidepressivas alteram o tempo de imobilidade, este teste tornou-se útil como modelo para avaliação da atividade depressora ao nível do SNC.

O procedimento experimental consistiu em colocar camundongos, individualmente, em um cilindro de acrílico com 25 cm de diâmetro, 30 cm de altura e com 15 cm de água mantida a 24°C. Cada animal foi colocado por seis minutos no cilindro e o tempo de imobilidade foi registrado nos últimos quatro minutos da sessão. Os animais são

considerados imóveis quando reduzem os seus movimentos ao mínimo necessário para fazê-lo flutuar na água (SAKINA *et al.*, 1990; PAIVA *et al.*, 1998) (Figura 7).

Cinco grupos de dez camundongos receberam água destilada (10 mL/Kg, v.o.), imipramina (30 mg/Kg, i.p.) ou o ETA nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg (v.o.). Os grupos da água destilada e do ETA receberam também injeções i.p. de solução salina e o grupo imipramina também recebeu água destilada (v.o.) para normalizar os tratamentos.



Figura 4 – O Teste do Nado Forçado proposto por Porsolt *et al.* (1977). Observa-se o camundongo em situação de desespero comportamental. O animal tenta fugir de uma situação inescapável e, após alguns minutos de infrutíferas tentativas, torna-se imóvel. Este comportamento assemelha-se à depressão observada em humanos.

3.7.4 Modelo da hipotermia induzida por apomorfina

Camundongos tratados com apomorfina apresentam redução da temperatura retal e este efeito é prevenido por drogas conhecidamente antidepressivas, como a imipramina (PUECH *et al.*, 1981). A fim de confirmar uma possível atividade antidepressiva da *Hyptis pectinata* foram testados os efeitos da apomorfina sobre a temperatura retal de camundongos tratados com a planta.

Cinco grupos de dez camundongos receberam água destilada (10 mL/Kg, v.o.), imipramina (5 mg/Kg, i.p.) ou o ETA nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg (v.o.). Antes do início de cada tratamento, a temperatura basal retal dos animais foi registrada, utilizando-se um termômetro digital introduzido à cerca de 1,5 cm. Animais com a temperatura entre 37 e 38,4 °C foram selecionados e tratados com água destilada, imipramina ou o ETA e, após 30 minutos, foram injetados com apomorfina (10 mg/Kg, i.p.). Uma hora depois, a temperatura retal foi novamente registrada e comparada ao valor basal inicial.

Para verificar o exato momento da ocorrência da hipotermia, um grupo de dez camundongos foi tratado com apomorfina (10 mg/Kg, i.p.) e a temperatura retal foi medida em intervalos de quinze minutos (CIFUENTES *et al.*, 2001).

3.7.5 Modelo do Labirinto em Cruz Elevado

O Labirinto em Cruz Elevado – LCE - é, indubitavelmente, um dos mais amplamente usados modelos animais na pesquisa pré-clínica contemporânea sobre ansiedade. Este modelo baseia-se na verificação de que ratos e outros roedores evitam locais abertos e elevados. Quando neles confinados, mostram sinais de medo, congelamento, defecação, micção e aumento do nível plasmático do hormônio do stress (cortisona). É constituído de dois braços cercados por paredes, colocados perpendicularmente a dois braços abertos (50 x 10 cm), estando o conjunto elevado a 50 cm do assoalho. Vários estudos não somente confirmaram que ratos esquivam os braços abertos, como também demonstraram que esta esquivia é reduzida pelo diazepam e aumentada pela picrotoxina (agente ansiogênico) (RODGERS *et al.*, 1997; HALL, 1941; HOGG, 1996; PELLOW *et al.*, 1985; LISTER, 1987).

O LCE foi construído em madeira escura de acordo com especificações de Pellow *et al.* (1985) e colocado sobre uma base elevada a 50 cm do piso (Figura 8). O aparato foi iluminado por uma lâmpada de 60 w suspensa a 2,50 m. Os experimentos foram realizados numa sala com isolamento acústico, sendo o comportamento dos animais monitorado através de uma microcâmara, suspensa verticalmente e ligada a um computador situado em sala anexa. O esquema de montagem e localização do aparato assemelha-se ao mostrado na figura 9.

Cinco grupos de dez ratos receberam água destilada (10 mL/Kg, v.o.), diazepam (2 mg/Kg, i.p.) ou o ETA nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg (v.o.). O grupo da água destilada e os grupos dos ETA também receberam injeções i.p. de solução salina 0,9% e o grupo diazepam também recebeu água destilada (10 mL/Kg, v.o.), como forma de normalizar os tratamentos. Trinta minutos após cada tratamento, os animais foram submetidos a sessões de 5 minutos no LCE e os seguintes parâmetros foram analisados: porcentagem de entradas nos braços abertos, porcentagem do tempo de permanência nos braços abertos. O animal é colocado no centro do aparato com a cabeça voltada para o braço aberto, sendo sua presença suficiente para o início da análise. Antes da introdução de cada animal, o labirinto foi limpo com álcool a 5% para eliminar possíveis pistas decorrentes de odores deixados por outros animais. Um intervalo de três minutos foi permitido para que houvesse a completa secagem por ventilação da arena antes da introdução do próximo animal.

Os parâmetros foram automaticamente analisados pelo programa ANYMAZE[®] by STALTING.



Figura 5 - O labirinto em cruz elevado. Fotografia mostrando o labirinto em cruz elevado para estudo da atividade ansiolítica do extrato da *Hyptis pectinata* em ratos. Os animais são colocados no centro do labirinto e durante 5 minutos exploram os braços abertos e fechados do mesmo.

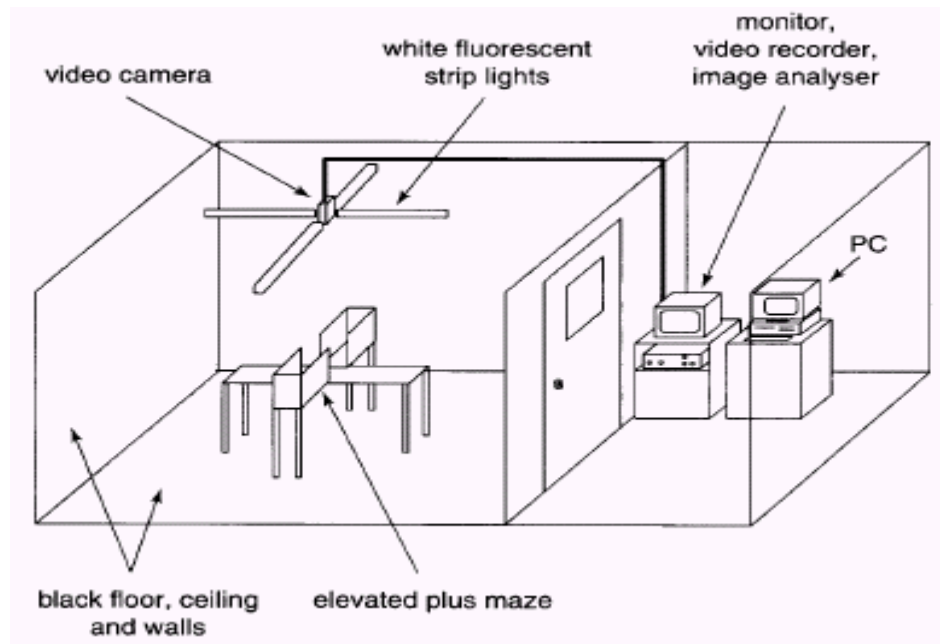


Figura 6 - Representação
Câmera de vídeo

Lâmpada
fluorescente branca

m e loc

Monitor e
gravador

onte: Dawson, 1995.

3.7.6 Teste do sono induzido por barbitúrico

Este teste parte do princípio de que drogas depressoras do SNC, em geral, reduzem a latência e/ou aumentam a duração do sono induzido por um barbitúrico (RILEY & SPINKS, 1958; MANDAL *et al.*, 2001)

O Tiopental é uma droga sedativo-hipnótica da classe dos barbitúricos, cujos efeitos dependem da via de administração e da dose utilizada. Tem caráter de ácido fraco e, por isso, em pH estomacal, está em fase não ionizada, podendo ser lipossolúvel e, assim, absorvido rapidamente para a corrente sangüínea. A lipossolubilidade tem um papel importante na determinação da taxa em que um sedativo-hipnótico atinge o SNC e a presença do átomo de enxofre na molécula dos tiobarbitúricos no lugar do oxigênio, contribui para a acentuação desse caráter nessas substâncias (KATZUNG, 1982)

A lipossolubilidade do tiopental é responsável pela velocidade de indução e pela transitoriedade do seu efeito, quando administrado ao paciente por via endovenosa. Seu metabolismo é lento e ocorre a redistribuição da droga do SNC para os músculos e para o tecido adiposo, fator que se relaciona à longa duração da “ressaca” pós-anestésica. Entre os efeitos listados sobre o tiopental, além da indução do sono, está a ausência de analgesia, a

depressão cardiovascular e a possibilidade de depressão do centro respiratório (RANG *et al.*, 2001).

Quatro grupos de dez camundongos receberam água destilada (10 mL/Kg, v.o.) ou o ETA nas doses de 100, 200 e 400 mg/Kg (v.o.) trinta minutos antes da administração intraperitoneal de pentobarbital sódico (80 mg/kg). A latência para (tempo de indução do sono) e a duração da perda (tempo de recuperação) do reflexo postural (reflexo de endireitamento) dos animais após injeção do barbitúrico, foi registrada, estabelecendo-se um limite de três horas para a observação.

A latência é o período compreendido entre a injeção do pentobarbital sódio até a perda do reflexo de endireitamento do animal, isto é, quando o animal perde a capacidade de voltar à posição normal deambulação (sobre as quatro patas) após ter sido colocado em decúbito dorsal. O animal somente é colocado nesta posição (decúbito dorsal) quando se apresenta cambaleante ou imóvel. O tempo de sono compreende o período entre a perda do reflexo de endireitamento do animal até a recuperação do mesmo. Após a recuperação deste reflexo, o animal é novamente recolocado em decúbito dorsal e somente foi considerado recuperado o animal que conseguiu retornar à posição normal em três tentativas consecutivas.

4. RESULTADOS

4.1 Triagem farmacológica comportamental

Na dose de 200 mg/kg todos os animais apresentaram leve sedação (certa sonolência sem perda de consciência), mas que normalizou até o final do experimento. No grupo tratado com 400 mg/Kg, observou-se uma redução no comportamento de autolimpeza e que se manteve até o final do experimento. O grupo controle não apresentou alterações até o final do período de observação (quatro horas).

4.2 Efeito do ETA no Teste do Campo Aberto

A ANOVA de um fator revelou diferença significativa para os parâmetros distância total percorrida ($F_{4,45}=11,410$; $p<0,001$) e autolimpeza ($F_{4,45}=11,44$; $p<0,001$) entre os grupos experimentais. Os resultados da atividade exploratória no teste do campo aberto são mostrados na tabela 4. O teste de comparações múltiplas de Tukey mostrou que somente o diazepam (2 mg/Kg) elevou a distância percorrida quando comparado ao controle ($q=7,565$,

$p < 0,001$, $n=10$) e que o ETA, nas doses testadas, não apresentou efeito neste parâmetro quando comparado ao grupo controle (Hyp100: $q=1,530$, $p > 0,05$, $n=10$; Hyp200: $q=1,228$, $p > 0,05$, $n=10$; Hyp400: $q=1,711$, $p > 0,05$, $n=10$) (gráfico 1).

O diazepam reduziu o tempo gasto no ritual de autolimpeza (controle: $107,3 \pm 14,2$; diaz: $15,4 \pm 4,3$, $q=9,049$, $p < 0,001$), um efeito que também foi observado para o ETA na dose de 400 mg/Kg (Hyp400: $51,3 \pm 8,8$ $q=5,513$, $p < 0,01$, $n=10$). Estes resultados confirmam os dados obtidos na triagem farmacológica inicial (gráfico 2).

Como se observa no gráfico 3, apesar de ocorrer um claro aumento no número de levantamentos no grupo tratado com diazepam 2 mg/Kg, não foi possível detectar diferença estatisticamente significativa ($F_{4,45}=2,460$; $p > 0,05$).

Grupo/dose mg/Kg (n)	Total de distância percorrida (m) ^a	Tempo de autolimpeza (s) ^a	Nº de levantamentos ^a
Controle 10 ml/Kg (10)	$6,78 \pm 0,92$	$107,3 \pm 14,2$	$7,8 \pm 1,21$
Diazepam 2 (10)	$17,45 \pm 2,03^{***}$	$15,4 \pm 4,33^{***}$	$14,3 \pm 1,38$
Hyp100 (10)	$8,94 \pm 0,95$	$79,48 \pm 10,79$	$11,3 \pm 1,63$
Hyp200 (10)	$5,05 \pm 1,13$	$73,72 \pm 10,75$	$6,8 \pm 2,49$
Hyp400 (10)	$9,19 \pm 1,66$	$51,31 \pm 7,96^{**}$	$8,8 \pm 2,5$

Tabela 4. Efeitos do ETA da *Hyptis pectinata* no Teste do Campo Aberto em ratos. Os números estão expressos como a média $\pm$ EPM. As diferenças entre as médias foram testadas pela Análise de Variância de um Fator (ANOVA) seguida pelo Teste de Comparações Múltiplas de Tukey. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

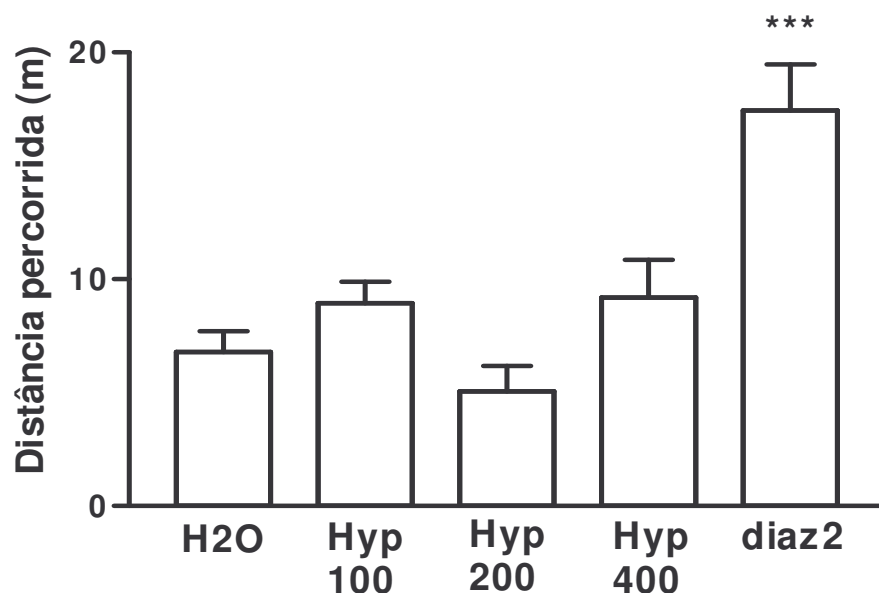


Gráfico 1 – Efeito do ETA de *Hyptis pectinata* na distância percorrida no Teste do Campo Aberto. Hyp100, Hyp200 e Hyp400 referem-se às doses do ETA usadas e H2O à água. Somente o diazapam (diaz2) elevou a distância percorrida. *** $p < 0.001$ vs água. ANOVA de um fator seguida do Teste de Tukey. Média $\pm$ EPM.

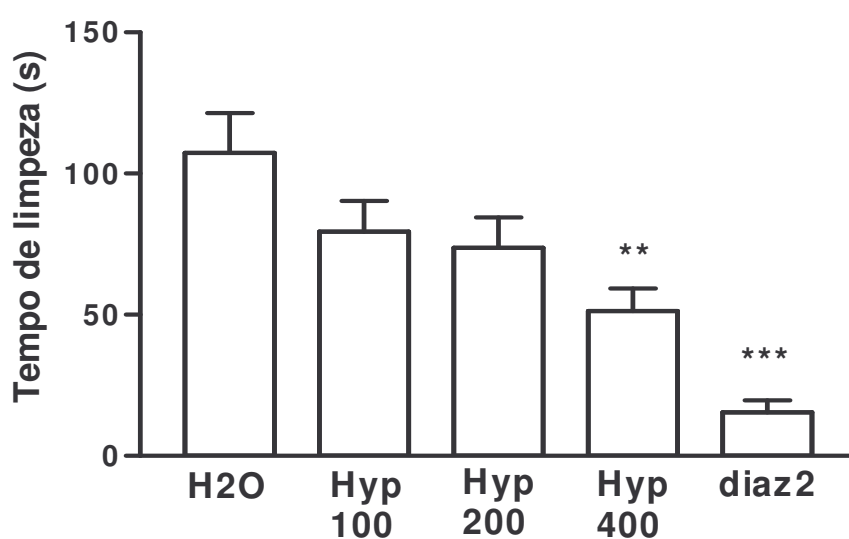


Gráfico 2 – Efeito do ETA de *Hyptis pectinata* no tempo de limpeza no Teste do Campo Aberto. O ETA na dose de 400 mg/Kg teve efeito similar ao diazepam na redução do tempo de auto-limpeza. ** $p < 0.01$, *** $p < 0,001$ vs água. ANOVA de um fator seguida do Teste de Tukey. Média $\pm$ EPM.

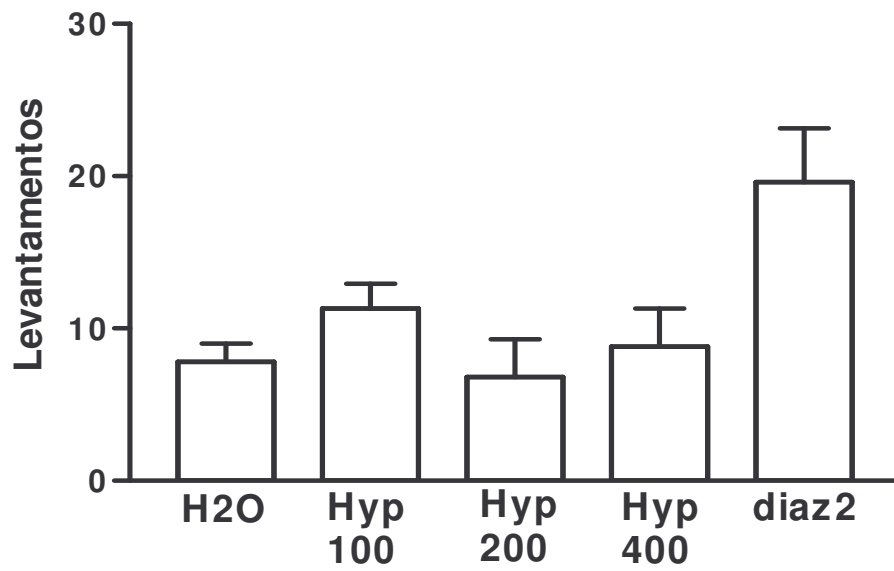


Gráfico 3 - Efeito do ETA da *Hyptis pectinata* no número de levantamentos no Teste do Campo Aberto. Nenhuma diferença significativa foi observada sobre a ação do ETA neste parâmetro. Média $\pm$ EPM.

4.3 Efeito do ETA sobre o tempo de imobilidade no modelo do desespero comportamental – Nado Forçado

A ANOVA de um fator revelou diferença estatística entre os grupos experimentais para o teste do Nado Forçado ($F_{4,40}=15,810$; $p<0.001$). Como esperado, a imipramina (30 mg/Kg) reduziu o tempo de imobilidade, como mostrado pelo Teste de Comparações Múltiplas de Tukey. O mesmo efeito foi visto para a dose de 400 mg/Kg que reduziu significativamente o tempo em que os animais permaneceram imóveis (gráfico 4). Estes animais mantiveram apenas alguns movimentos suficientes para manter a cabeça fora d'água e não afundar. As doses de 100 e 200 mg/Kg não apresentaram efeito sobre o tempo de imobilidade (tabela 5).

Grupo/dose mg/Kg (n)	Tempo de imobilidade (s) ^a
Controle 10 ml/Kg (10)	181,3 ± 7,2
Imipramina 30 (10)	91,67 ± 8,9***
Hyp100 (10)	196,1 ± 6,9
Hyp200 (10)	158,1 ± 15,5
Hyp400 (10)	111,6 ± 14,5***

Tabela 5. Efeito do ETA da *Hyptis pectinata* sobre o tempo de imobilidade no modelo do Nado Forçado. Os números estão expressos como a média ± EPM. ** $p<0,01$; *** $p<0,001$ vs controle. ANOVA seguida do Teste de Tukey

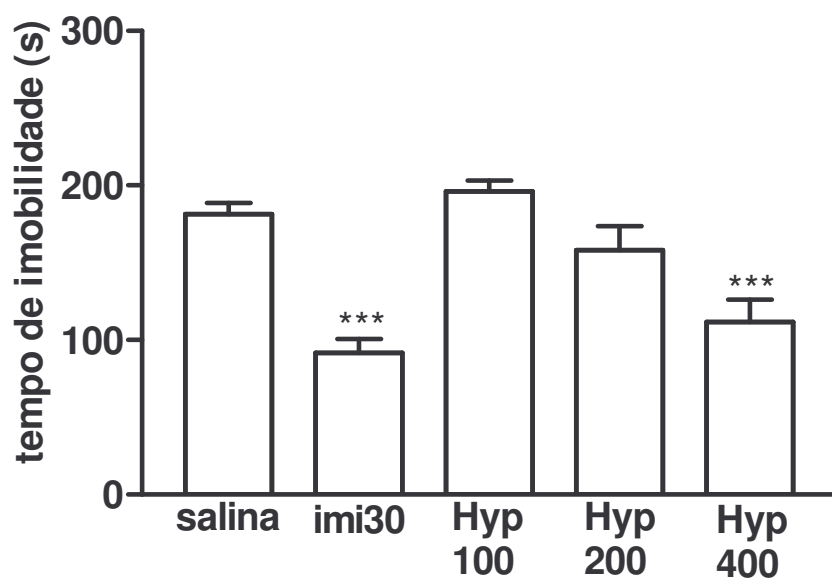


Gráfico 4 - Efeito do ETA de *Hyptis pectinata* sobre o tempo de imobilidade no Teste do Nado Forçado em camundongos. Hyp100, Hyp200 e Hyp400 referem-se às doses do extrato usado (100, 200 e 400 mg/Kg). Na dose de 400 mg/Kg, o extrato mostrou efeitos similares ao grupo tratado com imipramina (imi30 refere-se a imipramina 30 mg/Kg, i.p.). Os valores estão expressos em média ± EPM. *** $p < 0.001$ vs controle salina. ANOVA de um fator seguida do Teste de Tukey.

4.4 Efeito do ETA na hipotermia induzida por apomorfina

Com o propósito de confirmar um possível efeito antidepressivo da *Hyptis pectinata*, procedeu-se investigação deste achado, baseando-se no fato de que drogas, classicamente usadas na depressão, minimizam a redução da temperatura retal induzida por apomorfina (PUECH *et al.*, 1981).

Neste experimento foi necessário determinar o momento exato para medição da temperatura retal dos animais. Para isso, foi estabelecido o pico da hipotermia após a administração da apomorfina. Os resultados revelaram que há uma ligeira elevação da temperatura retal em relação à temperatura basal ($+0,32\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,03$) mas, que logo regride, atingindo o pico máximo após uma hora ($-1,01\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,06$) (tabela 6). A normalização ocorre imediatamente após este momento (gráfico 5). Estabelecido e confirmado o pico máximo de hipotermia, foram testadas as doses do extrato.

A ANOVA de um fator revelou diferença significativa na redução de temperatura entre os grupos experimentais ($F_{4,45}=12,94$; $p<0,0001$), conforme mostra o gráfico 6. O antidepressivo tricíclico imipramina (5 mg/Kg) inibiu a hipotermia induzida por apomorfina, como mostrado no Teste de Tukey (controle: $-1,08\text{ }^{\circ}\text{C}$; imip: $0,02\text{ }^{\circ}\text{C}$, $q=7,589$, $p<0,0001$, $n=10$). O mesmo efeito foi visto para o extrato na dose de 200 mg/Kg (Hyp200: $q=5,588$, $p<0,01$, $n=10$), mas não para as dose de 100 e 400 mg/Kg (Hyp100: $-0,73\text{ }^{\circ}\text{C}$, $q=2,415$; Hyp400: $-1,2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $q=0,827$, $p>0,05$, $n=10$) (tabela 7).

Temperatura retal (°C) ^a					
Droga (n)	T15 min	T30 min	T45 min	T60 min	T75 min
Apomorfina 10 mg/Kg (10)	0,19 ± 0,02	0,32 ± 0,03	-0,37 ± 0,11	-1,01 ± 0,06	-0,39 ± 0,05

Tabela 6 - Diferença entre a temperatura basal retal e a temperatura após administração de apomorfina em camundongos. Os números estão expressos como a média ± EPM.

Grupo/dose mg/Kg (n)	Temperatura basal (°C) ^a	Temperatura após apomorfina (°C) ^a	Variação
Controle 10 ml/Kg (10)	38,12 ± 0,1	37,04 ± 0,1	-1,08
Imipramina 5 (10)	37,88 ± 0,1	37,9 ± 0,08	0,02***
Hyp100 (10)	38,13 ± 0,08	37,4 ± 0,2	-0,73
Hyp200 (10)	37,57 ± 0,08	37,3 ± 0,06	-0,27**
Hyp400 (10)	38,02 ± 0,1	37,4 ± 0,2	-1,2

Tabela 7 -Efeitos do ETA da *Hyptis pectinata* na hipotermia induzida por apomorfina

Os números estão expressos como a média ± EPM. ** p<0,01; ***p<0,001 vs controle. ANOVA seguida do Teste de Tukey

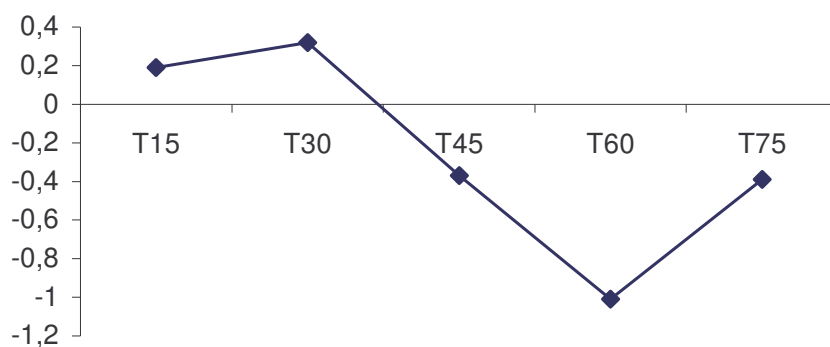


Gráfico 5 – Variação temporal da temperatura retal de camundongos após administração de apomorfina. Valores expressos como média ± EPM.

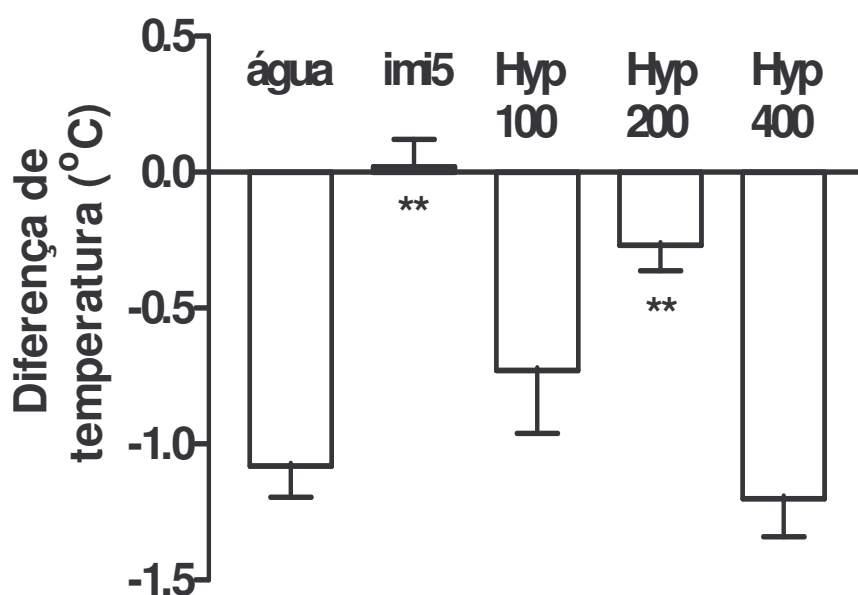


Gráfico 6 - Efeito do ETA da *Hyptis pectinata* no teste da hipotermia induzida por apomorfina. Os valores estão expressos como a diferença da temperatura retal antes e após uma hora da administração de apomorfina (média $\pm$ EPM). Na dose de 200 mg/Kg o extrato apresenta efeito similar ao grupo tratado com imipramina (imi5 refere-se a imipramina 5mg/Kg). ** $p < 0.01$, $p < 0,001$ vs água. ANOVA de um fator seguida do Teste de Tukey.

4.5 Efeito do ETA no modelo do Labirinto em Cruz Elevado

Os dados referentes à atividade ansiolítica no Labirinto em Cruz Elevado estão presentes na tabela 8. A ANOVA de um fator mostrou que há diferença significativa na porcentagem do tempo de permanência e na porcentagem do número de entradas dos ratos nos braços abertos do labirinto nos diferentes grupos experimentais ($F_{4,45} = 6.054$; $p < 0.001$).

O teste de comparações múltiplas de Tukey mostrou que o diazepam (2 mg/Kg), como esperado, elevou a porcentagem do tempo de permanência (gráfico 7) e a porcentagem do número de entradas (gráfico 8) dos animais nos braços abertos quando comparado ao

controle, porém, nenhum efeito foi observado para o extrato da *H. Pectinata* nestes parâmetros.

Nenhum efeito foi observado sobre a distância total percorrida pelos ratos neste teste (gráfico 9).

Grupo/dose mg/Kg (n)	% tempo de permanência nos braços abertos	% número de entradas nos braços abertos
Controle 10 ml/Kg (10)	25,48 ± 6,49	28,17 ± 4,09
Diazepam 2 (10)	68,57 ± 10,07*	64,51 ± 7,32*
Hyp100 (10)	14,18 ± 4,63	19,62 ± 5,63
Hyp200 (10)	28,04 ± 10,56	32,56 ± 9,83
Hyp400 (10)	32,803 ± 13,29	43,3 ± 13,01

Tabela 8 - Efeito do ETA da *Hyptis pectinata* sobre o modelo do Labirinto em Cruz Elevado em ratos. *p<0,05. Os números estão expressos como a média ± EPM.

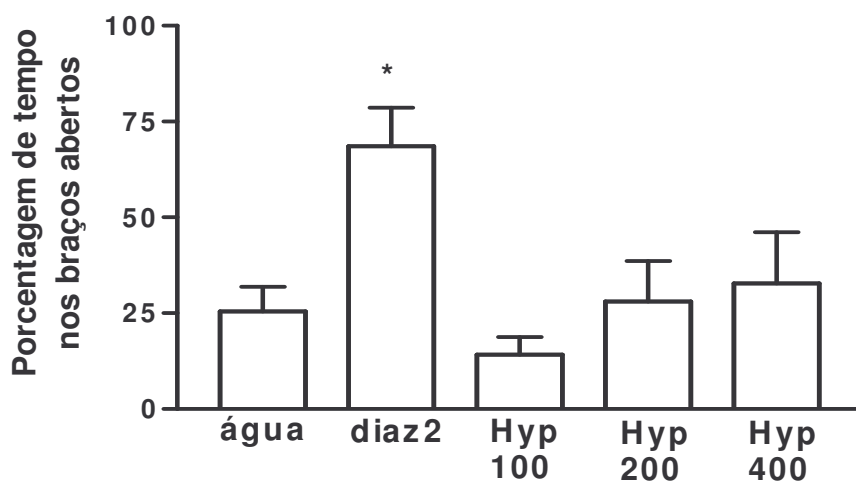


Gráfico 7 – Efeito do ETA de *Hyptis pectinata* sobre a porcentagem de tempo de permanência no braço aberto do Labirinto em Cruz Elevado. * p < 0.05 vs água. Os valores estão expressos em média ± E.P.M.

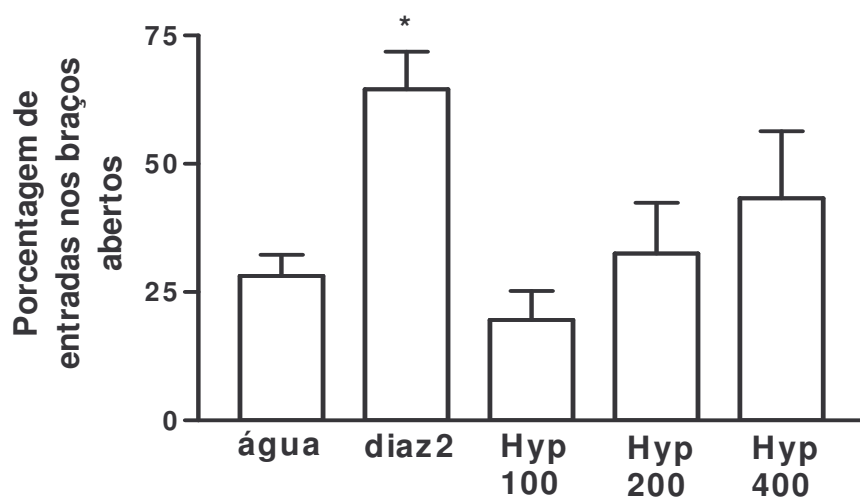


Gráfico 8 – Efeito do ETA de *Hyptis pectinata* sobre a porcentagem do número de entradas nos braços abertos do Labirinto em Cruz Elevado. * $p < 0.05$ vs controle água. Os valores estão expressos em média $\pm$ E.P.M.

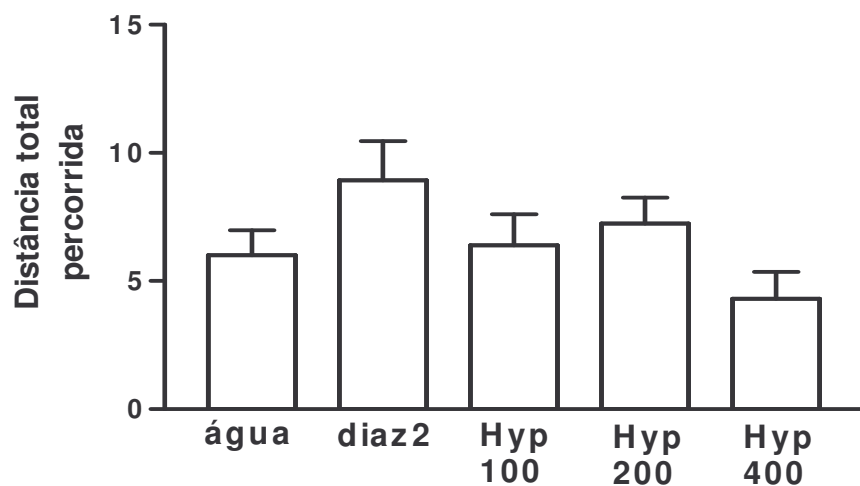


Gráfico 9 – Efeito do ETA de *Hyptis pectinata* sobre a distância total percorrida dos ratos no Labirinto em Cruz Elevado. Os valores estão expressos em média $\pm$ E.P.M.

4.6 Efeito do ETA no teste da potencialização do tempo de sono induzido por tiopental sódico.

No teste de tempo de sono induzido por barbitúrico a ANOVA de um fator não mostrou diferença significativa para o parâmetro latência nos diferentes grupos experimentais ($F_{3,35}=2,001$; $p>0,05$) (gráfico 10), nem tampouco para a duração do sono ($F_{3,34}=4,031$; $p>0,05$) (gráfico 10).

Grupo/dose mg/Kg (n)	Tempo de latência do sono (min) ^a	Tempo de duração do sono (min) ^a
Controle 10 ml/Kg (10)	2,2 ± 0,1	61,2 ± 5,7
Hyp100 (10)	1,6 ± 0,1	28,6 ± 10,3
Hyp200 (10)	2 ± 0,2	76,13 ± 21,5
Hyp400 (10)	1,8 ± 0,2	31,10 ± 5,3

Tabela 9 - Efeito do ETA da *Hyptis pectinata* na potencialização do tempo de sono induzido por tiopental sódico. Os números estão expressos como a média ± SEM.

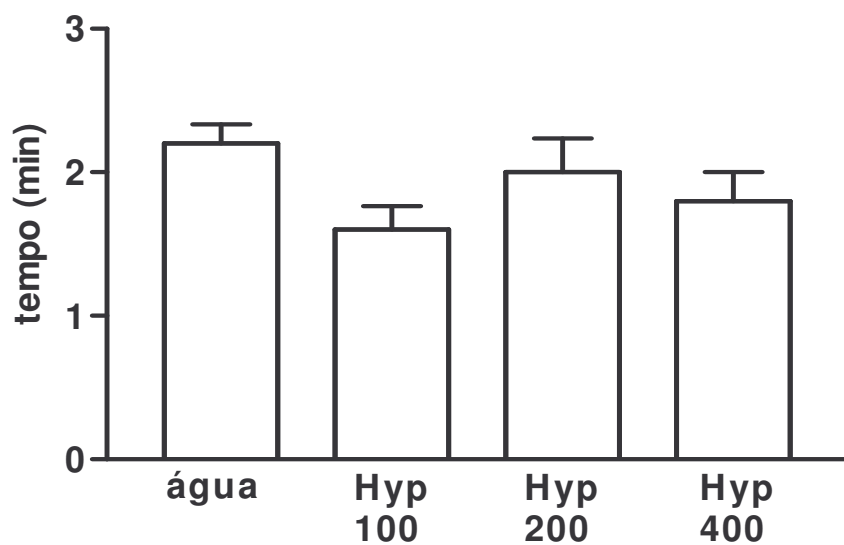


Gráfico 10 – Efeito do ETA de *Hyptis pectinata* na latência para o desaparecimento do reflexo de endireitamento em camundongos após administração i.p. de tiopental sódico. Os valores estão expressos em média $\pm$ EPM.

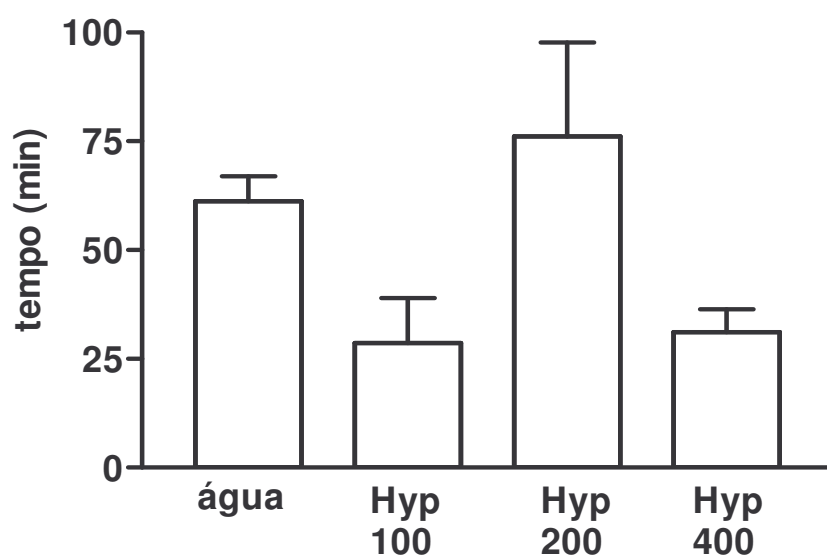


Gráfico 11 – Efeito do ETA de *Hyptis pectinata* na duração do tempo de sono em camundongos após administração i.p. de tiopental sódico. Os valores estão expressos em média $\pm$ EP.

5. DISCUSSÃO

Foram avaliados neste trabalho, os efeitos centrais do extrato aquoso obtido das folhas da *Hyptis pectinata*. Os resultados mais expressivos obtidos no Teste do Nado forçado e no teste da hipotermia induzida por apomorfina apontam para uma propriedade antidepressiva desta planta.

A triagem farmacológica inicial não revelou maiores alterações comportamentais, fato condizente com a baixa toxicidade do extrato, conforme descrito por Bispo *et al.* (2001), que administraram doses de até 5 g/Kg (v.o.) a camundongos. Contudo, foi possível observar um leve efeito sedativo na dose de 200 mg/Kg e redução no comportamento de autolimpeza na dose de 400 mg/Kg do extrato. Este achado sugere uma ação típica de drogas com atividade depressora do SNC porém, no teste do sono induzido por barbitúrico, específico para detectar tais efeitos, não foi evidenciada qualquer alteração, tanto na latência quanto na duração do sono dos animais. Uma possível explicação pode estar relacionada à ocorrência de apenas um efeito transitório, que não foi suficiente para potencializar a ação do barbitúrico.

No teste do Campo Aberto, usado para mensurar a atividade exploratória dos animais, não foi possível verificar nenhuma alteração nos grupos tratados com o ETA nos parâmetros distância percorrida e número de levantamentos, quando comparado ao grupo controle. No entanto, como esperado, o grupo tratado com diazepam apresentou uma elevação nestes parâmetros. Este achado está de acordo com dados da literatura de que os benzodiazepínicos, quando administrados em baixas doses, provocam elevação na atividade exploratória dos animais (GARDNER & PIPER, 1982; ONGINI *et al.*, 1982; CRAWLEY, 1985). Segundo Salzen (1979), a atividade exploratória está relacionada à tentativa de suplantar a discrepância provocada pela confrontação entre as representações neurais internas

de um ambiente familiar e aquela obtida através da introdução do animal em um ambiente novo. Considera-se que, para explorar, o animal necessita locomover-se, erguer-se sob as patas traseiras, transitar entre áreas iluminadas, tornando estes comportamentos, parâmetros para medir o nível de ansiedade. Os benzodiazepínicos, drogas que medeiam a resposta sináptica inibitória rápida produzida pela atividade nos neurônios gabaérgicos, atuam desinibindo estes comportamentos (RANG *et al.*, 2001).

Apesar de a atividade exploratória não sofrer alterações no Teste do Campo Aberto, o comportamento de autolimpeza apresentou uma redução significativa quando comparado ao grupo controle, similarmente ao grupo tratado com diazepam. Alguns autores têm demonstrado que ratos expostos a situações estressantes, como em ambientes não familiares, apresentam uma frequência aumentada no comportamento de autolimpeza e que este comportamento tem a finalidade de reduzir a excitação após a situação estressante, servindo a homeostase (DELLIUS, 1967; COLBERN *et al.*, 1978;; JOLLES *et al.*, 1979). Outros autores sugerem que a autolimpeza serve para regulação da temperatura ou dispersão de substâncias químicas (HAINSWORTH, 1967; THIESSEN, 1988). Paralelamente às finalidades da autolimpeza, sabe-se que existe uma relação direta entre este comportamento e o nível de corticosteróides e que a administração de ocitocina, α -MSH e ACTH diretamente no núcleo paraventricular do hipotálamo, inicia e mantém este comportamento, sugerindo uma relação com a resposta neuroendócrina ao estresse proveniente do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal – HHA - (ADER, 1973, *apud* MISSLIN, 1986; DUNN *et al.*, 1979; VAN ERP *et al.*, 1993; VAN ERP *et al.*, 1994;). Tais dados sugerem uma possível ação do Extrato Total Aquoso da *Hyptis pectinata* em algum ponto do eixo HHA.

O teste no Labirinto em Cruz Elevado não revelou qualquer alteração no comportamento dos ratos decorrente da administração do extrato, descartando a hipótese de

associação do efeito antidepressivo com um possível efeito ansiolítico. No entanto, não há um consenso estabelecido sobre esta relação. Estudos clínicos têm demonstrado alta correlação entre depressão e ansiedade (KELLER & HANKS, 1993; FILE, 1996), sugerindo um substrato neurológico comum para essas patologias. Contudo, em experimentos que utilizam modelos animais, os resultados são conflitantes. Ferré *et al.* (1994), encontrou uma alta correlação entre o tempo de imobilidade no Teste do Nado Forçado e a latência para entrada nos braços abertos do Labirinto em Cruz Elevado. Por outro lado, Andreatini & Bacellar (1999), estudando o comportamento de camundongos em dois modelos distintos, não encontrou correlação significativa. Em estudos com vegetais, pode-se citar a *Kielmeyera coriacea*, que teve suas propriedades ansiolíticas confirmadas no teste do Labirinto em Cruz Elevado, porém não apresentou efeito antidepressivo no teste do Nado Forçado (AUDI *et al.*, 2003). Diferentemente, o extrato de *Hypericum perforatum* apresentou efeito antidepressivo e ansiolítico em uma variedade de modelos experimentais (DI CARLO *et al.*, 2001). Algumas drogas sintéticas clássicas têm apresentado efeito intrigante. Maj *et al.*, 1985, demonstraram que a carbamazepina, droga usada como anticonvulsivante, possui efeito antidepressivo no teste do nado forçado, porém Zangrossi *et al.*, 1992, demonstraram um aumento da porcentagem do número de entradas no braço aberto do LCE, sugerindo um efeito ansiolítico. Neste trabalho, somente o diazepam elevou a porcentagem do número de entradas nos braços abertos e a porcentagem do tempo de permanência nos braços abertos do LCE. Este resultado está de acordo com dados encontrados na literatura (RODGERS *et al.*, 1997; PENG *et al.*, 2000; CRYAN *et al.*, 2002). Pode-se ainda considerar, que este efeito não foi devido a um aumento na atividade locomotora, pois nenhuma alteração foi observada no parâmetro distância total percorrida.

A redução do tempo de imobilidade dos animais obtida no Teste do Nado Forçado sugere uma possível ação antidepressiva do extrato, de forma similar a imipramina, classicamente usada na terapêutica para redução de sintomas depressivos. Alguns autores demonstraram uma relação entre o aumento da atividade locomotora e a redução do tempo de imobilidade (SHERMAN *et al.*, 1982; BORSINI & MELI, 1988), contudo, o teste do campo aberto e o do labirinto em cruz elevado não revelaram qualquer estímulo locomotor, sugerindo que a redução no tempo de imobilidade, seja proveniente apenas da ação antidepressiva do extrato. De forma semelhante, Sakina *et al.*, (1990), ao estudarem os efeitos centrais do extrato etanólico das folhas de *Ocimum sanctum*, detectaram uma redução no tempo de imobilidade no teste do nado forçado.

Estudos indicam que eventos estressantes são freqüentemente associados com a depressão e que muitas similaridades são encontradas nos padrões comportamentais do estresse crônico e nos sintomas da depressão (ANISMAN & ZACHARKO, 1982; KATZ *et al.*, 1981; WESS *et al.*, 1981). Segundo Nemeroff (1996) e Mitchell (1998), a hiperatividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal – HHA - está diretamente relacionada aos sintomas da depressão e a remissão do quadro depressivo ocorre, paralelamente, à normalização desse eixo. Portanto, esta assertiva vem corroborar com os dados obtidos referentes à redução do comportamento de autolimpeza no teste do campo aberto, onde parece haver uma interação do extrato com o eixo HHA.

No sentido de se ter um importante resultado confirmativo e de se obter alguma especulação sobre os mecanismos envolvidos na ação antidepressiva do extrato em teste, usou-se o modelo da hipotermia induzida por apomorfina. De acordo com Puech *et al.* (1981), a hipotermia causada por uma alta dose de apomorfina, um agonista dopaminérgico, é fortemente antagonizada por drogas antidepressivas, como a imipramina, ou por drogas

potencialmente antidepressivas. Neste teste, o extrato antagonizou o efeito hipotérmico da apomorfina. De forma inesperada, a dose de 400 mg/Kg não apresentou qualquer efeito, sugerindo que em altas doses, a presença de outros constituintes do extrato, possa mascarar o efeito antidepressivo neste modelo comportamental.

Considerando a grande quantidade de substâncias existentes em um extrato bruto e a possibilidade de mistura de princípios ativos, considera-se necessário a realização de novos estudos utilizando-se diferentes frações do extrato, a fim de se obter dados mais consistentes sobre sua bioatividade. É importante destacar que todos os experimentos realizados neste trabalho referem-se a tratamentos agudos, havendo a possibilidade de ocorrerem efeitos diferentes em tratamentos crônicos. Assim, considerando o fato de que os efeitos esperados dos antidepressivos usados na clínica médica, somente ocorrem após certo período de uso, é desejável a realização de novos estudos, visando o conhecimento dos efeitos a longo prazo.

Este trabalho representa uma contribuição inicial na compreensão dos efeitos do extrato das folhas de *Hyptis pectinata* sobre o SNC e surge da necessidade de se obter novos conhecimentos, visando identificar ações adversas ou não, direcionando futuros estudos e assim contribuir para a efetiva segurança do seu uso pela população. Os dados aqui apresentados ampliam as possibilidades terapêuticas e sugerem sua utilização no tratamento de sintomas da depressão leve. Contudo, novos estudos serão necessários para o estabelecimento dos mecanismos de ação e da dosagem eficaz.

Em suma, os efeitos aqui apresentados, associados às propriedades antimicrobianas, analgésicas, antiinflamatória e de regeneração hepática tornam esta planta um importante objeto de estudo para futuras pesquisas farmacológicas.

6. CONCLUSÃO

Considerando os resultados obtidos na presente investigação, é possível concluir que o extrato aquoso da *Hyptis pectinata*, nas doses testadas, não possui efeito ansiolítico ou depressor do Sistema Nervoso Central, resultado compatível com sua baixa toxicidade. Porém, nos modelos de depressão utilizados, o extrato apresentou efeito preventivo ao estresse e à depressão.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADER, R. FRIEDMAN, S.B. (1968). **Plasma corticosterone response to environmental stimulations: effects of duration of stimulation and the 24-hour adrenocortical rhythm.** *Neuroendocrinology*, 3:378-385. 1968. In: Misslin, R., Cigrang, M. *Behavioral Process*, 12: 45-50, 1986.

AL-YOUSUL, M.H., BASHIR, A.K., ALI, B.H., TANIRA, M.O.M., BLUNDEN, G. (2002). **Some effects of *Salvia aegyptiaca* L. on the central nervous system in mice.** *Journal of Ethnopharmacology*, 81: 121-7.

ANDREATINI, R., BLANCHARD, C., BLANCHARD, R., BRANDÃO, M.I., CAROBREZ, A.P., GRIEBEL, G., *et al.* (2001). **The brain decade in debate: II. Panic or anxiety? From animal models to a neurobiological basis.** *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34: 145-154.

ANISMAN, H., ZACHARKO, R.M. (1982). **Depression: The predisposing influence of stress.** *Behavioral Brain Science*, 5: 89-137.

ASSIS, T.S., ALMEIDA, R.N., BARBOSA-FILHO, J.M., MEDEIROS, I.A. (2001). **CNS pharmacological effects of the total alkaloidal fraction from *Albizia inopinata* leaves.** *Fitoterapia*, 72: 124-130.

AUDI, E.A., OTOBONE, F., MARTINS, J.V.C., CORTEZ, D.A.G. (2002). **Preliminary evaluation of *Kielmeyera coriacea* leaves on the central nervous system.** *Fitoterapia*, 73: 517-19.

AWAD, M., CASTRO, P.R.C. (1989). **Introdução à fisiologia vegetal.** São Pulo: Nobel.

BALDESSARINI, R.J. (1995). **Depression and mania.** In: Hardman, J.G. Limbird, L.E., Molinoff, P.B. Ruddon, R.W., Gilman, AG. *The pharmacological basis of therapeutics*. 9th ed. New York: MacGraw-Hill, 431-460.

BALME, F. (1982). **Plantas Medicinais.** São Paulo: Hemus, p. 5-6.

BELZUNG, C., LE PAPE, G. (1994). **Comparsion of different behavioral test situations used in psychopharmacology for measurement of anxiety.** Physiology & behavior, 56(3): 623-628.

BENAVIDEZ, J., BEGASSAT, F., PHAN, T., TUR, C., UZAN, A., RENAULT, C. (1984). **Histidine modification with diethylpyrocarbonate induces a decrease in the binding of an antagonist, PK 11195, but not of na agonist, RO-4864, of the peripheral benzodiazepine receptors.** Life science, 1249-1256.

BIRKE, L.I.A., ARCHER, J. (1983). **Some issues and problems in the study of animal exploration. Exploration in animals and humans.** Canbridge: University press, p. 279.

BISPO, M.D., MOURÃO, R.H., FRANZOTTI, E.M., BOMFIM, K.B., ARRIGONI-BLANK, M.F., MORENO, M.P., MARCHIORO, M., ANTONIOLLI, A.R. (2001). **Antinociceptive and antiedematogenic effects of the aqueous extract of *Hyptis pectinata* leaves in experimental animals.** Journal of Ethnopharmacol, 76: 81-6.

BOALINO, D.M., CONNOLLY, J.D., MCLEAN, S., REYNOLDS, W.F., TINTO, W.F. (2003). **α -Pyrones and a 2(5H)-furanone from *Hyptis pectinata*.** Phytochemistry, 64: 1303-7.

BORSINI, F. & MELI, A. (1988). **Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity?.** Psychopharmacology (Berlim), 94: 147-160.

BRAGGIO, M.M., LIMA, M.E.I., VEASEY, E.A., HARAGUCHI, M. (2002). **Atividades farmacológicas das folhas de *Sesbania virgata* (CAV.) pers.** Arquivos do instituto biológico, 69(4): 49-53.

BRASIL. (2002). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Indicadores de desenvolvimento sustentável.** Rio de Janeiro: Estudos e pesquisas geográficas.

BRUHWYLER, J., CHLEIDE, E., LIÉGEOIS, J.F., DELARGE, J., MERCIER, M. (1991). **Effects of specific dopaminergic agonists and antagonists in the open field test.** Pharmacological biochemistry behaviour, 39:367-371.

CARLINI, E.A. (2003). **Plants and central nervous system.** Pharmacology, biochemistry and behavior. No prelo.

CARLINI, E.A., CONTAR, J.D.P., SILVA-FILHO, A.R., SILVEIRA-FILHO, N.G., FROCHTENGARTEN, M.L., BUENO, O.F. (1986). **Pharmacology of lemon grass (*Cymbopogon citratus* Stapf). I. Effects of teas prepared from de the leaves on laboratory animals.** Journal of ethnopharmacology, 17(1): 37-64.

CARVALHO, I.B.M. (1999). **O uso popular de plantas medicinais da caatinga do povoado de curituba: município de Canidé do São Francisco.** [dissertação] Sergipe (SE): Núcleo de Pós-Graduação em Estudos do Semi-árido da UFS.

CHATTOPADHYAY, D., AURUNACHALAM, G., SUBHASH-MANDAL, C., BHADRA, R., ASIT-MANDAL, B. (2003). **CNS activity of methanol extract of *Mallotus pelatus* (Geist) Muell Arg. Leaf: na ethnomedicine of Onge.** Journal of Ethnopharmacology, 85: 99-105.

CIFUENTES, C.M., GÓMEZ-SERRANILLOS, M.P., IGLESIAS, I., VILLAR DEL FRESNO, A.M. (2001). **Neuropharmacological profile of ethnomedicinal plants of Guatemala.** Journal of Ethnopharmacology, 76: 223-228.

COLBERN, D.L., ISAACSON, R.L., GREEN, E.J., GISPEN, W.H. (1978). **Repeated intraventricular injections of ACTH₁₋₂₄: the effects of home or novel environments on excessive grooming.** Behavioral Biology, 23: 381-387.

CORRÊA, A.D., SIQUEIRA-BATISTA, R., QUINTAS, L.E.M. (1998). **Plantas medicinais: do cultivo à terapêutica.** São Paulo: Vozes, p. 9-11.

CRAWLEY, J.N. (1985). **Exploratory behavior models of anxiety in mice.** Neuroscience & biobehavioral reviews, 9: 37-44.

CRYAN, J.F., MARKOU, A., LUCKI, I. (2002). **Assesssing antidepressant activity in rodents: recent development and future needs.** Trends in pharmacological sciences, 23(5): 238-244.

DANDIYA, P.C., COLLUMBINE, H. (1959). **Studies on *Acorus calamus* (III): some pharmacological action of the volatile oil.** Journal of Pharmacological and Experimental Therapeutics, 125: 353-359.

DAWSON, G.R., TRICKLEBANK, M.D. (1995). **Use of the levated plus maze in the search for novel anxiolytic agents.** *TiPS*, 16: 33-36.

DE SOUZA, E.B., ANHOLT, R.R.H., MURPHY, K.M.M., SNYDER, S.H, KUHAR, M.J. (1985). **Peripheral type benzodiazepine receptors in endocrine organs: autoradiographic localization in rat pituitary, adrenal and testis.** *Endocrinology*, 116: 475-496.

DELAY, J., DENIKER, P. (1961). **Methods chimiothérapiques en psychiatrie: les nouveaux médicaments psychotropes.** Paris: Mason et Cie.

DELLIUS, J.D. (1967). **Displacement activities and arousal.** *Nature*, 214: 1259-1260.

DIAS, B.F.S. (1996). **A implementação da convenção sobre diversidade biológica no Brasil: desafios e oportunidades.** Campinas: André Tosello.

DI CARLO, G., BORRELI, F., ERNEST, E., IZZO, A.A. (2001). **St. John's wort: Prozac from the plant kingdom.** *Trends Pharmacol Sciense* 22: 292-297.

DUNN, A.J., GREEN, E.J., R.L. (1979). **Intracerebral adrenocorticotropic hormone mediates novelty-induced grooming in the rat.** *Science*, 203: 281-283.

DUNN, A.J., GUILD, A.L., NEAL, KRAMARCY, N.R., WARE, M.D. (1981). **Benzodiazepines decrease grooming in response to novelty but not ACTH or β -endorphin.** *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 15: 605-608.

ELIZABETSKY, E. (1997). **Etnofarmacologia de algumas tribos brasileiras.** In: Ribeiro, D. *Suma etnológica brasileira*, v.1. Petrópolis: Vozes.

FERRAZ, A.C., ANGELUCCI, E.M., COSTA, M.L., BATISTA, I.R., OLIVEIRA, B.H., CUNHA, C. (1999). **Pharmacological evaluation of Ricinine, a central nervous stimulant isolated from *Ricinus communis*.** *Pharmacology biochemistry and behavior*, 63(3): 367-375.

FERREIRA, S.H. (1998). **Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil.** Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, p. 33-4.

FILE, S.E. (1996). **Recent developments in anxiety, stress, and depression.** Pharmacological Biochemistry Behavior, 54: 3-12.

FRAGOSO-SERRANO, M., GIBBONS, S., PEREDA-MIRANDA, R. (2005). **Anti-staphylococcal and cytotoxic compounds from *Hyptis pectinata*.** Planta Medica, 71: 278-280.

FRAGOSO-SERRANO, M., GONZALEZ-CHIMEO, E., PEREDA-MIRANDA, R. (1999). **Novel labdane diterpenes from the insecticidal plant *hyptis spicigera*.** Journal of natural products, 62: 45-50.

GARDNER, C.R., PIPER, D.C. (1982). **Effects of agents which enhance GABA-mediated neurotransmission on licking conflict in rats and exploration in mice.** European Journal of Pharmacology, 83: 25-33.

GRAEFF, F.G. (1984). **Drogas psicotrópicas e seu modo de ação.** São Paulo: Edusp, p.19-20; 38-43; 55.

GRAEFF, F.G., BRANDÃO, M.L. (1999). **Neurobiologia das doenças mentais.** 5^a ed. São Paulo: Lemos, p.104-105; 159.

GRAEFF, F.G., GUIMARÃES, F.S. (1999). **Fundamentos de Psicofarmacologia.** São Paulo: Atheneu, p. 99;102;124; 133-134.

GSCHWEND, H.W. (1984). **Chemical approaches to the development of anxiolytics. In: Treit D. Animal models for the study of anti anxiety agents: a review.** Neuroscience & biobehavioral reviews, 9:203-222.

GUYTON, A.C., HALL, J.E. (1997). **Tratado de fisiologia médica.** 2^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

HAINSWORTH, F.H. (1967). **Saliva spreading, activity and body temperature regulation in the rat.** American Journal of Physiology, 212: 1288-1292.

HALL, C.S. (1941). **Temperament: a survey of animal studies.** Psychol. Bull. 38: 909-943.

HENDRIE, C.A., WEISS, S.M., EILAM, D. (1996). **Exploration and predation models of anxiety: evidence from laboratory and wild species.** Pharmacology biochemistry behavior, 54(1): 13-20.

HOGG, S. (1996). **A review of validity and variability of elevated plus-maze an animal model of anxiety.** Pharmacology biochemistry and behaviour, 54(1): 21-30.

IRWIN, S. (1968). **Comparative observacional assessment: I. a. A systematic quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse.** Psychopharmacologia (Berlin), 13: 222-257.

JOLLES, J., ROMPA-BARENDREGT, J., GISPEN, W.H. (1979). **Novelty and grooming behavior in the rat.** Behavioral Neural Biology, 25: 563-572.

KANDEL, E.R., SCHWARTZ, J., JESSEL, T.M. (2000). **Fundamentos da neurociência e do comportamento.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.237.

KATZ, R.J., ROTH, K.A., CARROLL, B.J. (1981). **Acute and cronic stress effects on open field activity in the rat. Implications for a model of depression.** Neurosience biobehavioral Reviews, 5: 247-251.

KATZUNG, C. (1982). **Basic & clinical pharmacology.** Los Altos, CA, EUA: Lange medical publications, p.221-230.

KELLER, M.B.E., HANKS, D.L. (1993). **Course and outcome in panic disorder. Progress in neuro-Psychopharmacology.** Biological Psychiatry, 17: 551-570.

KUHNT, M., PROBSTLE, A., RIMPLER, H., BAUER, R., HEINRICH, M. (1995). **Biological and pharmacological activities and further constituents of *Hyptis verticillata*.** Planta Medica, 61(3): 227-32.

LAHTI, R.A., BARSUHN, C. (1974). **The effect of minor tranquilizers on stress-induced increases in rat plasma corticosteroids.** Psychopharmacology, 35: 215-220.

LAPA, A.J., SOUCCAR, C., LIMA-LANDMAN, M.T.R., CASTRO, M.A.S., LIMA, T.C.M. (2003). **Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais.** Sociedade brasileira de plantas medicinais, p.69-71.

LEE, K.H., LIN, Y.M., WU, T.S., ZHANG, D.C., YAMAGISHI, T., HAYASHI, T., *et al.* (1988). **The cytotoxic principles of *Prunella vulgaris*, *Psychotria serpens*, and *Hyptis capitata*: ursolic acid and related derivatives.** *Planta Medica*, 54: 308-11.

LÉVÊQUE, C. (1999). **A biodiversidade.** São Paulo: Universidade sagrado coração.

LEVINE, S., HALTMEYER, G.C., KARAS, G.G., DENEMBERG, V.H. (1967). **Physiological behavioural effects of infantile stimulation.** *Physiology behavioural*, 2: 55.

LINCOLN, T., ZEIGER, E. (2004). **Fisiologia vegetal.** São paulo: Artmed e Bookman.

LISTER, R.G. (1987). **The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse.** *Psychopharmacology*, 92: 180-5.

MACKINEY, W.T. (1984). **Animal models of depression: an overview.** *Psychiatry Development*, 2:77-96.

MAJ, J., CHOJNACKA-WOJCIK, E., LEWANDOWSKA, A., TATARCZINSKA, B. (1985). **The central action of carbamazepine as a potential antidepressant drug.** *Pol. J. Pharmacol. Pharm.*, 37: 47-56.

MALAN, K., PELISSIER, Y., MARION, C., BLAISE, A., BESSIERI, J.M. (1988). **The essential oil of *Hyptis pectinata*.** *Planta Medica*, 54(6): 531-2.

MANDAL, S.C., DHARA, A.K., MAITI, B.C. (2001). **Studies of psychopharmacological activity of *Andrographis paniculata* extract.** *Phytotherapy Research*, 15: 253-256.

MANN, J. (1987). **Secondary metabolism.** 2 ed. Oxford: Clarendon, 374p.

MARTINEZ, M. (1989). **Las plantas Medicinales de México.** México: Botas.

MASUR, J., CARLINI, E. (1989). **Drogas: subsídio para uma discussão.** 1 ed. São Paulo: Brasiliense.

MCKINNEY, W., BUNNEY, W. (1969). **Animal model of depression.** Arch Gen Psychiatry, 21:240-248.

MENDES, F.R., MATTEI, R., CARLINI, E.L.A. (2002). **Activity of *Hypericum brasiliense* and *Hypericum cordatum* on the central nervous system in rodents.** Fitoterapia, 73: 462-471.

MESTRE, M., CARRIOT, T., BELIN, C., UZAN, A., RENAULT, C., DUBROEUCQ, M.C., *et al.* (1985). **Electrophysiological and pharmacological evidence that peripheral type benzodiazepine receptors are coupled to calcium channels in the heart.** Life science, 36: 391-400.

MITCHELL, A.J. (1998). **The role of corticotropin releasing factor in depressive illness: a critical review.** Neuroscience biobehavioral Reviews, 22: 635-651.

NEMEROFF, C.B. (1996). **The corticotrophin-releasing factor (CRF) hypothesis of depression: new findings and new directions.** Molecular Psychiatry, 1: 336-342.

NOVEO, M., CRUZ, J.G., HERNANDEZ, L., PEREDA-MIRANDA, R., CHAI, H., MAR, W. (1993). **Cytotoxic constituents from *Hyptis verticillata*.** Journal of natural products, 56 (10): 1728-36.

OMENA, M.L.R.A. (2003). **Estudo etnofarmacológico de plantas com ação no sistema nervoso central: perspectiva de sustentabilidade em Umbuzeiro do matuto – Porto da Folha/SE. [dissertação] Sergipe (SE): Núcleo de Pós-Graduação em Estudos do Semi-árido da UFS.**

ONGINI, E., LULIANO, E., RACAGNI, G. (1982). **Cerebellar cyclic GMP and behavioral effects after acute and repeated administration of benzodiazepines in mice.** European Journal of Pharmacology, 80: 185-1903.

PAIVA, L.A.F., RAO, V.S.N., SILVEIRA, E.R. (1998). **Effects of *Ptychopetalum olacoides* extract on mouse behaviour in forced swimming and open field tests.** Phytotherapies. Research, 12: 294-296.

PELLOW, S., CHOPIN, P., FILE, S.E., BRILEY, M. (1985). **Validation of open: closed arm entries in elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat.** Journal of neuroscience methods, 14: 149-167.

PENG, W.H., HSIEH, M.T., LEE, Y.S., LIN, Y.C., LIAO, J. (2000). **Anxiolytic effect of seed of *Ziziphus jujuba* in mouse models of anxiety.** Journal of Ethnopharmacology, 72: 435-441.

PEREDA-MIRANDA, R., HERNANDEZ, L., VILLAVICENCIO, M.J., NOVELO, M., IBARRA, P., CHAI, H., PEZZUTO, J. M. (1993). **Structure and stereochemistry of pectinolides A-C, novel antimicrobial and cytotoxic 5,6-dihydro-a-pyrones from *Hyptis pectinata*.** Journal of Natural Products, 56(4): 583-593.

PÉREZ-GUERRERO, C., HERRERA, M.D., ORTIZ, R., SOTOMAYOR, M.A., FERNANDÉZ, M.A. (2001). **A pharmacological study of *Cecropia obtusifolia* Bertol aqueous extract.** Journal of Ethnopharmacology, 76: 279-284.

PIETSCHMANN, M., VOSTROWSKY, O., BESTMANN, H.S., PANT, A.K., MTHELA, C.S. (1998). **Volatile constituents of *Hyptis pectinata* L. Poit (Lamiaceae).** Journal of essential oil research, 10(5): 550-52.

PORSOLT, R., BERTIN, A., JALFRE, M. (1977). **Behavioural despair in mice. A preliminary screening test for antidepressants.** Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., 229: 217-227.

PUECH, A.J., CHERMAT, R., PONCELET, M., DOARE, L., SIMON, P. (1981). **Antagonism of hypothermia and behavioral response to apomorphine: a simple, rapid and discriminating test for screening antidepressants and neuroleptics.** Psychopharmacology, 75(1):84-91.

RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M. (2001). **Farmacologia.** 4^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.388; 390; 432-433; 442.

RILEY, H., SPINKS, A. (1958). **Biological assesment of tranquilizers.** Journal of pharmacy and pharmacology, 10: 657-671.

RODGERS, R.J., CAO, B.J., DALVI, A., HOLMES, A. (1997). **Animal models of anxiety an ethological perspective.** Brazilian journal of medical and biological research, 30: 289-304.

ROJAS, A., HERNANDEZ, L., PEREDA-MIRANDA, R., MATA, R. (1992). **Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants.** Journal of Ethnopharmacology, 35(3): 275-83.

RUSSEL, P.A. (1983). **Psychological studies of exploration in animals: a reappraisal.** In: Birke LIA, Archer J. Exploration in animals and humans. Cambridge: University press, 279p.

SAKINA, M.R., DANDIYA, P.C., HAMDARD, M.E., HAMEED, A. (1990). **Preliminary psychopharmacological evaluation of *Ocimum sanctum* leaf extract.** . Journal of Ethnopharmacology, 28: 143-150.

SALZEN, E.A. (1998). **Emotion and self-awareness.** Apply Animal Behavioral Science, 57: 299-313.

SCHILDKRAUT, J.J. (1965). **The catecholamine hypothesis of affective disorder: A review of supporting evidence.** American Journal of Psychiatry, 122: 509-522.

SELIGMAN, M. E. P., MAIER, S. E. (1967). **Failure to escape traumatic shock.** Journal of Experimental Psychology, 74, 1-9.

SHADER, R.I, GREENBLAT, D.J. (1993). **Use of benzodiazepines in anxiety disorders.** New England Journal of Medicine, 328: 1398-1405.

SHERMAN, A.D., SACQUITINI, J.L., PETTY, F. (1982). **Specificity of the learned helplessness model of depression.** Pharmacology Biochemistry Behavioral, 16: 449-454.

SILVA, R.L., MELO, G.B., ANTONIOLLI, A.R., LIMA, S.O., MELO, V.A., RAMALHO, F.S., *et al.* (2002). **Efeito do extrato aquoso da *Hyptis pectinata* sobre a proliferação de hepatócitos após hepactomia parcial.** Acta cirurgica brasileira, 17(3).

SONG F., FREEMANTLE, N., SHELDON, T.A., *et al.* (2001). **Selective serotonin reuptake inhibitors: meta-analysis of efficacy and acceptability.** Brazilian Medicinal Journal 1993; 306: 683-7. In: Rang HP, Dale MM, Ritter JM. Farmacologia. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 467.

STEIN, C., BUENO, O.F.A., XAVIER, G.F. (1994). **Rats do react to stimulus omission.** Brazilian journal of biological research, 27: 2423-30.

SUBA, V., MURUGESAN, R.B., RAO, R.B., PAL, M., SUBHASH, C., MANDAL, B.P., *et al.* (2002). **Neuriparmacological profile of *Barleria lupulina* Lindl. Extract in animal models.** Journal of Ethnopharmacology, 81: 251-255.

THIESSEN, D.D. (1988). **Body temperature and grooming in the mongolian gerbil.** Annual NY Academy Science, 525: 27-39.

TYLER, V.E. (1994). **Prevention.** In: Yunes RA, Calixto JB. Plantas Medicinais sob a ótica da Química medicinal moderna. Chapecó: Argos, 2001, p.33.

VAN ERP, A.M.M., KRUK, M.R., MEELIS, W., WILLEKENS-BRAMER, C. (1994). **Effect of environmental stressors on time course, variability and form of self-grooming in the rat: handling, social contact, defeat, novelty, restraint and fur moistening.** Behavioral brain research, 65:47-55.

VAN ERP, A.M.M., KRUK, M.R., SEMPLE, D.M., VERBEET, D.W.P. (1993). **Initiation of sel-grooming in resting rats by local PVH infusion of oxytocin but not α -MSH.** Behavioral brain research, 607:108-112.

VERMA, A., SNYDER, S.H. (1989). **Peripheral type benzodiazepine receptors.** Annual Review in Pharmacological Toxicology, 29: 307-322.

WESS, J.M., GOODMAN, P.A., LOSITO, B.G., CORRIGAN, S., CHARRY, J.M., BAILEY, W.H. (1981). **Behavioral depression produced by an uncontrollable stressor: Relationship to noripinephrine, dopamine and serotonin levels in various regions of rat brain.** Brain Research Reviews, 3: 167-205.

WONG, M.L., LICINIO, J. (2001). **Research and treatment approaches to depression.** Natural Review in Neuroscience, 2:343-351.

YUNES R.A., CALIXTO, J.B. (2001). **Plantas medicinais sob a ótica da Química medicinal moderna.** Chapecó: Argos, p.19-21; 33; 78-79.

ZANGROSSI, H., LEITE, J.R., GRAEFF, F.G. (1992). **Anxiolytic effect of carbamazepine in the elevated-plus-maze: possible role of adenosine.** Psychopharmacology (Berlin), 106: 85-89.

ZÉTOLA, M., DE LIMA, T.C.M., SONAGLIO, D., GONZÁLEZ-ORTEGA, G., LIMBERGER, R.P., PETROVICK, P.R., *et al.* (2002). **CNS activities of liquid and spray-dried extracts from *Lippia alba* – verbenaceae (Brazilian false melisse).** Journal of Ethnopharmacology, 82: 207-215.