



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

FERNANDA YVELIZE RAMOS DE ARAÚJO

AVALIAÇÃO DOS POSSÍVEIS EFEITOS ANTIPSICÓTICOS DA *Alpinia zerumbet*
EM CAMUNDONGOS

FORTALEZA/CE

2011

FERNANDA YVELIZE RAMOS DE ARAÚJO

**AVALIAÇÃO DOS POSSÍVEIS EFEITOS ANTIPSICÓTICOS DA *Alpinia*
zerumbet EM CAMUNDONGOS**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Farmacologia.

Orientadora: Dra. Danielle Silveira Macêdo.

Co-Orientadora: Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa.

FORTALEZA/CE

2011

A689d Araújo, Fernanda Yvelize Ramos de

Avaliação dos possíveis efeitos antipsicóticos da *Alpinia zerumbet* em camundongos / Fernanda Yvelize Ramos de Araújo. – Fortaleza, 2011.

115 f. : il.

Orientador: Profa. Dra. Danielle Silveira Macêdo

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará.
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza-Ce,
2011

FERNANDA YVELIZE RAMOS DE ARAÚJO

**AVALIAÇÃO DOS POSSÍVEIS EFEITOS ANTIPSICÓTICOS DA *Alpinia
zerumbet* EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada a Coordenação do Programa de Pós-graduação em Farmacologia como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Aprovada : Fortaleza, 25 de janeiro de 2011

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Danielle Silveira Macêdo (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa (Co-orientadora)
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. André Férrer Carvalho
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Otoni Cardoso do Vale
Universidade Federal do Ceará

Dedicatória

Mãe, dedico esta dissertação a você que esteve ao meu lado nas horas em que chorei e nas horas em que sorri, nas horas em que me lamentei e nas horas em que de uma forma ou de outra demonstrei total alegria...

Agradeço pelos meus dias de mau humor, que você me acalmou em seu colo. Hoje quero agradecer, porque você fez, faz e fará sempre parte de minha história! Você é sempre maravilhosa e é uma mãe e tanto.

Ao meu noivo Berg por ter compartilhado de todos os momentos da minha vida, onde as vitórias foram comemoradas e as derrotas serviram de lição e experiência.

A minha grande amiga Gersilene Valente, por mais uma etapa que foi superada por nós!

... com muito carinho

AGRADECIMENTO

A Deus em primeiro lugar pela sabedoria e saúde que me conduziu para realização deste trabalho, pela interseção de nossa senhora nas horas que eu mais precisei.

Aos meus pais pelo exemplo de amor, respeito e integridade.

Aos meus irmãos pelo apoio e carinho.

Agradeço a Dra. Danielle Macêdo, pessoa agraciada por Deus em intelecto e humildade que me conduz desde a iniciação científica, a quem devo muito do meu aprendizado, não só na pesquisa, mas também na vida.

Agradeço a Dra. Cléa Florenço, que abriu as portas da UFC para mim e me deu chances de realizar este trabalho, que sempre incentivou, por todos os conselhos e amizade.

A Dra. Silvânia pela disponibilidade em seu laboratório, simpatia e simplicidade com a transferência de conhecimentos.

Agradeço ao meu noivo Berg, “amor” você que esteve presente em todas as minhas conquistas, mas o tempo agora me faz perceber que minha maior conquista foi ter transformado sua fiel amizade no amor que sinto por você. Como diz a música: Mas tudo que acontece na vida tem um momento e um destino, viver é uma arte, é um ofício só que precisa cuidado (você sempre cuidou de mim)... Prá perceber que olhar só prá dentro é o maior desperdício, o teu amor pode estar, do seu lado... E quando eu olhei pra o lado você sempre esteve lá! Obrigada mesmo por tudo.

Obrigada, Gersilene pelos ouvidos sempre disponíveis, mesmo quando só tenho besteiras pra dizer; obrigada pela mão amiga, pela cumplicidade e pela sua amizade tão sincera; obrigada por estar sempre disposta a me tirar das minhas confusões e por ter se tornado o primeiro nome que me vem a mente quando preciso de socorro, saiba que apenas seu tapinha nas costas já me renova; obrigada, por as vezes sair comigo só pra

"jogar conversa fora". Gosto tanto disso! Obrigada até mesmo pelas implicâncias, que me fazem refletir e saber que uma amizade verdadeira é aquela que nos diz as verdades que muita das vezes finjo não conhecer (olá consciência!). Me desculpe... Deve ser mesmo muito difícil ser minha amiga! Mas você ainda está aqui, dentre tantas dificuldades e vitórias vividas pela gente ! Eu vou agradecer a Deus pra sempre, por ter achado em você uma grande irmã!

A Telma e sua família pelo carinho, atenção e orações.

A Patrícia, Daniel, Virginia, Clayton e Eduardo pela amizade, preciosa ajuda e simpatia na execução deste trabalho.

As bolsistas de iniciação científica Gabriela, Marília e Carol, pela colaboração para realização deste trabalho.

Aos técnicos do Laboratório de Neurofarmacologia pela disponibilidade em ajudar e atenção.

A todos os alunos que fazem parte do Laboratório de Neurofarmacologia, em especial ao casal nota 10 Aline Mara e Leonardo.

Ao CNPQ pelo apoio financeiro.

A minha alma espera somente em Deus, porque dele vem a minha esperança, só ele é minha solução e glória. A rocha da minha fortaleza é o meu refúgio em Deus.

AUTOR DESCONHECIDO

RESUMO

Avaliação dos possíveis efeitos antipsicóticos da *Alpinia zerumbet* em camundongo. FERNANDA YVELIZE RAMOS DE ARAÚJO. Orientador(a): Profa: Danielle Silveira Macêdo. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFC, 2011.

Alpinia zerumbet (PERS.), da família zingiberacea é uma espécie conhecida no Brasil por colônia. O óleo essencial de *Alpinia zerumbet* (OEAZ) extraído das folhas da planta foi avaliado em modelos animais clássicos de *screening* de drogas com atividade em ansiolítica, antidepressiva, anticonvulsivante, antipsicótico e antioxidante, tais como campo aberto, rota rod, suspensão da cauda, nado forçado, labirinto cruz elevado, convulsões induzidas por eletrochoque, avaliação da estereotipia induzida por apomorfina e hiperlocomoção induzida por cetamina e em estudo neuroquímico através da concentração de dopamina, assim como a avaliação antioxidante do OEAZ *in vitro* pelos níveis de nitrito e malonildialdeído (MDA). O OEAZ foi administrado por via intraperitoneal em camundongos (machos) nas doses de 50 e 100 mg/Kg. Os resultados mostraram que o OEAZ no teste de campo aberto aumentou a atividade locomotora, assim como o *grooming*, mas diminuiu o número de *rearing*, sugerindo efeito sobre o sistema dopaminérgico. No rota Rod não apresentou efeito sobre a coordenação motora dos animais. O OEAZ mostrou-se com ação depressora sobre o Sistema Nervoso Central (SNC), pois nos testes de nado forçado e suspensão da cauda aumentou o tempo de imobilidade do animal. No teste do labirinto cruz elevado não alterou o desempenho de camundongos sugerindo que o óleo essencial, nas doses utilizadas, não parece ter atividade ansiolítico/ansio gênica. O óleo essencial de *Alpinia zerumbet* apresentou na maior dose (100mg/kg) efeito anticonvulsivante com a diminuição das convulsões tônico clônicas generalizadas, podendo esta ação esta diretamente ligada aos constituintes do óleo, como monoterpenos. O óleo foi capaz de reverter de uma maneira dose-dependente os comportamentos estereotipados induzidos por apomorfina, indicando fortemente a participação de receptores de dopamina na atividade do óleo, hipótese confirmada pela diminuição dos níveis deste neurotransmissor no corpo estriado dos animais. Quanto à hiperlocomoção induzida por Cetamina, o OEAZ reduziu a atividade locomotora, esses dados podem ser explicados como decorrentes do bloqueio de receptores dopaminérgicos. Em relação à ação antioxidante o OEAZ foi capaz de retornar os níveis de nitrito a parâmetros normais e reduziu os níveis de MDA. Em conclusão estes resultados sugerem que o OEAZ teve importantes efeitos sobre o comportamento antipsicótico que tem como base ações atribuídas principalmente a inibição de receptores dopaminérgicos.

Palavras – chave: *Alpinia zerumbet*, ansiedade, depressão, anticonvulsivante, antioxidante

ABSTRACT

Determination of the possible effects of antipsychotics *Alpinia zerumbet* on mice. FERNANDA YVELIZE RAMOS DE ARAÚJO. Supervisor: Profa: Danielle Silveira Macêdo. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFC, 2011.

Alpinia zerumbet (Pers.), zingiberaceae family, is a species known in Brazil as a colony. The essential oil of *Alpinia zerumbet* (OEAZ) extracted from leaves of the plant has been evaluated in classic animal models of drug screening with activity in anxiety, depression, seizures, psychosis and antioxidant, such as the open field, rota rod, tail suspension, forced swimming, plus-maze, seizures induced by electroshock, evaluation of apomorphine-induced stereotypy and ketamine-induced hyperlocomotion tests and neurochemical analysis through the dopamine concentration, as well as the antioxidant evaluation of the OEAZ in vitro by nitrite levels. The OEAZ was administered intraperitoneally into mice (males) at 50 and 100 mg / kg doses. The results showed that OEAZ in open field test increased locomotor activity, as well as the grooming, but it decreased the rearing quantity, suggesting an effect on the dopaminergic system. In the rota rod test it had no effect on motor coordination in animals. The OEAZ showed up with a depressant action on the central nervous system (CNS), because in the forced swimming and tail suspension tests increased the immobility time in animals. In the plus-maze test it did not alter the mice performance suggesting that the essential oil in the doses used did not appear to have anxiolytic / anxiogenic activities. The essential oil of *Alpinia zerumbet* showed the highest dose (100mg/kg) anticonvulsant effect with decrease tonic clonic seizures, this action may be directly linked to the oil constituents, as monoterpenes. The oil was able to revert to a dose-dependent manner apomorphine-induced stereotyped behavior, strongly indicating the involvement of dopamine receptors in the oil activity, a hypothesis confirmed by the decrease of the neurotransmitters levels in the striatal dopamine levels. As for the ketamine-induced hyperlocomotion, the OEAZ reduced locomotor activity, these data can be explained as resulting from blocked dopamine receptors. Regarding the antioxidant action, OEAZ was able to return the nitrite levels to normal parameters. In conclusion these results showed that the OEAZ had important effects on behavior that is based on actions attributed mainly to inhibition dopamine receptors.

Key-words: *Alpinia zerumbet*, anxiety, depression, anticonvulsant, antioxidant.

ABREVIATURAS

μL	Microlitro
μM	Micromolar
5-HT	5- Hidroxitriptamina
AMPc	Adenosina Monofosfato Ciclico
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CONT	Controle
CET	Cetamina
DZP	Diazepam
DA	Dopamina
DNA	Ácido Desoxiribonucléico
EPM	Erro Padrão da Média
EO	Estresse Oxidativo
ERO	Espécies Reativas Do Oxigênio
FLU	Flumazenil
g	Gramma
GABA	Ácido Gama Aminobutírico
HALO	Haloperidol
IMI	Imipramina
I.P	Intraperitoneal
Kg	Kilograma
MAO	Monoamina Oxidase
Mg	Miligrama
ml	Mililitro

MDA	Malonildialdeído
mmol	Milimol
NA	Noradrenalina
NEBA	Número de Entradas No Braço Aberto
NC	Número de Cruzamentos
NG	Número de Grooming
NR	Número de Rearing
OEAZ	Óleo Essencial De <i>Alpinia Zerumbet</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
RL	Radicais Livres
SNC	Sistema Nervoso Central
TP	Tempo de Permanência
TPBA	Tempo de Permanência Nos Braços Abertos
TNP	Transtorno Neuropsiquiátrico

LISTA DE FÍGURAS

FIGURA 1. Folhas e Flores da <i>Alpinia zerumbet</i> (Pers.) B.L. Burtt & R.M. Sm.	31
FIGURA 2. Principais constituintes do óleo essencial das folhas de <i>Alpinia zerumbet</i> utilizado no estudo.	40
FIGURA 3. Arena do Campo Aberto.	43
FIGURA 4. Aparelho do Rota Rod.	44
FIGURA 5. Labirinto Cruz Elevado.	48
FIGURA 6. Aparelho do Choque Eletro Convulsivo.	49
FIGURA 7. Efeitos do OEAZ (50 e 100mg/kg, i.p) sobre a atividade locomotora (número de cruzamentos) dos camundongos.	59
FIGURA 8. Efeitos do OEAZ (50 e 100mg/kg, i.p) sobre o número de <i>Rearings</i> (atividade locomotora vertical) dos camundongos submetidos ao teste de campo aberto.	60
FIGURA 9. Efeitos do OEAZ (50 e 100mg/kg, i.p) sobre a atividade de <i>Groomings</i> (autolimpeza) dos camundongos submetidos ao teste de campo aberto.	61
FIGURA 10. Efeitos do OEAZ (50 e 100mg/kg, i.p) e Diazepam (1 mg/kg) sobre a Latência de Convulsão induzida por Eletrochoque máximo.	71
FIGURA 11. Efeitos do OEAZ (50 e 100mg/kg, i.p) e Diazepam (1 mg/kg) sobre tempo de estiramento (tempo de convulsão).	72
FIGURA 12. Efeitos do OEAZ (50 e 100mg/kg) + APO 20 e Veículo + APO 20, na Estereotipia induzida por Apomorfina.	74
FIGURA 13. Efeito do EOAZ (50, 100mg/kg) e Haloperidol (HAL 0,2) na hiperatividade locomotora induzida pela administração de Cetamina.	76
FIGURA 14. Deteminação dos níveis de MDA em homogenatos cerebrais submetidos ao choque térmico.	77
FIGURA 15. Deteminação dos níveis de nitrito em homogenatos cerebrais submetidos ao choque térmico.	80
FIGURA 16. Efeitos do OEAZ (50 e 100mg/kg, i.p) sobre a concentração de Dopamina (DA) no corpo estriado.	82

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Efeitos do OEAZ (50 e 100 mg/kg) sobre a coordenação motora dos camundongos em diferentes velocidades (5, 15, 40 rpm). **63**

TABELA 2 Efeitos do OEAZ (50 e 100 mg/kg) e Imipramina (10mg/kg) no tempo de imobilidade de animais submetidos ao teste do nado forçado. **65**

TABELA 3 Efeitos do OEAZ (50 e 100 mg/kg) e Haloperidol (0,2 mg/kg) referente ao tempo de imobilidade no teste de suspensão da cauda. **67**

TABELA 4 Efeitos do OEAZ (50 e 100 mg/kg) e Diazepam (1mg/kg) referente ao tempo de permanência nos abraços abertos no teste de Labirinto Cruz Elevado (LCE). **69**

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1. Ansiedade e Depressão	18
1.2. Esquizofrenia/Psicose	21
1.3. Papel do Estresse Oxidativo nas doenças Neuropsiquiátricas	26
1.4. Utilização de plantas medicinais através de gerações	28
1.5. <i>Alpinia zerumbet</i>	31
1.5.1. Aspectos Químicos da <i>Alpinia zerumbet</i>	33
1.5.2. Usos populares e Propriedades farmacológicas	34
1.5.3. Toxicidade	36
2. OBJETIVOS	38
2.1. GERAL	38
2.2. ESPECÍFICOS	38
3. MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1. Animais	39
3.2. Drogas Utilizadas	39
3.2.1 Obtenção do Óleo Essencial de <i>Alpinia zerumbet</i>	39
3.2.2 Demais substâncias utilizadas nos experimentos	41
3.2.2.1 Diazepam	41
3.2.2.2 Imipramina	41
3.2.2.3 Haloperidol	41
3.2.2.4 Apomorfina	41
3.2.2.5 Cetamina	41
3.3 Estudo dos Efeitos Comportamentais do OEAZ	42
3.3.1 Teste de Campo Aberto	43

3.3.2 Teste do Rota Rod	44
3.3.3 Teste do Nado Forçado	45
3.3.4 Teste de Suspensão da Cauda	46
3.3.5 Teste do Labirinto Cruz Elevado	47
3.3.6 Convulsões Induzidas por Eletrochoque	49
3.3.7 Estereotipia Induzida por Apomorfina	50
3.3.8 Hiperlocomoção induzida por Cetamina	51
4 Determinação da Atividade Antioxidante do OEAZ no modelo de Estresse Oxidativo induzido por Choque Térmico	52
4.1 Avaliação da peroxidação lipídica (T-BARS)	52
	54
4.2 Dosagem de Nitrito/Nitrato	
5. Avaliação da concentrações de Dopamina no corpo estriado	56
5.1 Análise Estatística	57
6. RESULTADOS	58
6.1 Teste de Campo Aberto	58
6.2 Teste do Rota Rod	62
6.3 Teste do Nado Forçado	64
6.4 Teste de Suspensão da Cauda	66
6.5 Teste do Labirinto Cruz Elevado	68
6.6 Convulsões Induzidas por Eletrochoque	70
6.7 Estereotipia Induzida por Apomorfina	73
6.8 Hiperlocomoção induzida por Cetamina	75
6.9 Avaliação da peroxidação lipídica (T-BARS)	77
6.10 Dosagem de Nitrito/Nitrato	78
6.11 Avaliação da concentrações de Dopamina no Corpo Estriado	81

7. CONCLUSÃO	95
REFERÊNCIAS	96
ANEXO	115

1. INTRODUÇÃO

Quase todas as doenças do cérebro podem causar sintomas psiquiátricos. Distúrbios cerebrais, que causam sintomas psiquiátricos, são chamados de transtornos neuropsiquiátricos. As principais características dos sintomas neuropsiquiátricos são: ocorrência simultânea de vários sintomas psiquiátricos, comprometimento cognitivo como sintoma principal e alterações cerebrais endógena resultantes de transtornos psiquiátricos. Os sintomas mais comuns neuropsiquiátricos são a ansiedade, depressão, alucinações, delírios, alterações comportamentais e de personalidade, e déficit cognitivo (LYKETSOS, 2006).

Depressão, mudanças de comportamento, apatia e alterações cognitivas ocorrem simultaneamente na doença de Alzheimer; alteração de humor, apatia, alucinações visuais e prejuízo cognitivo são encontrados simultaneamente em pacientes com doença de Parkinson. Qualquer um dos sintomas neuropsiquiátricos raramente ocorre de forma independente no curso da doença. As manifestações clínicas de transtornos neuropsiquiátricos geralmente consistem de vários componentes de sintomas psiquiátricos (MIYOSHI KOHO; MORIMURA YASUSHI, 2010).

Diversos estudos recentes têm apontado uma alta prevalência de transtornos neuropsiquiátricos (TNP) na população geral. Tem sido cada vez mais reconhecido que os TNP, além de serem uma grande fonte de sofrimento para seus portadores e familiares, possuem vultuosos impactos na capacidade funcional e na sobrevivência dos pacientes.

Os TNP representavam 22% do total de anos de vida perdidos nos países desenvolvidos. Projeções para 2020 apontam para a depressão como a maior causa de anos de vida perdidos em países em desenvolvimento, respondendo por 5,6% do total (MURRAY, 1997). Diversos estudos longitudinais têm apontado para uma relação direta e sincrônica entre depressão e incapacidade: a piora da depressão é acompanhada de uma piora da incapacitação, assim como a melhora dessa é seguida de menor incapacitação. Também há evidências suficientes para se concluir que o tratamento da

depressão melhora o *status* funcional dos pacientes (ORMEL, J. & VON KORFF, M, 2000).

Os estudos epidemiológicos no Brasil demonstram que cerca de 30% da população adulta apresenta algum transtorno mental, no período de um ano (LYKETSOS, 2006). Quando este transtorno necessita de algum cuidado médico passa a ser de 20 % desta população, podemos então dizer que um em cada cinco pessoas adultas necessita de algum tipo de atenção em saúde mental no período de um ano. As mulheres são mais acometidas de transtornos de ansiedade (9,0%), os transtornos somatomorfos (3,0%) e os transtornos depressivos (2,6%). Entre os homens tem especial destaque a dependência de álcool (8%) e transtornos de ansiedade (4,3%). Os transtornos psiquiátricos são mais freqüentes na população feminina; aumentam com a idade e tem maior incidência e gravidade no extrato de baixa renda (LYKETSOS, 2006).

Para realização de um estudo para tratamento destas psicopatologias culminando com o desenvolvimento de terapêuticas eficazes, é necessário compreender bem a fisiopatologia dos distúrbios. Algumas características das principais psicopatologias serão abordadas a seguir.

1.1 Ansiedade e Depressão

A ansiedade, assim como medo são sentimentos experimentados por todas as pessoas ao longo de toda vida, sendo denominados de emoções (GRAEFF & BRANDÃO, 1994). Estas emoções são resultantes de mecanismos neurobiológicos que nos permitem lidar com situações emergenciais e de estresse, que são importantes tanto para o desempenho como para sobrevivência do homem.

A ansiedade consiste em um estado que pode ser considerado normal ou patológico, sendo muitas vezes difícil estabelecer um limite preciso entre a normalidade e a anormalidade. Quando a ansiedade está presente em níveis anormais, ela passa a ser inconveniente e incapacitante, sendo considerada patológica, com necessidade de tratamento farmacológico e/ou psicológico (GRAEFF; BRANDÃO, 1999).

Os distúrbios de ansiedade como a ansiedade generalizada, os distúrbios do pânico, o transtorno obsessivo-compulsivo, as fobias ou o estresse pós-traumático, são os tipos mais comuns de transtorno mental (RANG; DALE, 2004).

Para melhor tratar os pacientes vítimas destes transtornos é importante a compreensão dos mecanismos anatômicos e fisiopatológicos de cérebro envolvidos na ansiedade.

Já é sabido que algumas áreas cerebrais estão envolvidas no processamento das emoções, como, o hipocampo que está implicado no processamento da informação contextual, consolidando a memória de conteúdo emocional e por isso pode influenciar na temporarização da resposta ao medo (CANNISTRARO et al., 2003, LENT, 2004); o hipotálamo que inicia a conversão das emoções recebidas em manifestações fisiológicas através da ativação do sistema nervoso autônomo e endócrino; e, por fim, a amígdala (botão de disparo das emoções) que mostrou ser uma estrutura de extrema importância no controle das emoções (LEDOUX, 2003) e mais especificamente nas respostas ao medo (MAREN, 2001).

No tratamento farmacológico da ansiedade, drogas como os benzodiazepínicos (BDZ) são muito utilizadas por serem eficazes, embora causem efeitos colaterais como: sedação, bloqueio neuromuscular, dependência, alterações cognitivas (amnésia), quedas (principalmente nos idosos) e efeito sinérgico com outros fármacos que afetam o sistema nervoso, limitando sua utilização racional. Os BDZ atuam ao promover a interação do neurotransmissor GABA de modo seletivo sobre os receptores (ácido gama-aminobutírico) GABA(A), que medeiam a transmissão alostérica inibitória rápida, tendo a capacidade de aumentar o número de aberturas dos canais de cloreto (GOODMAN & GILMAN, 2006).

É de extremo interesse o desenvolvimento de novas substâncias com novos mecanismos de ação, com alvos cada vez mais específicos de forma a proporcionar maiores benefícios da farmacoterapia, garantindo ao tratamento efetividade, comodidade e segurança.

Outra patologia comum que afeta o SNC é a depressão que segundo a OMS – Organização Mundial de Saúde, afeta 121 milhões de pessoas em todo o mundo. O termo depressão é atribuído a um conjunto de alterações comportamentais, emocionais e de pensamento, tais como, afastamento do convívio social, perda de interesse nas atividades profissionais, acadêmicas e lúdicas, perda do prazer nas relações interpessoais, sentimento de culpa ou autodepreciação, baixa auto-estima, desesperança, apetite e sono alterados, sensação de falta de energia e dificuldade de concentração. Tais

alterações tornando-se crônicas trazem prejuízos significativos em várias áreas da vida de uma pessoa.

De acordo com a Classificação Internacional de Doenças (CID) a depressão pode ser classificada como transtorno de humor (afetivos), incluindo também nela distímia, transtorno bipolar e depressão maior.

Uma das primeiras teorias para explicar a fisiopatologia da depressão foi a hipótese das monoaminas, que afirma que a depressão é causada por um déficit funcional das monoaminas transmissoras em certos locais do cérebro, enquanto a mania resulta de um excesso funcional (MANJI et al., 2001).

Os sistemas monoaminérgicos se originam em pequenos núcleos no tronco cerebral e projetam-se difusamente para o córtex e sistema límbico. Esses sistemas são compostos por neurônios que contêm norepinefrina (NE), serotonina (5-HT) e dopamina (DA). Junto com a acetilcolina (ACh), eles exercem efeitos de modulação e integração sobre outras atividades corticais e subcorticais e estão envolvidos na regulação da atividade psicomotora, apetite, sono e humor (SCHILDKRAUT, 1965).

A observação dos efeitos antidepressivos dos inibidores da monoaminoxidase (MAO) e dos tricíclicos, a partir do final da década de 50, permitiu o surgimento de especulações sobre os substratos cerebrais nos transtornos afetivos. Pesquisas nas áreas básicas sugeriam que os inibidores da MAO aumentavam as concentrações cerebrais de NE e 5-HT. Os antidepressivos tricíclicos, por sua vez, inibem a captação pré-sináptica das monoaminas, principalmente de NE, mas também de 5-HT, aumentando agudamente os níveis sinápticos catecolaminérgicos (COPPEN A.J, DOOGAN D.P, 1988).

Pode-se dizer que a partir da formulação das hipóteses noradrenérgica e serotoninérgica, a atividade desses sistemas vem sendo exaustivamente pesquisada. Estudo realizado por Potter e Manji (1993) procurou confirmar a hipótese monoaminérgica na fisiopatologia da depressão e descreveu anormalidades nos níveis desses metabólitos no sangue, urina e líquido céfalo-raquidiano (LCR).

Apesar da teoria das monoaminas, foi sugerido que o neurotransmissor DA também tem participação na depressão (BROWN et al., 1993). A DA está implicada na regulação do humor e foi mostrado que em modelos animais de depressão o nível

extracelular de DA no cérebro estava diminuídos (ROSSETTI et al., 1993). Além disso, recentemente tem sido considerado que a DA está envolvida com efeitos antidepressivos das droga (JOCA.,2000), pois a bupirona, um inibidor seletivo da captação de DA é clinicamente utilizado em humanos como antidepressivo ou na terapia de dependência de nicotina (ASCHER et al.,1995; MARTIN et al., 1990; RICHMOND & ZWAR, 2003).

1.2 Esquizofrenia / Psicose

A esquizofrenia segundo Golan (2009) é um transtorno do processo mental, caracterizado por um ou mais episódios de psicose (comprometimento dos sentidos de realidade).

A esquizofrenia é uma das mais intrigantes doenças psiquiátricas e, talvez por isso, uma das mais pesquisadas, com grandes avanços sobre sua fisiopatologia no último século.

A descrição dos sintomas atualmente conhecidos e aceitos como esquizofrenia foram embasados nos estudos de Emil Kraepelin (*Dementia Praecox and Paraphrenia*), publicados em 1919, que descrevia a demência precoce e a psicose maníaco-depressiva. Na mesma época, Eugen Bleurer sugeriu o termo “esquizofrenia” (divisão da mente) para o transtorno caracterizado pela perda da associação entre os processos de pensamento, emoção e comportamento, indicando o quatro sintomas primários (os quatro “A”s): associações anormais, comportamento e pensamento autistas, afeto anormal e ambivalência (KAPLAN & SADOCK ,1999).

O termo psicose vem do Grego, significando estado mental anormal (psic - mente ;ose - condição anormal). O termo “psicose” foi criado pelo psiquiatra austríaco E. Feuchtersleben, em 1844, nas suas aulas de patologia mental em Viena. Através das investigações, dos estudos e dos conhecimentos posteriormente adquiridos, a psicose passou a ser entendida como um estado psíquico caracterizado por uma profunda alteração da consciência do sujeito e criação de uma nova realidade (INFOPEDIA, 2003, 2011).

O início dos sintomas ocorre geralmente nos primeiros anos da vida adulta e o transtorno deixa variados graus de prejuízo residual (WEINER, 1998). As pessoas com

esquizofrenia freqüentemente têm seu progresso educacional perturbado, geralmente sendo incapazes de terminar a escolarização ou manter um trabalho por períodos prolongados. Seus relacionamentos interpessoais são negativamente alterados e suas auto-estimas são invariavelmente diminuídas. A maioria dos indivíduos com esquizofrenia não se casa e a maior parte mantém contatos sociais limitados. A expectativa de vida para essas pessoas é menor que para a população em geral, sendo o suicídio um importante fator, uma vez que 10% dos indivíduos com esquizofrenia o cometem em virtude da qualidade insuportável dos sintomas (DSM, 1995; KAPLAN; SADOCK,1999).

Já foram feitas várias tentativas de classificar e sistematizar os sintomas da esquizofrenia e atualmente existe ampla aceitação de que a mesma apresenta três dimensões sintomáticas: negativa, positiva e desorganizada (ELKIS, 1999). Os sintomas negativos, representados principalmente pelo isolamento social e baixa iniciativa, parecem um grupo sintomático bastante homogêneo, que é definido de maneira muito similar por vários autores. Já os sintomas positivos são basicamente os delírios e alucinações, parecem demonstrar uma complexa heterogeneidade, o que, muitas vezes, resultou na subdivisão deste grupo em *clusters* sintomáticos menores (DOLLFUS & EVERITT, 1998). A dimensão desorganizada agrupa sintomas como os transtornos formais do pensamento, o comportamento bizarro e o afeto inapropriado (ELKIS, 1999).

Oitenta a noventa por cento dos esquizofrênicos relatam uma gama de sintomas, que incluem mudanças nas percepções, crenças, cognição, humor e comportamento, antes de ficarem psicóticos. São os chamados sintomas prodrômicos da doença. Os demais 10 a 20% desenvolvem quadros psicóticos agudos, sem sinais prodrômicos (WONG & VAN TOL, 2003).

A introdução dos primeiros antipsicóticos na década de 50 alterou a evolução natural da esquizofrenia, assim como proporcionou subsídios para a melhor compreensão de mecanismos envolvidos em sua fisiopatologia (MIYAMOTO ET AL., 2003). A fisiopatologia dos distúrbios psicóticos, envolvem várias alterações cerebrais que englobam os sistemas dopaminérgico, serotoninérgico e glutamatérgico.

Para fisiopatologia da esquizofrenia postula-se que o aumento da neurotransmissão dopaminérgica estaria por trás de todo o processo patológico (MIYAMOTO et al., 2003; WONG & VAN TOL, 2003). A hipótese dopaminérgica baseia-se em 2 observações fundamentais:

- Abuso de estimulantes como cocaína e anfetaminas, sabidamente drogas que aumentam a neurotransmissão dopaminérgica, pode levar a um estado psicótico semelhante aos sintomas positivos da esquizofrenia;
- Drogas antipsicóticas como haloperidol e clorpromazina têm em comum a propriedade de bloquear receptores dopaminérgicos tipo D2; a afinidade destas drogas por estes receptores está relacionada diretamente à sua capacidade de aliviar os sintomas positivos da esquizofrenia.

A hipótese dopaminérgica foi perdendo força quando se demonstrou que os antipsicóticos de 2ª geração ou atípicos apresentam grande afinidade pelos receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT2 (MELTZER et al., 2003). Atualmente é aceito que a hiperativação de receptores D2 esteja mais provavelmente associada aos sintomas positivos da doença do que com os seus sintomas negativos e comprometimento cognitivo (WONG & VAN TOL, 2003).

Kapur e Seeman (2001) discordam dessa observação em relação à ação dos atípicos, apontando as seguintes evidências: antipsicóticos típicos, como a loxapina e a clorpromazina, mostram graus comparáveis aos atípicos de ocupação nos receptores 5-HT2A; a ocupação máxima 5-HT2A é obtida com doses de atípicos que não são antipsicóticas e os atípicos só se tornam efetivos quando a ocupação de D2 excede 65%, limiar que não difere do necessário para a ação do haloperidol. Dessa forma, a teoria serotoninérgica como modelo explicativo da esquizofrenia é controversa e carece de evidências mais consistentes.

Um outro neurotransmissor envolvido na fisiopatologia da esquizofrenia é o glutamato. Este é o neurotransmissor das células piramidais, que são as fontes das vias eferentes e associativas do córtex cerebral e do sistema límbico, regiões envolvidas na fisiopatologia da esquizofrenia (BEAR & COLS., 2002).

As ações do glutamato são intermediadas por 2 classes principais de receptores (LENT, 2002):

- Receptores metabotrópicos, acoplados à proteína G, agindo via fosfolipase C ou inibindo a adenilciclase;
- Receptores ionotrópicos, que podem ser subdivididos em 2 famílias: receptores AMPA/kainato e receptores NMDA(N-metil-D-aspartato).

O glutamato tem um papel importante na migração neuronal, no desenvolvimento de neuritos, na sinaptogênese e na poda neuronal por apoptose. Há uma grande diversidade de subtipos de receptores glutamatérgicos que são codificados geneticamente, mas cuja expressão pode ser alterada por fatores ambientais durante o desenvolvimento cerebral, criando um modelo de disfunção glutamatérgica para a interação de fatores de risco genéticos e ambientais observados na esquizofrenia (GOFF & COYLE, 2001).

Os receptores NMDA apresentam algumas características que os diferenciam dos receptores metabotrópicos: possuem um sítio de ligação para glicina, como co-agonista do glutamato para sua abertura; são prontamente bloqueados pelos íons Mg^{2+} , bloqueio este que apresenta acentuada dependência da voltagem (isto quer dizer que o bloqueio ocorre quando a célula é normalmente polarizada, desaparecendo com a despolarização) (BEAR & COLS., 2002).

A Fenciclidina e a Cetamina são drogas que em concentrações adequadas, agem como antagonistas não competitivos do receptor NMDA, ligando-se a um sítio no canal. A Fenciclidina provoca um quadro psicotomimético semelhante à esquizofrenia, incluindo os sintomas negativos e cognitivos (TSAI & COYLE, 2002). A Cetamina também causa sintomas psicóticos em doses subanestésicas (SEEMAN & COLS, 2005) principalmente delírios e outros distúrbios do pensamento e comprometimento cognitivo, além de causar sintomas negativos em indivíduos normais e esquizofrênicos compensados.

A adenosina tem ação modulatória sobre os sistemas glutamatérgico e dopaminérgico. O aumento de adenosina durante as fases iniciais do desenvolvimento cerebral tem sido relacionado a alargamento ventricular, alterações difusas de substância branca e cinzenta e redução do volume axonal. Além disso, insultos cerebrais

como hipóxia, convulsões, infecções e traumas podem aumentar os níveis de adenosina. Essas evidências sugerem um modelo explicativo para a observação dos eventos obstétricos como fator de risco para a esquizofrenia (LARA et al., 2001; 2006).

Existem ainda evidências de envolvimento de outros sistemas neurotransmissores como o colinérgico (TANDON,1999). No entanto, a demonstração de estudos epidemiológicos de fatores de risco genéticos e ambientais, somada aos achados de estudos neuropatológicos e de neuroimagem, favorece um modelo interativo em que inúmeros eventos concorrem para uma alteração não restrita apenas a sistemas neurotransmissores isolados, mas também a todo um desenvolvimento cerebral alterado.

Nesse contexto, o estudo de sistemas reguladores desses diferentes processos, como o glutamatérgico e a adenosina, parece promissor como um modelo de compreensão integrativo.

Os achados neuropatológicos apontadores de alterações e metanálises confirmaram a presença de alargamento ventricular e diminuição do volume cortical e hipocampal (HARRISON, 1999). Essa redução volumétrica parece estar mais relacionada à diminuição do volume neuronal e das ramificações dendríticas e axonais do que a uma redução do número de neurônios, sugerindo que a alteração sináptica seria o elemento central na fisiopatologia da esquizofrenia (GLANTZ et al., 2006; HARRISON, 1999). A ausência de gliose e da assimetria cortical normal tem sido apontada como achados sugestivos de uma alteração precoce no desenvolvimento cerebral em esquizofrênicos levando a ser considerada uma doença neurodesenvolvimental (BOGERTS, 1999).

No tratamento crônico com antipsicóticos os efeitos colaterais incluem o parkinsonismo induzido pelo uso de neurolépticos o qual é idêntico à doença de Parkinson, com a tríade clássica tremor, rigidez, bradicinesia ou acinesia e outros sinais psicomotores característicos desta doença como a diminuição dos reflexos posturais e salivação excessiva. Acatisia (ansiedade, inquietação), distonia aguda (espasmos involuntários dos músculos), discinesia tardia (movimentos involuntários, como mascar e movimentos de protrusão da língua), síndrome neuroléptica maligna (rigidez muscular intensa e aumento da temperatura), convulsões e efeitos periféricos nos sistemas gastrointestinal e cardiovascular também podem acompanhar o uso dos neurolépticos (RANG et al., 2004).

É importante a descoberta de novas terapias para o tratamento de sintomas psicóticos, que minimizem os graves efeitos colaterais causados pelo uso dos antipsicóticos disponíveis.

1.3 Papel do Estresse Oxidativo nas Doenças Neuropsiquiátricas

Os mecanismos bioquímicos envolvidos na maioria das doenças psiquiátricas ainda não estão esclarecidos. Estudos recentes têm sugerido a participação de espécies reativas de oxigênio (ERO) em diversas patologias. Ao estresse oxidativo (EO) é atribuída participação na doença de Parkinson, no acidente vascular cerebral, na doença de Alzheimer, na esclerose múltipla e catarata.

Um radical livre (RL) é definido como átomos ou moléculas com número ímpar de elétrons na última camada eletrônica. Ou seja, o elétron que deveria estar pareado (um elétron com spin^{*1} para cima e o outro com spin para baixo) está sozinho, dessa forma fica instável e oxida outras moléculas.

Sendo moléculas altamente instáveis com elétrons desemparelhados, elas têm pontos fortes de diferenciais oxidativo e, portanto, potencial para comprometer as proteínas celulares, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos (CIRIOLO, 2006). Em condições fisiológicas, múltiplas camadas de defesa existem para proteger contra os RL, incluindo a restrição de sua produção através da manutenção da alta do gradiente de oxigênio entre os ambientes celulares, a remoção dos RL por parte de agentes antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos e à reparação dos danos oxidativos por reparos estruturais e mecanismos de substituição (DAVIES, 2000; SIES, 1997).

Em condições normais, os níveis de RL produzidos pelas reações celulares são controlados pelos antioxidantes produzidos pelo organismo que agem enzimaticamente, a exemplo da glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) ou, não-enzimaticamente a exemplo da glutathione (GSH), peptídeos de histidina, proteínas ligadas ao ferro (transferrina e ferritina), ácido diidrolipóico e CoQH2 (BARREIROS et al., 2006).

O estresse oxidativo (EO) acontece quando existe um desequilíbrio entre os processos antioxidantes e pró-oxidantes, como um aumento da formação de RL, ou pela ineficiência das defesas antioxidantes ou, ainda, pela combinação de ambas, podendo

levar a processos fisiopatológicos que resultam em toxicidade celular que pode culminar em morte celular (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1990; HALLIWELL, 2007).

Todos os tecidos são vulneráveis ao EO, porém o sistema nervoso central (SNC) é particularmente sensível (MAHADIK et al., 2001), devido à alta taxa de consumo de oxigênio; aos elevados níveis de lipídios poliinsaturados capazes de sofrer peroxidação lipídica, ao uso extensivo do glutamato como neurotransmissor (SCHULZ et al., 1997) e à auto-oxidação de alguns neurotransmissores como a dopamina levando a formação de ERO (OBATA, 2002).

As defesas também chamadas de antioxidantes podem ser definidas como substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis, podendo estes serem enzimáticos ou não enzimáticos, tais como: α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno, ascorbato (vitamina C) e os compostos fenólicos (flavonóides) (HALLIWELL, 2001; SOUSA et al., 2007). O consumo de antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos presentes na maioria das plantas que inibem a formação de radicais livres, tem sido associado a uma menor incidência de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (DROGE, 2002).

Evidências sugerem que RL tenham um papel importante na fisiopatologia de transtornos mentais como a esquizofrenia (YAO et al., 1998). Alguns estudos relatam problemas com a defesa antioxidante e aumento da peroxidação lipídica em pacientes esquizofrênicos virgens de tratamento (ARVINDAKSHAN et al., 2003; REDDY et al., 2003) e naqueles tratados cronicamente com neurolépticos típicos (HERKEN et al., 2001).

Foi relatado que pacientes esquizofrênicos apresentam níveis reduzidos das principais enzimas antioxidantes – SOD, CAT e GSH (BEN OTHMEN et al., 2008); outros trabalhos mostram níveis inalterados dessas três enzimas (SRIVASTAVA et al., 2001), ou alterações apenas na concentração de enzimas individuais (ZHANG et al., 2006).

Em estudos recentes, também foi mostrado que estresse oxidativo está associado à ansiedade em diferentes modelos de comportamento animal (GINGRICH, 2005; HOVATTA et al, 2005;. BERRY et al, 2007).

1.4 Utilização de Plantas Medicinais através das Gerações

Historicamente o uso de plantas é milenar, neste processo, conhecimentos foram passados sucessivamente por gerações através de seus registros e manuscritos sendo ao longo do tempo aprofundado e diversificado, sem nunca, porém, cair totalmente no esquecimento.

As referências históricas acerca das plantas medicinais foram relatadas muito antes de aparecer qualquer forma de escrita, o homem já utilizava as plantas e, entre estas, algumas como alimento e outras como remédio, que por sua vez curavam, produziam efeitos colaterais severos ou matavam (DORTA, 1998).

A arte de curar, em tempos primitivos, era essencialmente mágica, sendo empregadas plantas em rituais carregados de misticismo e religiosidade. Encontram-se também descritos relatos lendários relativos a descobertas das propriedades das plantas medicinais, muitas vezes atribuídas a uma intervenção divina, pois seu uso fazia parte de rituais religiosos, em que lhes eram atribuídas poderes de colocar os homens em contato direto com os deuses (GOFF, 1997).

Para se ter uma visão do conjunto do progresso dos conhecimentos humanos referentes às plantas medicinais, devem distinguir-se três grandes períodos. Durante as Antigüidades Egípcias, Grega e Romana acumulam-se numerosos conhecimentos empíricos que foram transmitidos, especialmente por intermédio dos árabes aos herdeiros europeus dessas civilizações desaparecidas (MIRANDA, 1998).

No Papiro de Ebers, de 1550 a. C. descoberto em meados de século passado em Luxor, no Egito, foram mencionadas cerca de 700 drogas diferentes, incluindo extratos de plantas, metais (chumbo e cobre) e veneno de animais com propriedades terapêuticas (ALMEIDA, 1993; HALBERSTEIN, 2005). Os egípcios também são creditados com o uso precoce de vinho medicinal, óleo de rícino, maconha, ópio, hortelã e cerveja feita de cevada e trigo; assim os autores seguem apontando que os egípcios foram os primeiros a utilizar um considerável número de drogas que estudos recentes provaram ser medicinalmente eficazes.

A “Tubuinha Sumeriana”, uma coleção de textos médicos em tabletes de argila, que contém registros dos primeiros sintomas de doenças, e a prescrição para cada enfermidade, foi considerada o mais antigo tratado da medicina (DEVIENNE, 2004).

Segundo Miranda (1998) no século XIII A.C. um curandeiro chamado Asclépio, profundo conhecedor de ervas, criou um sistema de cura, fundando o primeiro *spa* de que se tem conhecimento, com tratamentos baseados em chás. Os templos de cura apareceram em toda Grécia e Asclépio foi deificado. Seiscentos anos depois, Tales de Mileto e Pitágoras compilaram essas receitas. Os gregos pouco sabiam sobre os mecanismos de ação, mas acompanhavam atentamente as reações de seus pacientes e como o organismo se re-estabelecia.

O médico grego conhecido como o “pai da medicina”, Hipócrates (460-377 a.C) descreveu inúmeros medicamentos incluindo o uso de vegetais, vinhos e compostos para tratamento e cura de doenças genitais; Theophrastus (300 a.C), conhecido como pai da botânica, escreveu um livro intitulado “História das Plantas” onde descreveu espécies vegetais relacionando qualidades e peculiaridades, além do “Tratado dos Odores” que reuniu informações sobre preparações e usos de plantas; Catão (234-149 a.C) relacionou 120 plantas em sua obra “De Re Rustica”; Mithridates IV (100 a.C), considerado o promotor da toxicologia, foi reconhecido como descobridor da arte dos vegetais e as ações necessárias para neutralizá-los (TAVARES, 1996; PARTY, 1966).

Em sua pesquisa no Museu Britânico, doutor Reginald Campbell Thompson, identificou que no império Romano os médicos babilônicos utilizavam cerca de 250 vegetais, minerais e substâncias diversas como a beladona, administrada contra os espasmos, tosse e asma. A civilização Romana adaptou a medicina grega, na qual foram incluindo novas drogas de origem vegetal provenientes das regiões que iam integrando o seu império. Dioscórides foi autor da primeira descrição sistemática de 580 plantas, suas 4600 utilizações e formas de atuação em *De Matéria Medica* (± 65 d.C.). Os conhecimentos nele contidos foram de importância decisiva para a medicina européia até aos séculos XVII-XVIII. Nesta obra as plantas estão ordenadas de uma forma utilitária. Fato interessante também é a menção sobre a maneira como se devem efetuar as colheitas e conservar as drogas. Este livro teve grande importância na terapêutica, tendo sido copiado muitas vezes e traduzido para latim, siríaco e árabe (THOMPSON, 1970).

Em 1808, a Família Real Portuguesa mudou-se para o Brasil e instalou a sede do governo no Rio de Janeiro. Nesta época, D. João criou o Jardim Botânico, na época chamado Jardim de Aclimação, com a finalidade de adaptar as espécies vindas das Índias Orientais (POSSE, 2007). No Brasil, os Jesuítas trouxeram as *boticas portáteis* para tratar os colonos e nativos acometidos por doenças como tuberculose, varíola e sarampo. Entretanto, foram obrigados a assimilar as plantas nativas, utilizadas pelos índios para suprir as deficiências de Portugal. Foi assim que a ipeca, a quina, a jurubeba e a copaíba passaram a fazer parte das *boticas* dos Jesuítas (DUNIAU, 2003).

Existem cerca de 200.000 espécies vegetais que possam no Brasil, na opinião de alguns autores, pelo menos a metade pode ter alguma propriedade terapêutica útil à população, mas nem 1% dessas espécies com potencial foi motivo de estudos adequados (MARTINS, 1995; POSSE, 2007).

A OMS estima que pelo menos 4 bilhões de pessoas ou 80% da população mundial utilizam algum tipo de medicina herbácea para o tratamento primário da saúde e reporta que, num total de 119 drogas derivadas de plantas, os usos terapêuticos de cerca de 74% estão diretamente correlacionados com o uso tradicional das plantas presentes naquela formulação farmacêutica.

É sabido que, no Brasil, pelo menos 50 milhões de brasileiros não têm acesso ao medicamento industrializado. Enquanto na 1ª Edição da Farmacopéia Brasileira constavam cerca de 500 monografias de fitoterápicos, da atual edição constam apenas 14.

A idéia primordial na indicação do uso de fitoterápicos não é substituir medicamentos registrados e já comercializados mas, sim, aumentar a opção terapêutica dos profissionais de saúde, ofertando medicamentos equivalentes e mais baratos, com espectros de ação mais adequados e com indicações terapêuticas complementares às das medicações existentes. Objetivos secundários, mas não menos importantes, seriam a validação das tradições populares e o fornecimento de substrato autóctone para o desenvolvimento da indústria farmacêutica local.

Apesar do decorrer dos milênios o homem ainda busca soluções para os problemas de saúde, com o adjunto da descoberta de drogas sintéticas, que aumentou a estimativa de vida humana, a busca por curas através de produtos advindos da natureza

ainda perdura. Atualmente isto se deve principalmente pelo alto custo financeiro destes fármacos sintéticos, assim a utilização de plantas medicinais tornou-se uma ferramenta de baixo custo, sendo utilizada prioritariamente por populações de baixa renda. Em contrapartida as grandes maiorias destas fontes naturais não foram bem elucidadas cientificamente e podem trazer danos à saúde de quem consome.

1.5 *Alpinia zerumbet*

Alpinia zerumbet (Pers.) B.L. Burtt & R.M. Sm. (**Figura 1**), planta originária da Ásia, pertence à família Zingiberaceae é encontrada na literatura científica com as sinonímias de *Alpinia speciosa* K. Shum, *Costus zerumbet* Pers., *Languas speciosa* Small, *Alpinia nutans* Roscoe, *Globata nutans* Redoute, e *Zerumbet speciosum* J. C. Wendel (LORENZI ; SOUZA, 2001).



Fonte: http://culture.teldap.tw/culture/index.php?option=com_content&view

FIGURA 1: Folhas e Flores da *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt & R.M. Sm.

O médico e botânico Carl von Linné denominou o gênero *Alpinia*, em homenagem ao também médico e botânico italiano Prospero Alpini em meados do século XVII. O gênero *Alpinia* pertence a família das Zingiberaceas, que inclui duas grandes ordens: Bromeliales e Zingiberales. Na ordem das Zingiberales, estão incluídas

as famílias Musaceae, Lowiaceae, Cannaceae, Marantaceae e Zingiberaceae (DI STASI, 2002). A família das Zingiberaceas é a maior da ordem Zingiberales, contituída por 53 gêneros e mais de 1.200 espécies nativas de regiões tropicais, especialmente do sul e sudeste da Ásia (CRONQUIST 1981; KRESS et al. 2002).

Conhecida popularmente por vários nomes como: Dégonflé, Grand-dégonflé, Lavande, Lavande blanche, Guérit-Tout em Guadalupe; Atoumau em Martinica; Shell plant em Barbados, Shell Flower, ShellFlower Ginger nos Estados Unidos. No Brasil é conhecida principalmente por estes nomes vulgares: **colônia**, paco-serosa, pacová, cuité-açu (ALMEIDA, 1993), gengibre-concha (LORENZI; SOUZA, 1995), cardamomo-falso, cana-do-brejo, cana do mato (MACHADO,1996).

A *Alpinia zerumbet* foi trazida para o Brasil para o Jardim Botânico do Rio de Janeiro no século XIX, onde recebeu o nome de *flor-de-redenção e bastão - do - imperador*. Relatos históricos revelam que ao assinar a Lei Áurea, em 13 de maio de 1888, a princesa Isabel foi presenteada com flores desta planta. Daí se deu o fato de a colônia também ser conhecida popularmente por estas nomenclaturas (CORRÊA, 1975).

A *Alpinia zerumbet* é conhecida principalmente pelo codinome popular **colônia** (devido ao aroma de suas flores), e trata-se de uma planta herbácea, robusta, perene, com colunas de dois a três metros de altura, lisas, verde-claras, agrupadas em touceiras. Folhas lanceoladas oblongas, pontudas, invaginantes, verde-luzidias, de margens ciliadas de 50 a 70 cm de comprimento sobre 10 a 12 de largura. Suas flores estão dispostas em cachos grandes, amarelo-róseas com três lobos e um grande lábio. Cápsula subglosa, de dois cm de diâmetro, polispémica (ALMEIDA, 1993). Esta espécime possui cachos de flores cuja forma se assemelha em alguns aspectos as orquídeas (PRUDENT et al., 1993), sendo por isso vulgarizada como planta ornamental formando grandes touceiras pelo crescimento de pés-filho (MATOS, 1994). Como planta ornamental era cultivada nos jardins do Cairo e Alexandria, além de ser cultivada para estabilizar rios, canais, diques e fortalecer terrenos em lugares úmidos (PRUDENT et al., 1993).

É comum no Sudeste bem como nas regiões Norte e Nordeste do Brasil sendo cultivada em torno das cidades de Manaus e Bélem (LUZ et al.,1984). No Ceará, é

encontrada em abundância na Serra de Guaramiranga, na cidade de Fortaleza em sítios, hortas e jardins. A colônia faz parte do programa estadual de fitoterapia “Projeto Farmácias Vivas”, sendo largamente cultivada nos hortos das plantas medicinais em municípios do estado do Ceará (MATOS, 1996). A *Alpinia zerumbet* também faz parte da lista com 71 plantas de interesse para o SUS chamada Relação Nacional de Plantas de Interesse para o SUS ou Rénisus.

1.5.1 Aspectos Químicos da *Alpinia Zerumbet*

O óleo essencial da planta *Alpinia zerumbet* contém substâncias como: cineol, eugenol, pineno, éter metílico, ácido cinâmico, cadineno, galangina, éter metílico de galangina, canferina, bassorina, amido, matérias mucilaginosas e resinosas (COIMBRA; DINIZ, 1943). Alpinetina, cardamonina, cânfora (BOTSARIS, 1995). Esterosídeos flavonóides (LOPEZ, 1992). Sesquiterpenos, fenilalquicetonas, compostos flavônicos, resina, taninos (FITOTERAPIA, 1998).

Trabalho realizado por Victório et al.,(2009) mostrou que o óleo essencial das folhas da planta analisado por cromatografia gasosa/espectrometria de massa apresenta uma grande porcentagem de monoterpenos oxigenados (52,5%). Os componentes principais foram terpinen-4-ol, 1,8 cineol e terpineno γ . Estes componentes foram encontrados em estudos com o óleo essencial de outras amostras de *A. zerumbet* (ZOGHBI et al., 1999; ELZAAWELY et al., 2007a; VICTÓRIO et al. 2009). Óxido de cariofileno também foi encontrado em pequenas quantidades. Como principais constituintes fenólicos de óleos essenciais e extratos das flores e sementes da *A. zerumbet*, o 1,8-cineol, a cânfora, o metil cinamato e o borneol foram os principais constituintes dos óleos essenciais das flores, enquanto que os principais componentes dos óleos das sementes foram o alfa-cadinol, T-muurolol, alfa-terpinenol, delta-cadineno e o terpineno-4-ol. A análise da composição fenólica feita indicou que o ácido p-hidroxibenzóico, o ácido ferúlico e ácido siríngico foram os fenólicos predominantes no extrato de acetato de etila das flores, enquanto o ácido p-hidroxibenzóico, o ácido

siríngico e a vanilina foram os principais fenólicos presentes nas sementes (Elzaawely et al., 2007a).

1.5.2 Usos Populares e Propriedades Farmacológicas Estudadas

A colônia tem sido amplamente estudada para associar conhecimento popular e comprovação científica no intuito de tornar a utilização da planta mais segura e eficaz para população.

No Pará é utilizada como sedativa (BERG, 1984), a colônia, também conhecida por vindicá, é bastante utilizada entre a população de Marapanim, na forma de chá da flor para “dor no coração” e na forma de banho para acalmar criança e tirar dor de cabeça (FURTADO, 1978). No Amazonas, é usada como agente cardiovascular hipotensor (LUZ et al., 1984). No Sul do Brasil, o chá das folhas é reportado como detentor de função anti-hemorroidária (PRUDENT et al., 1993).

Pesquisa para a seleção das plantas mais usadas na medicina popular do Ceará, visando à recuperação de informações para o Banco de Dados de Plantas Medicinais do Sistema Único de Saúde (SUS), destaca a *A. zerumbet*, dentre as plantas classificadas como calmantes (MATOS, 1984). Nas Antilhas francesas o decocto das folhas é utilizado no tratamento do meteorismo, a infusão das folhas e flores como anticatarral e o infusato das folhas como diurético. No Oeste da Índia, é usada para tratar dores de cabeça (STHELE e STHELE, 1958). No Japão, as sementes são utilizadas como estomáquicas (KIMURA et al., 1966).

Na pesquisa realizada por Keef (1986), apontou a *Alpinia* como uma detentora de efeitos vasodilatadores coronarianos, usada para tratamento do infarto do miocárdio e insuficiência coronariana.

Segundo Correa (1926), os rizomas triturados em forma de pó, são utilizados como antidiarréicos, no tratamento de úlcera gástrica, tosse e artrite. O rizoma em forma de decocto é usado no tratamento de cistite. As folhas em infusão para o tratamento da

asma; micoses de pele, pêlos e unhas; como purificador sanguíneo; como anti-hipertensivo; calmante e antiestresse). Outras propriedades medicinais, tais como anti-histéricas, estomáticas e vermífugas relacionadas às folhas, flores e rizoma foram descritas por Almeida (1993).

Dentre as propriedades farmacológicas comprovadas para a *Alpinia zerumbet* destacam-se os efeitos hipotensor e levemente diurético obtidos através do chá das folhas, que foram confirmados pelos estudos de Mendonça et al., (1991) e Laranja et al., (1991, 1992). A atividade antimicrobiana comprovada para óleos essenciais da espécie varia segundo sua composição (WATTIEZ; STERNON, 1942).

O extrato metanólico do rizoma de *Alpinia zerumbet* possui atividade inibitória contra a contração induzida por histamina e cloreto de bário em fêlo isolado de cobaia (ITOKAWA, et al., 1981a). De acordo com LEE et al., (1982) demonstração do extrato metanólico de sementes da referida espécie apresenta atividade antioxidante maior do que o butil-hidroxitolueno, enquanto o extrato hexânico mostrou não deter tais propriedades antioxidantes. Rizomas de *Alpinia zerumbet* detêm atividade antiulcerogênica e este efeito tem sido atribuído aos diterpenos e compostos fenólicos como 5,6-deiidrokavaina e diidro-5,6-deiidrokavaiana presente nesta planta (HSU, 1982, 1987).

Estudando a atividade antioxidante de espécies cultivadas em Okinawa (Japão) e utilizadas como comestíveis e medicinais, Masuda et al. (2002) comprovaram forte atividade redutora do radical 1.1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) promovida pelos extratos do rizoma de *Alpinia zerumbet* e potente atividade inibitória da lipoperoxidação promovida por extratos de frutos e rizomas. Concluíram por uma potente capacidade antioxidativa para a espécie, já referida por eles em estudos quando isolaram antioxidantes do rizoma de *Alpinia zerumbet*. Em ensaios fitoquímicos realizados por Elzaawely et al (2007a; 2007b), foram isolados do óleo essencial, compostos fenólicos e dihidro-5,6- dehidrokawaina das folhas, rizomas, flores e sementes de *Alpinia zerumbet*, onde foi demonstrado que esses compostos apresentam uma atividade antioxidante.

A administração do extrato hidroalcolico de *Alpinia zerumbet* em animais, produziu excitação psicomotora, contorções, hipocinese, além de prolongar o tempo de sono (DI STASI, 2002). Nos estudos clínicos com o chá das folhas de colônia, os

resultados apresentaram-se significativos quanto ao seu efeito diurético. No ensaio sobre a ação antiinflamatória, o extrato etanólico apresentaram uma inibição do processo edematoso de 66% (SANTANA,1966). Foi identificada uma ação anticolinérgica competitiva que inibe a contração muscular (VANDERLINDE,1986). Segundo este autor, flores, folhas e rizomas são depurativas e diuréticas, anti-histérica, estomáquica e vermífuga.

Os efeitos centrais do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* só foram recentemente estudados através de dois trabalhos. Satou et al., (2010) demonstraram que após a inalação do OEAZ os camundongos apresentaram redução em parâmetros de ansiedade claramente evidentes principalmente no modelo do labirinto em cruz elevado (LCE). Da mesma forma, Murakami et al., (2009), mostraram que a inalação do OEAZ (0,087 e 8,7 ppm) apresenta efeito ansiolítico-símile no labirinto em cruz elevado. A inalação de 8,7 ppm do óleo também apresentou comportamento de salto nos animais, comportamento este parcialmente revertido pelo pré-tratamento com fluoxetina.

Atualmente importantes plantas medicinais, incluindo a Ginkgo biloba, Erva de São João, kava-kava, Valeriana, Bacopa monniera e Convolvulus pluricaulis são amplamente utilizados por sua eficácia no tratamento de transtornos neuropsiquiátricos (KUMAR, 2006). Os transtornos mentais mais freqüentemente tratados pelo uso de plantas medicinais incluem transtornos do humor (principalmente depressão), ansiedade, transtornos somatoformes, relacionados com o envelhecimento, declínio cognitivo e, por vezes, perturbações psicóticas (JAREMA, 2008).

1.5.3 Toxicidade

Relevante estudo toxicológico pré-clínico foi realizado por Oliveira (2008), avaliou o perfil toxicológico e genotoxicológico do extrato aquoso e do óleo essencial das folhas de *Alpinia zerumbet*, além de estabelecer a DL50 do extrato aquoso. Segundo Oliveira, o extrato aquoso e o óleo essencial não se mostraram citotóxicos e nem genotóxicos. A DL50 do extrato aquoso das folhas de *Alpinia zerumbet* foi $> 5\text{g/Kg}$ demonstrando que os princípios ativos do extrato aquoso apresentam baixa toxicidade. Costa et al., (2007) testaram a atividade citotóxica dos extratos clorofórmicos,

hexânicos e hidroalcoólicos em *A. zerumbet*, *Chenopodium ambrosioides* e *Acmella oleracea* sobre quatro linhagens celulares cancerígenas (HEp-2, NCI-H292, KB e HeLa). Os resultados mostraram ausência de citotoxicidade significativa para todos os extratos testados frente a estas linhagens celulares. No ano seguinte, dando continuidade aos estudos da atividade citotóxica de *Az*, Corrêa;Costa (2008) testaram os extratos acetônico e metanólico da espécie, sobre células HEp-2, NCIH292 e KB. Os resultados também mostraram ausência de citotoxicidade significativa para os extratos testados.

Estudo clínico realizado por Santana (2009), avaliou a segurança e potencial genotóxico do chá de *A. zerumbet* em voluntários saudáveis. Os voluntários foram tratados durante 28 dias ininterruptos com 540 ml de chá de Colônia ou Placebo. A genotoxicidade foi investigada mediante o emprego do teste do cometa. O estudo concluiu que o chá de colônia não apresenta toxicidade clínica nem genotoxicidade em voluntários tratados por 28 dias ininterruptos.

Baseado no fato de que as plantas medicinais podem ser ferramentas importantes para o tratamento de algumas patologias, incluindo os transtornos mentais, principalmente devido à sua baixa toxicidade e fácil acesso pela população, decidiu-se estudar neste trabalho os efeitos centrais da *Alpinia zerumbet*.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Investigar as ações no sistema nervoso central do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* em modelos animais de ansiedade, depressão, psicose e convulsão em camundongos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar os efeitos centrais do óleo essencial das folhas de *Alpinia zerumbet*, (OEAZ) utilizando modelos comportamentais experimentais para o estudo da:
 - Atividade locomotora e coordenação motora (teste do campo aberto e rota rod, respectivamente);
 - Atividade depressora/antidepressiva (Teste de nado forçado e suspensão da cauda);
 - Atividade ansiolítica (labirinto em cruz);
 - Ação anticonvulsivante (teste das convulsões induzidas por eletrochoque).
 - Atividade antipsicótica (testes da estereotipia induzida por apomorfina e hiperlocomoção por cetamina);
- Determinar a ação antioxidante do óleo utilizando o modelo de estresse oxidativo *in vitro* induzido por choque térmico.
- Verificação das alterações nos níveis de dopamina nos núcleos da base de animais tratados com *Alpinia zerumbet*;

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Para realização do presente estudo utilizaram-se camundongos Swiss machos, com peso de 20 a 30 g. Os animais foram provenientes do biotério Central da Universidade Federal do Ceará (UFC), e mantidos em temperatura constante de 24°C e ciclo claro/escuro de 12 horas, com livre acesso a uma dieta padrão e água *ad libitum*, seguindo as recomendações internacionais (Conselho Canadense de Cuidado com Animais, 1993). Os procedimentos foram realizados em conformidade com o Manual de Cuidados e Uso de Animais de Laboratório do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, sendo que todos os esforços foram feitos para minimizar o sofrimento dos animais. O protocolo do estudo foi aprovado pelo comite de Ética Animal da UFC com o número 45/10.

3.2 Drogas Utilizadas

3.2.1 Obtenção do Óleo Essencial de *Alpinia zerumbet*

O óleo essencial foi extraído das folhas de *Alpinia zerumbet* (OEAZ), coletadas no Jardim Plantas Medicinais do Laboratório de Produtos Naturais da UFC, em dezembro de 2008. Uma exsicata da *Alpinia zerumbet* foi depositada no Herbário Prisco Bezerra (nº 10858), conforme identificado pelos doutores Edson Paula Nunes, e Martins Peres. O isolamento do óleo essencial foi realizado no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC, de acordo com o método descrito por Craveiro *et al.*, (1976). Para a extração do óleo essencial das folhas da planta recém-cortada, as folhas foram colocadas em um frasco de vidro ao qual foi adicionada água destilada em quantidade suficiente para emergir todo material. A mistura foi submetida a ebulição através de um balão de vidro conectado a um condensador resfriado a água. A água foi aquecida por aproximadamente três horas. Após a condensação, a fase aquosa com seus solutos, aqui chamado de "hidrolato", foi separada de uma fase oleosa, por

separação simples em camada de sulfato de sódio de anidro, para retirar traços de água ainda presente no óleo essencial.

A composição da OEAZ foi determinada por cromatografia gasosa e espectrometria de massas. Continha: 1,8-cineol, 20,57%; terpinen-4-ol, com 19,39%; g-terpinene, 15,08%; sabineno, 9,68%, p-cimeno, 8,54%; um tujene, 6,35%; um terpinene, 3,88%; b-pineno, 3,02%; limoneno, 2,64%; um pineno, 2,38%; terpinoleno, 1,93%; bmircene, 1,20%; cariofilene-trans, 1,11%; um terpineol, 0,86%; não identificados, 3,35% (**Figura 2**).

No presente estudo o óleo essencial foi emulsionado em água destilada com Tween 80 a 2% (Sigma, St. Louis, EUA) para administração aos animais.

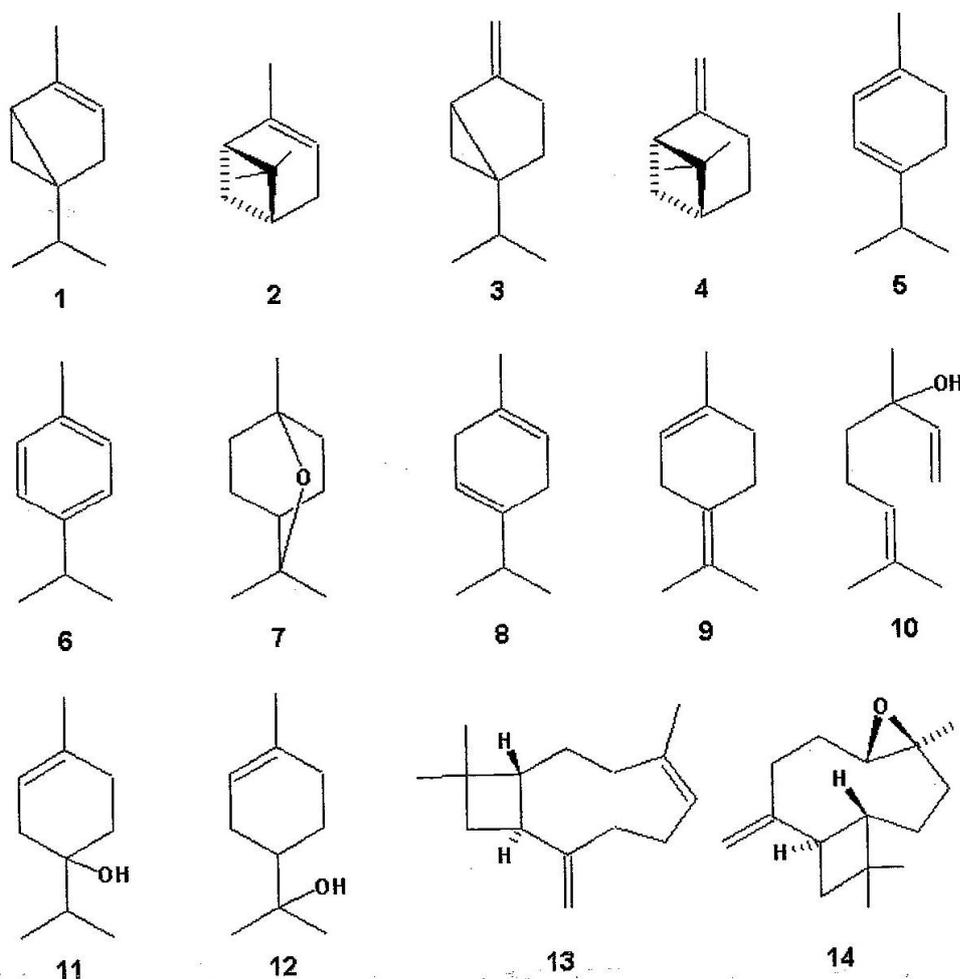


Figura2- Principais constituintes do óleo essencial das folhas de *Alpinia zerumbet* utilizado no estudo. α -tungeno (1), α -pineno (2), sabineno (3), β -pineno (4), α -

terpineno (5), ρ -cimeno (6), 1,8-cineol (7), γ -terpineno (8), terpinoleno (9), linalool (10), terpinen-4-ol (11), α -terpineol (12), z-cariofileno (13), óxido de cariofileno (14).

3.2.2 Demais Substâncias Utilizadas nos Experimentos

3.2.2.1 Diazepam (DZP)

Ampolas de Diazepam (União Química, Brasil) foram utilizadas. A droga foi diluída em água destilada e administrada na dose de 1mg/kg, via intraperitoneal (i.p) como droga padrão o teste de Labirinto Cruz Elevado e no modelos do Choque Eletroconvulsivo.

3.2.2.2 Imipramina (IMI)

Comprimidos de Cloridato de Imipramina (Imipra 25mg® - Cristália Farma – Brasil), foram pulverizados e dissolvidos em água destilada. A droga foi administrada por via i.p., na dose de 10 mg/kg, como padrão de efeito antidepressivo no teste de Nado Forçado.

3.2.2.3 Haloperidol (HALO)

Ampolas de Halperidol (0,2mg/mL – Sigma Pharma) foram utilizadas. A droga foi diluída em água destilada e administrada na dose 0,2mg/ kg, via i.p., utilizado como antagonista dopaminérgico (antipsicótico padrão). Utilizado no Teste de Suspensão da Cauda e Hiperlocomoção induzida por Cetamina.

3.2.2.4 Apomorfina (APO)

Apomorfina obtida da Sigma, St. Louis, EUA foi dissolvida em água e utilizada nos experimentos na dose de 20 mg/kg, i.p.

3.2.2.5 Cetamina (CETA)

Cetamina (Cristália, São Paulo, Brasil) foi utilizada nos experimentos na dose de 20 mg/kg.

3.3 ESTUDO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS DO OEAZ

Os testes foram realizados sempre no mesmo horário (10:00 às 14:00 horas), em uma sala fechada com temperatura constante ($23^{\circ} \pm 1^{\circ}$) e iluminação de pouca intensidade (luz vermelha de 15V), com exceção do teste de nado forçado. Para realização dos experimentos, os animais foram divididos em grupos e tratados com veículo (tween 80 a 2%, 10 ml por via i.p), OEAZ em doses de 50 e 100 mg/kg por via intraperitoneal ou a droga padrão específica para o modelo comportamental realizado. Decorridos trinta minutos após a administração das drogas os animais foram submetidos aos testes comportamentais descritos a seguir.

3.3.1 TESTE DO CAMPO ABERTO

O campo aberto (CA) é bastante utilizado para avaliar a ação de fármacos sobre a atividade locomotora. O aparelho consiste em uma arena de 30 x 30 cm, com paredes confeccionadas em acrílico transparente e piso de acrílico de cor preta com demarcações de nove quadrantes iguais (ARCHER, 1973, SIEGEL, 1946).

Os camundongos foram colocados em um campo aberto 30 minutos (min) após a administração i.p., do OEAZ (50 e 100 mg/kg), veículo (tween 80 a 2%, 10 ml). Cada animal foi deixado no campo aberto por 5 min. Durante os 5 min foram contados o número de cruzamento (NC) de um quadrante para outro, postura no qual o animal fica na vertical, apoiado nas patas traseiras – *rearing* (NR), e movimentos de autolimpeza – *grooming* (NG). Para registro do NC, foram contados todos os quadrantes cruzados pelo animal, quando este se encontrava com as quatro patas dentro do mesmo quadrante. Na troca de um animal para outro a arena do CA foi limpa com álcool 70% para eliminar o possível viés devido ao odor da urina e bolos fecais que poderia ser deixado pelos animais anteriores.



Figura 3 - Arena do Campo Aberto. Utilizado para avaliar a ação de fármacos sobre a atividade locomotora.

3.3.2 TESTE DO ROTA ROD

No teste do Rota Rod os animais previamente tratados com veículo (tween 80 a 2%, 10 ml), OEAZ (50 e 100 mg/kg) por via i.p., foram colocados com as quatro patas sobre uma barra giratória de 2,5 cm de diâmetro elevada a 25cm do piso; uma rotação de 12 rpm, por um minuto. Assim foram registradas o número de quedas (NQ) sofridas (sendo o limite de três quedas para cada animal) e o tempo de permanência (TP) na barra giratória como parâmetros avaliados (DUNHAM E MIYA, 1957).



Fonte: www.ugobasile.com

Figura 4 - Aparelho do Rota Rod. Aparelho utilizado para avaliar ações de drogas sobre a coordenação motora.

3.3.3 TESTE DO NADO FORÇADO

O teste de nado forçado foi realizado utilizando cilindros de acrílico transparente, medindo 18 cm de altura e 14 cm de diâmetros, com capacidade total para 2 litros(L) de água, contendo 1,5(L) de água a 27° C. Os animais foram divididos em grupos onde receberam veículo (tween 80 a 2%, 10 ml), OEAZ (50 e 100 mg/kg) e Imipramina (10mg/kg), todos por via intraperitoneal. Depois de trinta minutos do intervalo da administração cada animal foi colocado para nadar individualmente por 5 min no cilindro, tempo durante o qual foi avaliado o tempo de imobilidade (o animal foi considerado imóvel quando deixou de lutar e ficou flutuando imóvel na água, fazendo apenas movimentos necessários para manter a cabeça acima da água).

3.3.4 TESTE DA SUSPENSÃO DA CAUDA

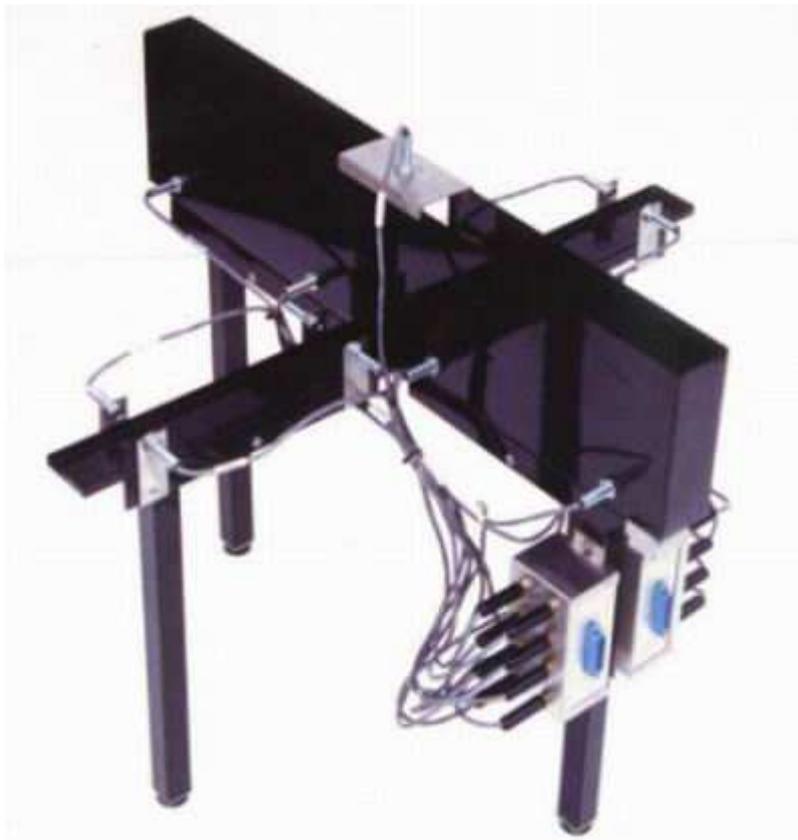
O ensaio da suspensão da calda foi descrito por Steru et al. (1985). Novamente os diferentes grupos foram tratados com veículo (tween 80 a 2%, 10 ml), OEAZ (50 e 100 mg/kg) e Haloperidol (0,2 mg/kg) por via intraperitoneal.

Os animais foram suspensos em uma borda de uma plataforma de 50 centímetros de altura fixados por uma fita adesiva colocada aproximadamente 1 cm da ponta da cauda. A duração de imobilidade foi registrada para um período de 6 min.

3.3.5 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

O labirinto cruz elevado (LCE) é baseado no modelo proposto em ratos por Pellow et al. (1985) e validado por Lister (1990) para camundongos, e consiste num aparelho composto de dois braços abertos (30 x 5cm) e dois braços fechados (30 x 5 x 25 cm), unidos entre si por uma plataforma (5 x 5 cm), a qual está elevada do solo 45 cm. As paredes confeccionadas em acrílico transparente e o solo em acrílico de cor preta.

Trinta minutos após o tratamento dos animais com o veículo (tween 80 a 2%, 10 ml), OEAZ (50 e 100 mg/kg), os animais foram colocados no centro do aparelho com a cabeça voltada para um dos braços fechados e o seu comportamento observado por 5 minutos. As medidas comportamentais registradas no LCE foram: frequência de entradas e o tempo despendido nos braços abertos e nos fechados. A frequência total de entradas foi obtida pela soma simples das frequências de entradas nos braços abertos e nos fechados. Para análise estatística dos dados e confecção dos gráficos a percentagem de entradas no braço aberto é calculada dividindo-se a frequência de entradas nos braços abertos pela frequência total de entradas, e esse índice multiplicado por 100. De maneira semelhante foi calculada a percentagem do tempo em que os animais permanecem nos braços fechados. O diazepam, na dose de 1 mg/kg, via i.p, foi utilizado como droga padrão, a fim de se verificar a confiabilidade do teste.



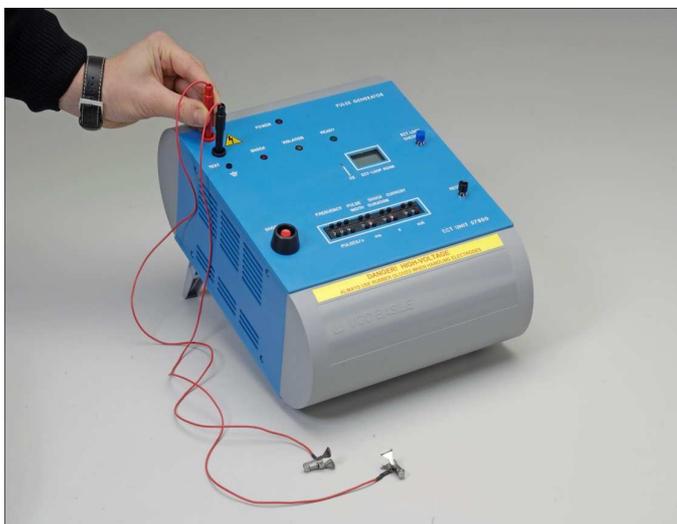
Fonte:<http://www.colinsten.com>

Figura 5 - Labirinto cruz elevado. Aparelho utilizado para avaliar a atividade ansiolítica de fármacos. A análise do efeito dar-se pelo número de entradas nos braços abertos e pelo tempo de permanências nos braços abertos.

3.3.6 ESTE DAS CONVULSÕES INDUZIDAS POR ELETROCHOQUE MÁXIMO

A metodologia proposta por Swinyard et al.,(1952) foi modificada onde, os animais foram tratados com OEAZ 50 e 100 mg / kg, veículo (tween 80 a 2%, 10 ml), e após 30 minutos foram submetidos ao modelo do choque eletroconvulsivo (ECS) , para controle positivo, como droga anticonvulsivante foi utilizado diazepam 1mg/kg (DZP). O aparelho de ECS (Eletrochoque) é projetado especialmente para pesquisas neurofarmacológicas. A saída de corrente usada aponta resultados reproduzíveis, mostrando variações no limiar provocada por drogas que tem ações específicas no córtex e regiões sub-corticais. Os parâmetros de choque foram escolhidos após consulta a literatura recente, para suprir a escala adequada quando operado em animais.

Deste modo os eletrodos foram posicionados na orelha dos animais e o aparelho modulado nos seguintes parâmetros: Frequência: 75Hz; Largura de Pulso: 0,5 ms, Duração: 0,5s; Corrente: 13mA. Foram avaliados o tempo de latência de convulsão (LC) período em que o animal leva para manifestar a primeira convulsão e o tempo total de estiramento do animal, representando a Convulsão Clônica Generalizada (CCG) propriamente dita. (HARTMAN (2008); PLOSKI (2006);TAKAHASHI (2005).



Fonte: www.ugobasile.com

Figura 6 - Aparelho do choque eletro convulsivo. Utilizado para o estudo dos efeitos farmacológicos de drogas anticonvulsivantes. A avaliação é feita mediante a observação do tempo de latência de convulsão e tempo de Convulsões Clônicas Generalizadas (segundos).

3.3.7 AVALIAÇÃO DA ESTEREOTIPIA INDUZIDA POR APOMORFINA

O teste da estereotipia induzida por apomorfina é um teste amplamente aceito como modelo farmacológico de psicose. Para sua realização os animais foram pré-tratados com OEAZ (50 e 100 mg/kg) e posteriormente receberam apomorfina 20 mg/kg, i.p. Imediatamente após foram colocados 3 animais por caixa e avaliados quanto à estereotipia por um experimentador cego ao tratamento como descrito por pesquisas prévias (Meller et al., 2004, Picada et al., 2003). Os animais foram observados por 1 min em intervalos de 10 min durante 1 hora. O comportamento estereotipado é bem definido pela permanência do animal em posição estacionária exibindo movimentos rápidos, repetitivos da cabeça e membros dianteiros (Battisti et al., 2000). Os comportamentos avaliados foram *sniffing* (ato de cheirar ininterruptamente por pelo menos 3 s dos 10 s avaliados) e *climbing* (i.e., todas as 4 patas acima do piso da caixa). O escore para *climbing* ou *sniffing* variou de 0 a 10 para o tempo de observação.

3.3.8 AVALIAÇÃO DA HIPERLOCOMOÇÃO INDUZIDA POR CETAMINA

O óleo essencial foi emulsionado com 2% de Tween 80 em água destilada. A Cetamina foi dissolvida em solução salina. Os animais foram pré-tratados com EOAZ (50, 100 mg / kg, i.p) ou veículo 30 min antes do teste, enquanto a Cetamina (20 mg / kg, i.p) ou salina foram aplicados imediatamente antes do início dos testes comportamentais. Os animais foram observados por 20 min em campo aberto para a determinação da hiperlocomoção induzida por cetamina. O haloperidol foi utilizado como antipsicótico padrão neste teste.

4 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO OEAZ NO MODELO DE ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDO POR CHOQUE TÉRMICO

Na realização deste ensaio antioxidante foi avaliada a inibição da lipoperoxidação induzida pelo choque térmico. Foram preparados homogenatos de cérebros de camundongos a 20% sem cerebelo, em tampão de fosfato de potássio 5mM (pH7,4). Alíquotas de 1,0 mL do homogenato foram distribuídas em tubos de ensaios em três soluções de OEAZ (25,50,100µ g/ml) e Tocoferol (vitamina E 100µ g / ml - utilizado como antioxidante padrão), foram acrescentadas aos tubos.

Após 1 h de incubação, previamente congelada (-20 ° C por 24 h) homogenato de cérebro a 37 ° C, a capacidade antioxidante foi calculada para cada concentração do óleo. As amostras submetidas ao estresse oxidativo (ou seja, congelado e descongelado a 37 ° C) foram chamados de controles positivos. As amostras congeladas e não incubadas por 1 h a 37 °C foram chamados controles negativos. Os homogenatos foram usados para avaliar os efeitos *in vitro* do EOAZ na peroxidação lipídica (TBARS) e sobre os níveis de nitrito como forma de determinar os níveis de óxido nítrico.

4.1 Avaliação da peroxidação lipídica (dosagem de malonildialdeído)

Método

A peroxidação lipídica é uma das mais importantes expressões orgânicas do estresse oxidativo induzido pela reatividade de radicais livres do oxigênio. O método mais empregado para a determinação do MDA em amostras biológicas é baseado na sua reação com o ácido tiobarbitúrico (TBA). Nesta reação, duas moléculas de TBA reagem estequiometricamente com uma molécula de MDA para formar uma solução de cor rosa, que tem absorvância máxima em pH ácido em 532 a 535 nm. O coeficiente de extinção deste cromóforo num comprimento de onda de 535 nm e pH 1,0 é de $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$. O método utilizado neste experimento foi descrito por HUANG et al. (1998).

Procedimento experimental

As áreas cerebrais CE e CPF foram homogeneizadas a 10 % em uma solução de cloreto de potássio 1,19 % gelada.

Após obtenção dos homogenatos 125 µl de cada homogenato foi adicionado a 225 µl de tampão fosfato de potássio monobásico 50 mM, pH 7,4 e a 125 µl de um sistema catalisador contendo sulfato ferroso e ácido ascórbico em um tubo de ensaio. Esta mistura foi incubada a 37 °C por 30 min. Esta reação foi interrompida pela adição de 250 µl de ácido tricloroacético 10 % e em seguida centrifugada a 3000 rpm por 15 min. Após centrifugação o sobrenadante foi separado e acrescido a este 250 µl de ácido tiobarbitúrico 0,8 %. Após agitação essa mistura foi mantida em Banho Maria com água fervente (100 °C) por 15 min e logo em seguida à retirada do Banho Maria foi colocada em um banho de gelo para o retorno da reação à temperatura ambiente. A leitura foi feita em espectrofotômetro com comprimento de onda ajustado para 532 nm. Como padrão foram utilizadas várias concentrações de MDA (0,627 a 16,77 µmol). Os resultados foram expressos como µmol/mg de proteína.

Soluções reagentes

⇒ Solução de Cloreto de Potássio (KCl) 1,15 %

2,3 g de cloreto de potássio (Reagen, RJ, Brasil) foram diluídos para um volume final de 200 mL de água destilada.

⇒ Tampão fosfato de potássio monobásico 50 mM

1,36 mg de KH_2PO_4 (Reagen, RJ, Brasil) foram dissolvidos em 1000 mL de água destilada e o pH ajustado para 7,4.

⇒ Sistema catalisador

Este sistema é formado pela mistura de partes iguais de duas substâncias que são preparadas isoladamente. A- FeSO_4 0,01M foi preparada pela pesagem de 0,2780 mg de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e dissolução em 100 ml de água destilada. B- Ácido ascórbico foi preparado pela dissolução de 1,761 mg de ácido ascórbico (Sigma, EUA) em 100 mL de água destilada.

⇒ Padrão

Foi preparada uma solução 0,1 mM de malonildialdeído (MDA) em tampão KCl 1,15 %. Diferentes volumes desta solução perfazendo concentrações entre 0,627 e 16,8 μmol foram utilizadas para a obtenção de uma curva padrão de MDA.

4.2 Dosagem de nitrito/nitrato (GREEN et al., 1981)

Método

O reativo de Griess (N-1-naftiletilenodiamina a 0,1 % em água, sulfanilamida 1 % em ácido fosfórico 5 %) revela a presença de nitrito em uma amostra (urina, plasma, homogenato tecidual) por uma reação de diazotização que forma um cromóforo de cor róseo, com um pico de absorbância em 560 nm.

Procedimento experimental

Para a realização do ensaio foram usados 100 μL do reagente de Greiss e adicionados 100 μL do sobrenadante (centrifugado) do homogenato a 10 % das áreas cerebrais dos camundongos em salina ou 100 μL dos padrões nas várias concentrações. Para o branco foram usados 100 μL do reagente de Greiss e adicionados 100 μL de salina. A leitura da absorbância foi feita em 560 nm em leitor de placa. As leituras da absorbância dos padrões (y) foram plotadas contra as concentrações de cada padrão (x), então determinou-se a equação da reta, que foi usada para a determinação da concentração de cada amostra.

Soluções reagentes

⇒ **NEED 0,1 % (N-1-naftiletilenodiamina)**

0,1 g de N-1-naftiletilenodiamina (Sigma, EUA) foram diluídos em 100 mL de água destilada.

⇒ **Ácido fosfórico 5 %**

5 ml do ácido fosfórico (Sigma, EUA) foram diluídos para um volume final de 100 mL em balão volumétrico.

⇒ **Sulfanilamida 1 % em ácido fosfórico 5 %**

1 g de sulfanilamida (Sigma, EUA) foram dissolvidos em um volume final de 100 mL de ácido fosfórico.

⇒ **Reagente de uso (Reagente de Greiss)**

Misturaram-se partes iguais de NEED 0,1 %, água bidestilada, sulfanilamida a 1 % e ácido fosfórico a 5 % (1:1:1:1).

⇒ **Padrão**

Foi preparada uma solução de NaNO_2 estoque (10 mM em tampão). Foram feitas diluições em série e usadas na obtenção da curva padrão (100, 50, 25, 12,5, 6,25, 1,32, 0,75 μM).

5 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE DOPAMINA EM CORPO ESTRIADO DE CAMUNDONGOS

Os animais foram sacrificados por rápida decapitação 30 min após a administração do OEAZ 50 e 100 mg/kg sendo seus cérebros removidos e lavados em salina gelada. O corpo estriado-CE foi dissecado, congelado e armazenado a -70 °C até ser utilizadas para os ensaios (prazo máximo de 6 meses de estocagem).

Para a análise das monoaminas, uma coluna CLC-ODS(M) com comprimento de 25 cm, calibre 4,6 mm e diâmetro da partícula de 3 µm, da Shimadzu, Japão foi utilizada. A fase móvel utilizada foi composta por tampão ácido cítrico 0,163 M, pH 3,0, contendo ácido octanosulfônico sódico, 0,69 M (SOS), como reagente formador do par iônico, acetonitrila 4 % v/v e tetrahydrofurano 1,7 % v/v. A dopamina (DA) foi eletronicamente detectada usando um detector amperométrico (Modelo L-ECD-6A da Shimadzu, Japan) pela oxidação em um eletrodo de carbono vítreo fixado em 0,85 V relativo a um eletrodo de referência de Ag-AgCl. (HALLMAN & JOSSON, 1984).

5.1 ANÁLISE ESTATÍSTICA

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

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM) analisados através de ANOVA seguida pelo teste de Student's-Newman-Keuls como teste *post-hoc* para comparações múltiplas. Valores significativos comparados ao controle ^{a, b} $p < 0,05$ comparado ao EOAZ 50 mg/kg .

Na estereotipia induzida por apomorfina resultados do teste são expressos como a média das seis vezes em que os animais foram observados durante uma hora; os grupos tratados foram comparados com os controle ^a $p < 0.05$.

6 RESULTADOS

6.1 TESTE CAMPO ABERTO

O EOAZ apresentou reduziu o NC de forma dose-dependente em relação ao controle: CONT: $64,90 \pm 5,30$ (10); OEAZ 50: $39,60 \pm 4,50$ (10); OEAZ 100: $24,36 \pm 1,73$ (10) como podem ser observado na **Figura 7**.

O OEAZ também diminuiu significativamente em torno de 55% o comportamento de autolimpeza em ambas as doses estudadas: CONT: $5,10 \pm 0,84$ (10); OEAZ 50: $2,30 \pm 0,47$ (10); OEAZ 100: $2,20 \pm 0,42$ (11) (**Figura 9**).

Nenhuma alteração foi observada quanto a ação do OEAZ no *rearing*: CONT: $8,13 \pm 1,32$ (10); OEAZ 50: $5,60 \pm 1,06$ (10); OEAZ 100: $6,85 \pm 1,26$ (10) (**Figura8**).

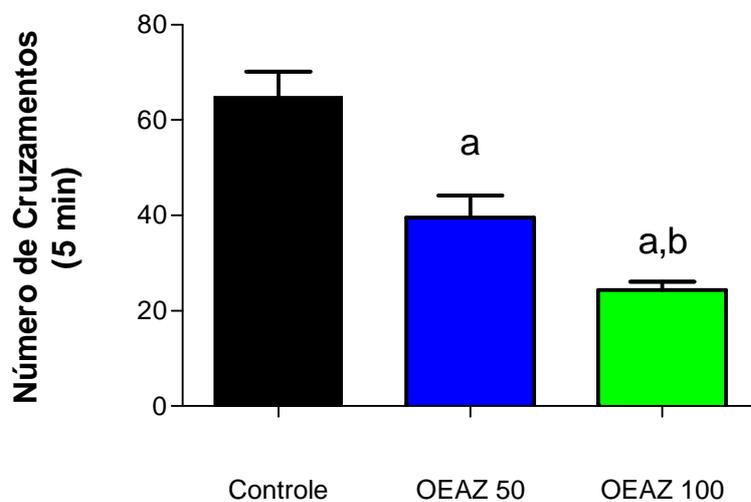


FIGURA 7 – Efeitos do OEAZ (50 e 100mg/kg, i.p) sobre a atividade locomotora (número de cruzamentos) dos camundongos. Número de 8-10 animais por grupo. As barras representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos comparados ao controle ^a $p < 0,05$ e ^b $p < 0,05$ comparado ao EOAZ 50 mg/kg .

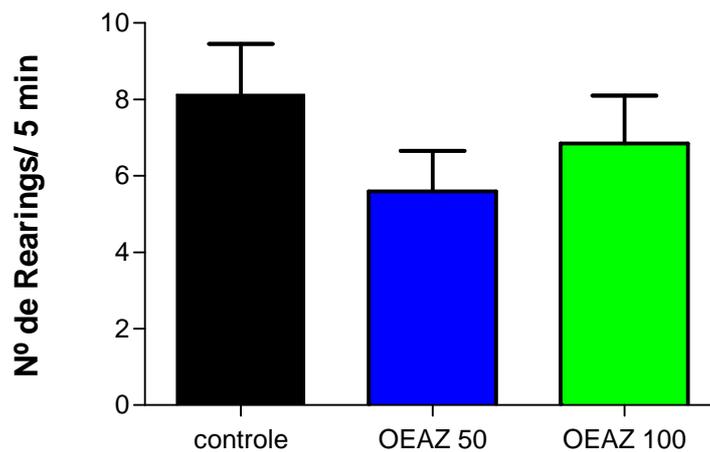


FIGURA 8 – Efeitos do OEAZ (50 e 100mg/kg, i.p) sobre o número de *Rearings* (atividade locomotora vertical) dos camundongos submetidos ao teste de campo aberto. Número de 8-10 animais por grupo. As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste post hoc. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$.

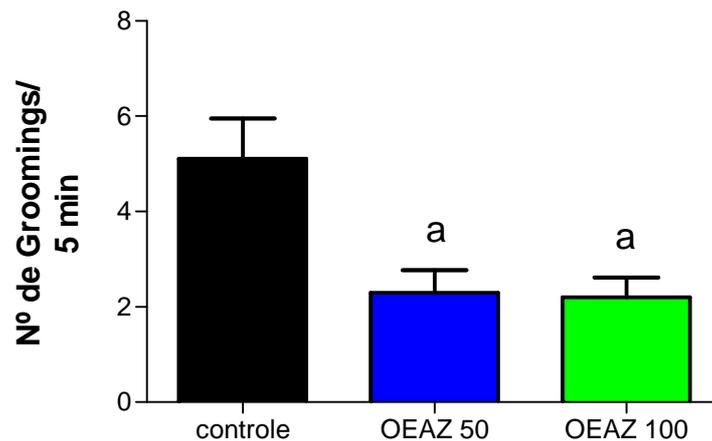


FIGURA 9 – Efeitos do OEAZ (50 e 100mg/kg, i.p) sobre a atividade de Groomings (autolimpeza) dos camundongos submetidos ao teste de campo aberto. Número de 8-10 animais por grupo. As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste post hoc. Valores significativos comparados ao controle ^a $p < 0,05$.

6.2 TESTE ROTA ROD

Neste teste o OEAZ em ambas as doses (50 e 100mg/kg) não apresentou efeito algum sobre a coordenação motora dos animais (tempo de permanência na barra giratória), como pode ser observado na tabela 1.

TABELA 1 - Efeitos do OEAZ (50 e 100 mg/kg) sobre a coordenação motora dos camundongos em diferentes velocidades (5, 15, 40 rpm).

GRUPOS	VEL 5	VEL 15	VEL 40
CONTROLE	1,3 ± 0,3000	1,4 ± 0,3712	2,500 ± 0,3416
OEAZ 50	1,0 ± 0,3944	0,9 ± 0,2333	2,100 ± 0,4069
OEAZ 100	1,0 ± 0,3651	1,2 ± 0,4422	2,800 ± 0,2000

Os valores representam as medias ± SEM das diferentes velocidades (5,15,40 rpm). Foram utilizados de 6-11 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Não houve diferença significativa.

6.3 TESTE NADO FORÇADO

O efeito antidepressivo do OEAZ foi estudado no teste de nado forçado através da análise do tempo de imobilidade (em segundos).

Conforme os dados mostrados na **Tabela 2**, (CONTR: $101,3 \pm 8,90$ (6); EOAZ 50: $104,30 \pm 13,15$ (7); EOAZ 100: $167,0 \pm 16,45$ (6); IMI 10: $18,1 \pm 2,74$ (8)) o OEAZ aumentou o tempo de imobilidade do animal em torno de 64% comparado ao controle. A Imipramina (10mg/kg) utilizada como padrão positivo por sua ação antidepressiva reduziu o tempo de imobilidade quando comparada ao grupo controle.

TABELA 2 - Efeitos do OEAZ (50 e 100 mg/kg) e Imipramina (10mg/kg) no tempo de imobilidade de animais submetidos ao teste do nado forçado.

GRUPOS	TEMPO DE IMOBILIDADE (s)
CONTROLE	101,3 ± 8,90
EOAZ 50 mg/kg	104,30 ± 13,15
EOAZ 100 mg/kg	167,0 ± 16,45 ^a
IMIPRAMINA (10mg/kg)	18,1 ± 2,74 ^a

Os valores representam as medias ± SEM do tempo de imobilidade de 5min. Foram utilizados de 6-8 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos comparados ao controle ^ap< 0.05.

6.4 TESTE SUSPENSÃO DA CAUDA

O teste de suspensão da cauda avalia a ação de drogas que possam ter ações antidepressivas no sistema nervoso central.

O OEAZ apresentou os seguintes resultados conforme apresentados na **Tabela 3** (CONT: $80,59 \pm 8,97$ (11); EOAZ 50: $85,07 \pm 7,54$ (9); EOAZ 100: $113,4 \pm 10,32$ (8); HAL: $197,6 \pm 9,98$ (10)). Os resultados mostram que o OEAZ na dose de 100mg/kg aumentou em 40% o tempo de imobilidade do animal. O que caracteriza um efeito depressor na maior dose estudada, quando esta foi comparada ao grupo controle.

O grupo de animais que foram tratados com o antagonista de receptores dopaminérgicos (Haloperidol – 0,2 mg/kg) também aumentou o tempo de imobilização quando comparados ao controle.

TABELA 3 - Efeitos do OEAZ (50 e 100 mg/kg) e Haloperidol (0,2 mg/kg) referente ao tempo de imobilidade no teste de suspensão da cauda.

GRUPOS	TEMPO DE IMOBILIDADE (s)
CONTROLE	80,59 ± 8,97
EOAZ 50 mg/kg	85,07 ± 7,54
EOAZ 100 mg/kg	113,4 ± 10,32 ^a
Haloperidol (0.2 mg/kg)	197,6 ± 9,98 ^a

Os valores representam as medias ± SEM do tempo de imobilidade de 5min. Foram utilizados de 8-11 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos comparados ao controle ^ap< 0.05.

6.5 TESTE LABIRINTO CRUZ ELEVADO (LCE)

O efeito ansiolítico do OEAZ foi estudado neste teste comportamental através de dois parâmetros: NEBA (número de entradas nos braços abertos) e TPBA (tempo de entrada nos braços abertos – segundos).

Na **Tabela 4** tem-se o efeito do OEAZ sobre NEBA onde, CONT: $5,38 \pm 0,98$ (10); EOAZ 50: $4,10 \pm 0,48$ (10); EOAZ 100: $5,10 \pm 0,75$ (10); DZP: $9,60 \pm 1,30$ (8). Com relação ao TPBA ainda na **Tabela 4** os resultados apresentaram-se da seguinte forma: CONT: $119,90 \pm 10,20$; EOAZ 50: $153,0 \pm 18,42$; EOAZ 100: $5,10 \pm 0,75$ (10); DZP: $168,0 \pm 16,0$ (8). Desta forma observou-se que o OEAZ nas doses de 50 mg/kg e 100mg/kg não apresentou resultados significativos quando comparado ao grupo controle. O DZP utilizado como controle positivo apresentou aumento no tempo de permanência do braço aberto, bem como aumentou o número de entrada nos mesmos, confirmando assim a sua esperada resposta ansiolítica.

TABELA 4 – Efeitos do OEAZ (50 e 100 mg/kg) e Diazepam (1mg/kg) referente ao tempo de permanência nos braços abertos no teste de Labirinto Cruz Elevado (LCE).

GRUPOS	NEBA	TPBA (s)
CONTROLE	5,38 ± 0,98	119,90 ± 10,20
EOAZ 50 mg/kg	4,10 ± 0,48	153,0 ± 18,42
EOAZ 100 m/kg	5,10 ± 0,75	122,90 ± 17,37
DIAZEPAM 1 mg/kg	9,60 ± 1,30 ^a	168,0 ± 16,0 ^a

Os valores representam as médias ± SEM da FEBA (frequência de entrada nos braços abertos) e TPBA (tempo de permanência nos braços abertos). Foram utilizados de 8-10 animais por grupo. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste post hoc. Valores significativos comparados ao controle ^ap< 0.05.

6.6 TESTE DAS CONVULSÕES INDUZIDAS POR ELETROCHOQUE MÁXIMO

No modelo de convulsão induzida por eletrochoque, foram avaliados dois parâmetros: tempo de latência de convulsão (tempo em que o animal leva para apresentar a primeira convulsão) e tempo de estiramento.

O OEAZ não apresentou efeito sobre a latência da primeira convulsão, como pode ser observado na **Figura 10**.

No tempo de estiramento o OEAZ na maior dose estudada (100mg/kg) apresentou efeito anticonvulsivante significativo, quando comparado ao grupo controle (respectivamente $(11,71 \pm 0,5654)$, $(14,50 \pm 0,7319)$) como mostra a **FIGURA 11**. Como droga padrão para o teste foi utilizado DZP (1mg/kg) que como esperado aumentou o tempo de LC e apresentou diminuição tempo de estiramento quando comparadas ao grupo controle.

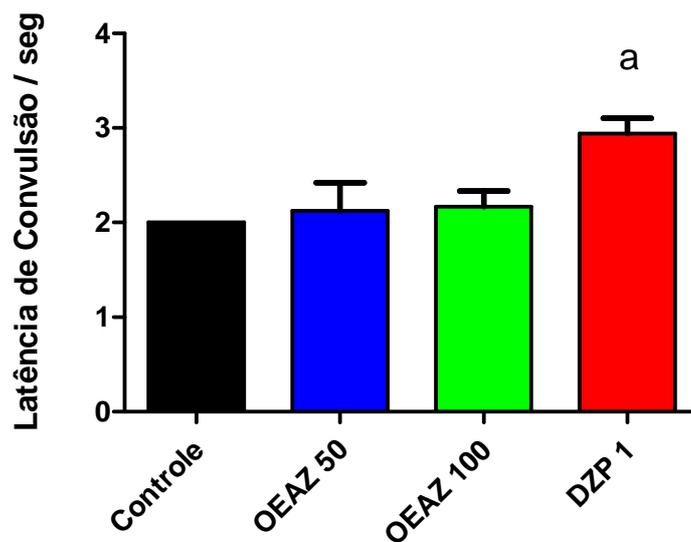


FIGURA 10 – Efeitos do OEAZ (50 e 100mg/kg. i.p) e Diazepam (1 mg/kg) sobre a Latência de Convulsão induzida por Eletrochoque máximo. As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM). analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos comparados ao controle ^a $p < 0.05$.

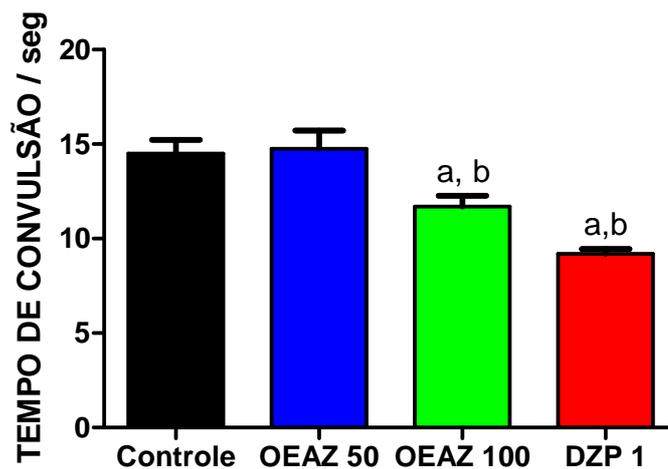


FIGURA 11 - Efeitos do OEAZ (50 e 100mg/kg. i.p) e Diazepam (1 mg/kg) sobre tempo de estiramento (tempo de convulsão). Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste post hoc. Valores significativos comparados ao controle ^ap< 0.05 e ^bp< 0.05 comparado ao EOAZ 50 mg/kg .

6.7 ESTEREOTIPIA INDUZIDA POR APOMORFINA

Na estereotipia induzida por Apomorfina os animais foram pré-tratados com OEAZ (50 e 100 mg/kg) e trinta minutos depois receberam apomorfina 20 mg/kg. O OEAZ na dose de 50 mg/kg reduziu em torno de 40% a estereotipia quando comparado ao controle como pode ser observado na **Figura 12**. A dose de 100mg/kg do OEAZ reverteu a estereotipia em torno de 79%, ou seja, uma diminuição significativa dose-dependente.

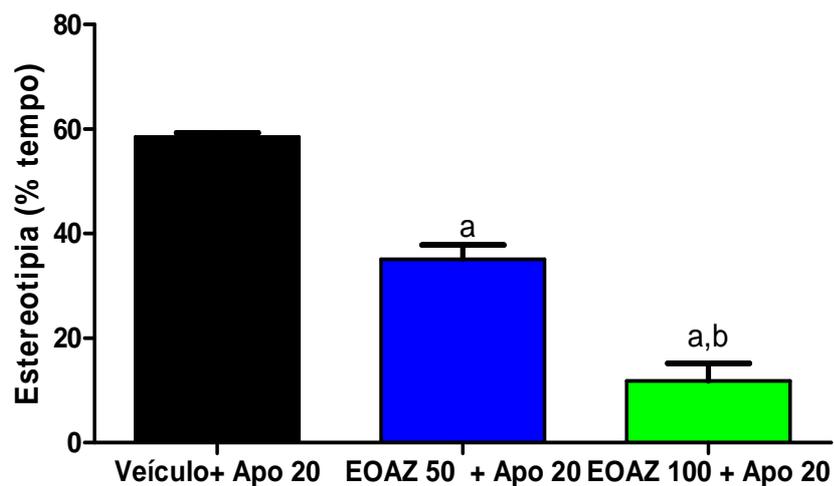


FIGURA 12 - Efeitos do OEAZ (50 e 100mg/kg) + APO 20 e Veículo + APO 20, na Estereotipia induzida por Apomorfina. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos comparados ao controle ^a $p < 0.05$ e ^b $p < 0.05$ comparado ao EOAZ 50 mg/kg .

6.8 AVALIAÇÃO DA AÇÃO DO EOAZ NA HIPERLOCOMOÇÃO INDUZIDA POR CETAMINA

Como esperado, os animais tratados com Cetamina (CET) 20 mg/kg i.p mostraram um aumento de 181% no número de cruzamentos, em comparação aos animais controle. O HAL (0,2 mg/kg) sozinho diminuiu a atividade locomotora em comparação aos controles. Com o pré-tratamento com EOAZ 100 e HAL (0,2 mg/kg) ocorreu uma diminuição da hiperlocomção induzida por CET. Os resultados podem ser conferidos visualizados na **Figura 13**.

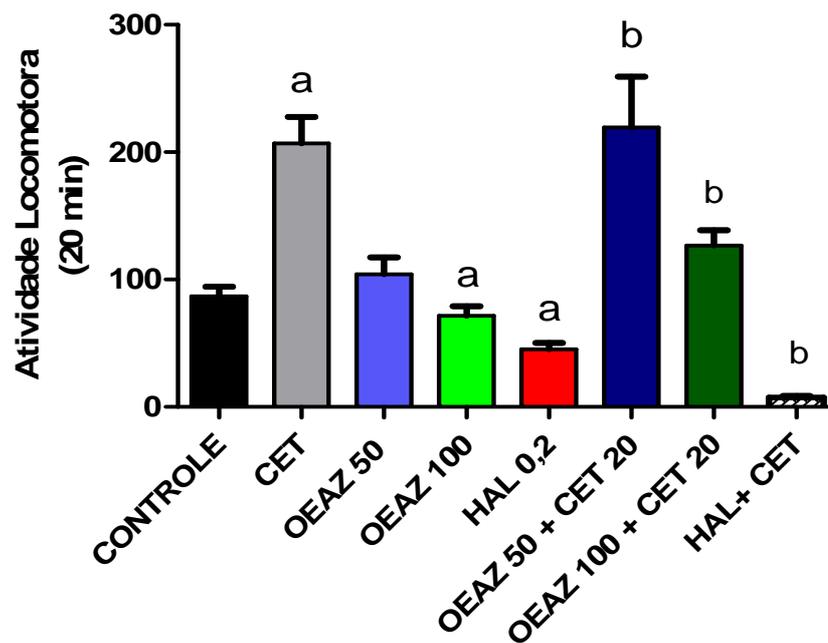


FIGURA 13 - Efeito do EOAZ (50, 100mg/kg) e Haloperidol (HAL 0,2) na hiperatividade locomotora induzida pela administração de Cetamina. Os camundongos foram tratados com EOAZ ou HAL isolada ou associada à CET (com um intervalo de 30 min entre as drogas) e foram imediatamente colocados em uma arena em campo aberto. Foram utilizados de 7-9 animais por grupo. Onde ^ap < 0.05 quando comparado ao controle e ^bp < 0.05 para diferença entre controle e CET. Para análise estatística ANOVA e Student-Newman-Keuls como o teste *post hoc*.

6.9 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO OEAZ FRENTE À PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA INDUZIDA POR CHOQUE TÉRMICO (Dosagem de TBARS em homogenatos de tecido cerebral)

A **Figura 14** apresenta o efeito do OEAZ sobre as concentrações das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, em homogenatos de tecido cerebral, geradas a partir da peroxidação lipídica induzida por choque térmico. Como pode ser observado o controle positivo apresentou um aumento de 83% de conteúdo de MDA em relação ao controle negativo. O OEAZ, em todas as concentrações estudadas (25, 50 e 100 $\mu\text{g} / \text{ml}$) reduziu significativamente a peroxidação lipídica em torno de 80% em relação ao controle positivo, e este efeito foi semelhante ao apresentado pela vitamina E.

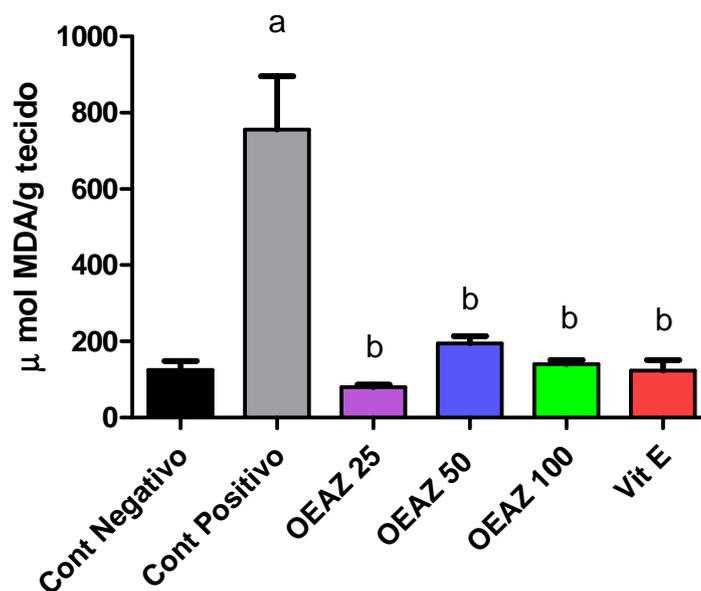


Figura 14 - Deteminação dos níveis de MDA em homogenatos cerebrais submetidos ao choque térmico. Os valores representam as medias \pm SEM dos níveis de nitrito em homogenatos submetidos (controle positivo) ou não (controle negativo) para o estresse oxidativo e homogenatos submetidos ao estresse oxidativo incubados com EOAZ (25, 50 e 100 $\mu\text{g} / \text{ml}$) ou vit E. Onde ^a $p < 0.05$ para controle positivo vs controle negativo e ^b $p < 0.05$ para controle positivo vs controle EOAZ. Para análise estatística ANOVA e Student-Newman-Keuls como o teste *post hoc*.

6.10 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE NITRITO EM HOMOGENATOS CEREBRAIS SUBMETIDOS AO MODELO DE ESTRESSE OXIDATIVO *IN VITRO* INDUZIDO POR CHOQUE TÉRMICO

A figura 15 apresenta o efeito do OEAZ sobre as concentrações de nitrito em homogenatos de tecido cerebral submetidos ao estresse oxidativo induzido por choque térmico *in vitro*.

Os homogenatos submetidos ao estresse oxidativo (controle positivo) diminuíram o teor de nitrito em relação ao controle negativo em 22 % quando comparados ao controle, enquanto o EOAZ em todas as doses estudadas (25, 50 e 100 μ g/ml) juntamente com a vitamina E (Tocoferol) voltou estes parâmetros para os níveis de controle negativo. **Figura 15.**

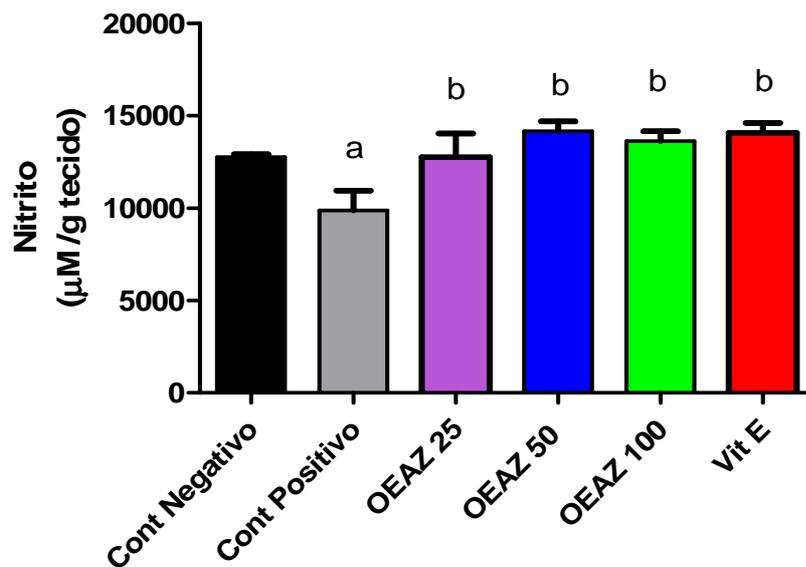


FIGURA 15 – Deteminação dos níveis de nitrito em homogenatos cerebrais submetidos ao choque térmico. Os valores representam as medias \pm SEM dos níveis de nitrito em homogenatos submetidos (controle positivo) ou não (controle negativo) para o estresse oxidativo e homogenatos submetidos ao estresse oxidativo incubados com EOAZ (25, 50 e 100 μ g / ml) ou vit E. Onde ^a $p < 0.05$ para controle positivo vs controle negativo e ^b $p < 0.05$ para controle positivo vs controle EOAZ. Para análise estatística ANOVA e Student-Newman-Keuls como o teste *post hoc*.

6.11 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE DOPAMINA EM HOMOGENATOS DE CORPO ESTRIADO DE CAMUNDONGOS TRATADOS AGUDAMENTE COM OEAZ

A **figura 16** mostra que a administração do OEAZ nas doses de 50 e 100mg/kg, promoveu uma redução significativa nos níveis de DA no corpo estriado de camundongos em relação ao controle. A dose de 50mg/kg reduziu em torno de 25%, enquanto a de 100mg/kg, ocorreu redução em torno de 31%.

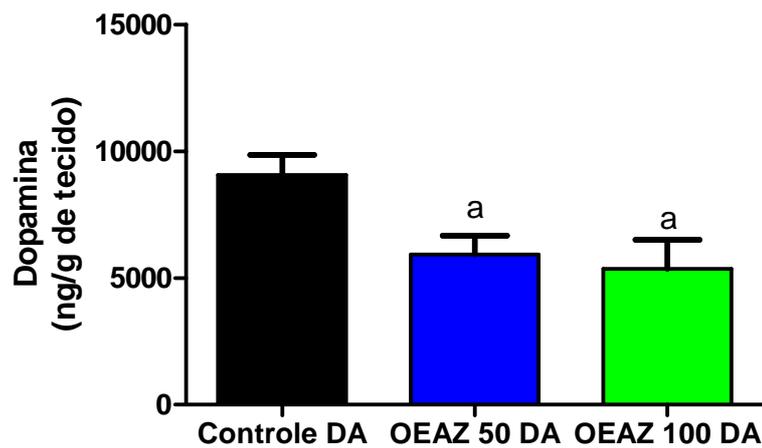


Figura 16 - Efeitos do OEAZ (50 e 100mg/kg. i.p) sobre a concentração de Dopamina (DA) no corpo estriado. As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM). Analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos comparados ao controle ^a $p < 0.05$.

7. DISCUSSÃO

As plantas medicinais são relevantes para manutenção das condições de saúde da população. Nas referências históricas sobre plantas medicinais podemos verificar que existem relatos de sua utilização em todas as civilizações antigas.

O Brasil possui uma das mais ricas biodiversidades do planeta, com milhares de espécies em sua flora e fauna dentre elas a *Alpinia zerumbet*, conhecida popularmente por seus efeitos diuréticos, carminativos, estomáquicos, anti-eméticos, espasmolíticos, antiinflamatórios, antiofídicos, anti-histéricos no combate ao reumatismo e como tônico geral (CRUZ, 1965; ALMEIDA, 1993). Neste caso o conhecimento científico associado ao conhecimento popular torna o presente estudo válido, visto que a literatura disponível ainda não oferece informações suficientes sobre os efeitos do OEAZ sobre o SNC.

Os modelos de testes comportamentais utilizados neste trabalho (Campo Aberto, Rota Rod, Nado Forçado, Suspensão da Cauda, Labirinto Cruz Elevado, Convulsões induzidas por eletrochoque máximo, Estereotipia induzida por Apomorfina, Hiperlocomoção induzida por Cetamina,) para a determinação dos efeitos do óleo no SNC, ou seja, um *screening* comportamental de atividades que podem revelar efeitos depressores/estimulantes, bem como atividade ansiolítica e anticonvulsivante.

No primeiro teste realizado, o teste do campo aberto (CA) o animal é colocado em um ambiente não familiar, onde o comportamento exploratório diminui consideravelmente (neofobia). O CA permite dicutir a especificidade de uma droga, caso ela seja ansiolítica, estimulante, ansiogênica ou até sedativa (LISTER, 1987). A diminuição ou o aumento da atividade locomotora fornece uma indicação dos nível de excitabilidade do SNC (MANSUR,et al., 1971). O teste de CA realizado com animais pré-tratados com OEAZ (50 e 100 mg / kg) reduziu o número de cruzamentos (NC), como reduziu também o número de *grooming* (NG) de forma dose-dependente, não alterando o número de *rearing* (NR).

A redução do NC está relacionado a uma redução na neurotransmissão dopaminérgica, visto que animais *knockout* para receptores D2 apresentam redução na atividade locomotora (ZUO et al., 2008).

O comportamento *Grooming* (autolimpeza) é uma "manutenção", comportamento que é especificamente induzido em situações em que um animal está em conflito induzido pelo estresse ou frustração.

Nesta situação o comportamento de autolimpeza em roedores tem sido relacionado com receptores de dopamina (D1) no cérebro (GISPEN & ISAACSON, 1981).

Todos os receptores de DA exibem estruturas típicas de 5 receptores acoplados a proteína G. Os receptores D1-símile (D1e D5), e D2-símile (D2, D3, D4), possuem distribuições distintas no cérebro, onde D1se encontra amplamente distribuído no Estriado (núcleo caudado, putâmen, núcleo de accumbens) e Neocortex; D5 apresenta-se principalmente no Hipocampo. Os receptores D2 encontram-se distribuídos no Estriado, Hipófise, Hipótalamo, Córtex Frontal (Golan, 2009).

Drago, et al., (1999), mostraram que a redução do *grooming* ocorre em animais deficientes de receptores D1 (*Knockout*), em contraste com grupos de animais sem a presença de receptor de dopamina D2 que mostraram um nível normal de ativação comportamental. Esses pesquisadores puderam estabelecer que os receptores D1-símile (D1-5) estão extremamente envolvidos no comportamento de limpeza, mas não receptores D2-símile (D2-4). Com base nos fatos citados acima, a diminuição significativa no comportamento de autolimpeza, estimulada pela EOAZ pode estar relacionado com um possível efeito inibitório sobre os receptores de dopamina D1-símile. O efeito apresentado pelo OEAZ corrobora com o fato de que o óleo parece exercer um importante efeito inibitório sobre o sistema dopaminérgico, desde que reduziu o NC e grooming no campo aberto. Vale à pena salientar que este sistema é o principal alvo farmacológico da terapia antipsicótica.

Dando continuidade ao *screening* do estudo, o teste do Rota Rod é utilizado para avaliar se os tratamentos com drogas promovem incoordenação motora nos animais, por sedação e/ou relaxamento muscular (DUHAM E MYIA, 1957). Segundo Masaquoi et al., (1980), a perda de coordenação motora é uma característica comum de muitas

desordens neurológicas e um dos efeitos farmacológicos mais comuns em caso de intoxicação, sendo também um importante efeito colateral relacionado ao uso de fármacos como os benzodiazepínicos. De acordo com o protocolo do teste os animais foram previamente tratados com OEAZ (50 e 100mg/kg) e este não produziu alterações na coordenação motora. Desta forma o óleo essencial de *Alpinia* parece ser desprovido de potencial neurotóxico nas doses estudadas. Em estudos realizados em nosso laboratório com a dose de 200mg/kg (dados não apresentados) o OEAZ também não apresentou alterações quanto à coordenação motora.

De acordo com Rustay et al., (2003) é recomendado a realização do estudo com várias doses de droga, pois muitos agentes depressores como barbitúricos, etanol, antagonistas glutamatérgicos e benzodiazepínicos (BZPs podem apresentar efeito locomotor bifásico, ou seja, produzindo estimulação em baixas doses e sedação em doses maiores. Este efeito não foi observado com as doses estudadas do OEAZ, ao contrário das alterações observadas com BZPs. Drogas ansiolíticas clássicas como BZPs em baixas doses (2mg/kg), apresentam efeito relaxante que aumenta o número de quedas e diminui o tempo e permanência na barra. Os resultados obtidos no Rota Rod são importantes, pois revelam que o OEAZ é desprovido de efeitos prejudiciais ao desempenho motor, e esta característica é bastante válida quando se deseja tratamentos farmacológicos que não causem comprometimento da coordenação motora.

Atualmente existe um crescente interesse no estudo do efeito antidepressivo de plantas medicinais, pois o tratamento da depressão com antidepressivos convencionais (inibidores da monoamina oxidase, antidepressivos tricíclicos, inibidores seletivos da recaptação da serotonina e noradrenalina), prevê uma remissão completa de apenas 50% dos indivíduos (NESTLER et al., 2002).

A depressão é um distúrbio caracterizado por uma ampla gama de sintomas, incluindo alterações de humor, distúrbios das funções cognitivas e pensamentos recorrentes de morte ou suicídio. Em contraste com as experiências normais de tristeza, a depressão clínica é uma doença crônica que pode interferir significativamente na qualidade de vida do indivíduo. Os tratamentos antidepressivos atuais são eficazes em cerca de 70-80% dos pacientes, e muitas vezes demoram mais de 2-3 semanas até que os pacientes respondam ao tratamento, além de apresentarem consideráveis efeitos colaterais. (PÁEZ-PEREDA, 2005; TAYLOR;STEIN, 2005).

Os relatórios de pesquisa têm indicado que extratos de plantas medicinais e seus constituintes, incluindo *Hypericum perforatum*, *Curcuma longa*, o *Ginkgo biloba*, *Schinus molle*, entre outros, exercem efeito antidepressivo em modelos animais de depressão (MACHADO et al, 2007; MCGARRY et al, 2007; PENG et al, 2007; RODRIGUES et al 2002; SAKAKIBARA et al, 2006; WANG et al, 2008; ZHANG, 2004; ZHANG et al, 2007).

Os testes mais validados para o estudo da atividade antidepressiva de substâncias são o Teste do Nado Forçado (TNF) e o Teste da Suspensão da Cauda (TSC). Estes estudos forneceram informações úteis para o desenvolvimento de novas terapias farmacológicas.

O TNF e TSC são amplamente utilizados para o rastreamento de antidepressivos potenciais. Drogas antidepressivas reduzem o tempo de imobilidade em ambos os TNF e TSC. O comportamento de imobilidade apresentado em roedores quando submetido a um estresse inevitável e incontornável, reflete o desespero do comportamento, que por sua vez, podem refletir como distúrbios depressivos em seres humanos. Há, de fato, uma correlação significativa entre a potência e eficácia clínica dos antidepressivos em ambos os modelos.

O teste do nado forçado é um dos modelos mais tradicionais para o estudo da depressão em animais de laboratório, por apresentar alto valor preditivo devido à resposta aos medicamentos antidepressivos existentes. Proposto por Porsolt e colaboradores, em 1977, os roedores são expostos a uma situação aversiva, nadar em um tanque cilíndrico com água, onde eles não podem tocar o fundo do cilindro ou fugir (escape). E no TSC o animal suspenso pela cauda após um período de movimentos de tentativas de fuga de uma situação estressante inescapável, Com o tempo os animais percebem que não tem como sair do local e desenvolvem uma postura de imobilidade (ZHANG, 2004).

Os resultados apontaram que o OEAZ aumentou o tempo de imobilidade na dose de 100mg/kg, tanto no TNF como no TSC. A imipramina (inibidor da recaptação da noradrenalina e serotonina) utilizada como controle positivo para o TNF diminuiu o

tempo de imobilidade do animal, ratificando estudos que mostram a sensibilidade deste teste a drogas antidepressivas (PORSOLT, 1977). Desta forma, os resultados parecem ser preditivos de propriedades depressoras do OEAZ no SNC.

Baseado no fato de que os neurolépticos como Haloperidol (antagonista dopaminérgico) aumentam o tempo de imobilidade no TSC, sugerindo que este teste não seja sensível não somente aos antidepressivos, mas também poderia ser útil para gerar perfis de atividade para os diferentes tipos de agentes psicotrópicos (STERU et al., 1987). Observamos o comportamento de camundongos tratados com Haloperidol (HAL) na dose 0.2 mg/kg e comparamos com os animais tratados com OEAZ. Os resultados obtidos com HAL, em nossa condição experimental confirmaram os dados obtidos por Steru *et al* (1987), mostrando que neurolépticos neste teste apresentam como resposta um aumento na imobilidade dos animais.

Dando continuidade ao *screening* comportamental e baseado no uso popular do chá de colônia como calmante, resolvemos investigar os efeitos do OEAZ quanto sua possível ação ansiolítica através do modelo de ansiedade clássica como o Labirinto Cruz Elevado (LCE).

O LCE foi inicialmente desenvolvido por Handley e Mithani, (1984) e validado por Pellow et al., 1985. Neste teste observou-se que drogas ansiolíticas, incluindo os benzodiazepínicos, barbitúricos e etanol, aumentam o número de entradas e permanência nos braços abertos, enquanto que agentes ansiogênicos produzem um efeito oposto. Estudos realizados por Treit *et al* (1993), revelam que a ausência de paredes laterais no braço aberto do labirinto seria mais importante que a altura, no desencadeamento do medo no LCE, ou seja, o labirinto é um modelo de ansiedade animal baseado no medo inato de que os roedores tem de ficar em espaços abertos e elevados. O LCE é utilizado para avaliação do estado de ansiedade em animais.

Os distúrbios da ansiedade como, a ansiedade generalizada, os distúrbios do pânico, o transtorno obsessivo-compulsivo, as fobias ou o estresse pós-traumático, são os tipos mais comuns de doença mental no mundo e, se tornou uma área de pesquisa de grande interesse na psicofarmacologia. Os benzodiazepínicos estão entre os primeiros na linha de drogas que têm sido extensivamente utilizadas nos últimos 45 anos para tratar as diversas formas de ansiedade (RABBANI et al., 2007). Apesar de os benzodiazepínicos apresentarem benefícios bem descritos e caracterizados, os seus

efeitos colaterais são: sedação, relaxamento muscular, amnésia anterógrada e tolerância-dependência (KAPLAN & SADOCK, 2005). É devido a esses efeitos adversos que cerca de 43% dos pacientes que apresentam transtornos da ansiedade usam alguma forma complementar de terapia (ERNEST, 2006).

No presente estudo o EOAZ não alterou o desempenho de camundongos no teste de LCE, sugerindo que o óleo essencial, nas doses utilizadas, não parece ter atividade ansiolítica. Diazepam, como esperado, reduziu a aversão natural dos animais para os braços abertos, e promoveu a exploração do labirinto. Por tratar-se de um modelo excelente para investigação de drogas com ação nos receptores do subtipo GABAA, os resultados sugerem que o OEAZ provavelmente não tenha ação farmacológica semelhante aos benzodiazepínicos.

Dentre as várias terapêuticas utilizadas nos transtornos mentais, a eletroconvulsoterapia (ECT) pode ser um método seguro e eficaz para o tratamento de pacientes com transtornos mentais, como em episódios do transtorno bipolar do humor, um dos quadros nosológicos mais consistentes ao longo da história da medicina com suas formas típicas (euforia, mania e depressão) na esquizofrenia, que é uma doença que se caracteriza pela dificuldade que a pessoa apresenta de diferenciar a realidade de suas crenças e percepções muito incomuns (MORENO et al., 2005).

A ECT afeta múltiplas áreas do sistema nervoso central, incluindo neurotransmissores, hormônios, neuropeptídeos e fatores neurotróficos (WAHLUND, 2003). A teoria clássica para seu mecanismo de ação postula que a ECT melhora a deficiente neurotransmissão em sistemas cerebrais relevantes, assim como os antidepressivos tricíclicos, aumentando a neurotransmissão, dopaminérgica, serotoninérgica e noradrenérgica. Por outro lado, sabe-se que a ECT tem forte ação antipsicótica corriqueira quando há diminuição da ação dopaminérgica, o que leva a questionar a teoria de simples elevação da disponibilidade de dopamina no cérebro. (MACEDO et al., 2004).

Um estudo *in vivo* do cérebro através de microdiálise mostrou que a administrações única e repetidas da ECT aumentou a concentração extracelular de dopamina no estriado de ratos e que a concentração basal do seu metabólito, ácido 3,4 - dihidroxifenilacético (DOPAC) foi aumentada após a administração crônica da ECT por oito dias (YOSHIDA et al., 1997).

Vários estudos têm relatado que repetidas administrações ECT causam hiperatividade locomotora em ratos (Hidaka et al, 2008;. Li et al, 2006, 2007). Esses estudos sugerem que as convulsões induzidas pela administração repetida ECT ativam o sistema dopaminérgico central. Smith & Sharp (1997) mostraram em seu estudo que cinco administrações de ECT induziu o aumento das concentrações de dopamina que ainda foram observados por até 3 semanas após a suspensão de tratamentos em ratos.

Estudo recente realizado por Hidaka et al., 2010 revelou que administrações sucessivas (7 dias) de choque eletroconvulsivo, demonstraram envolvimento de receptores dopaminérgicos (D2) e serotoninérgicos (5-HT₂). Vários estudos vêm sendo realizados para verificação de possíveis ações anticonvulsivantes por parte de plantas medicinais utilizando o modelo do ECT.

Desta forma acreditando em uma possível participação do sistema dopaminérgico nos efeitos do OEAZ resolvemos investigar testas esse óleo nas convulsões induzidas por eletrochoque máximo, avaliando o tempo de latência de convulsão (tempo em que o animal leva para apresentar a primeira convulsão) e tempo de estiramento do animal. Drogas que impedem o aparecimento dessas convulsões correlacionam-se, em geral, com aquelas empregadas clinicamente nas epilepsias do tipo tônico-clônica generalizadas (SWINYARD, 1952). O óleo essencial de *A.zerumbet* apresentou na maior dose estudada (100mg/kg) efeito anticonvulsivante com a diminuição do tempo de estiramento. Este efeito pode estar relacionado aos monoterpenos presentes neste óleo essencial como o como o terpinen-4-ol, 1,8 cineol e terpineno γ .

Outros óleos essenciais constituídos por monoterpenos apresentaram efeitos anticonvulsivantes, como o óleo essencial de *Artemisia dracunculus L.* (Asteraceae), obtido das partes aéreas da planta. No caso específico desse óleo nas doses em que esse apresentou efeito anticonvulsivante, foram também observadas sedação e comprometimento motor avaliado pelo teste rotarod. A análise cromatográfica do óleo por cromatografia gasosa e espectrometria de massa mostrou a presença constituintes como o trans-anetol (21,1%), alfa-trans-ocimeno (20,6%), limoneno (12,4%), alfa-pineno (5,1%), alo ocimeno (4,8%), metil eugenol (2,2%), beta-pineno (0,8%), terpinoleno-alfa (0,5%), acetato de bornilo (0,5%) e biciclogermacreno (0,5%) como os componentes principais. Portanto, os efeitos anticonvulsivantes observados podem estar

relacionados à presença de monoterpenóides no óleo essencial. O OEAZ também apresenta monoterpenos, embora não tenha apresentado prejuízos à coordenação motora dos animais o que mostra um benefício desse óleo. Resultados semelhantes embora também apresentando comprometimento motor foram observados com os óleos essenciais das folhas de *Laurus nobilis* Linn., Lauraceae, que tem sido usado como anti-epiléptico na medicina tradicional iraniana. Os componentes do óleo essencial responsáveis por esse efeito podem estar associados aos componentes presentes metileugenol, eugenol e pineno (SAYYAH M et al.; 2002) e com o óleo essencial da raiz de *Angelica archangelica* também sendo seu efeito atribuído à presença de terpenos no óleo essencial (PATHAK, et al., 2010).

O fato da ECT aumentar os níveis de DA e baseado no conjunto de resultados apresentado neste estudo, como os obtidos no teste do campo aberto sugere mais fortemente um envolvimento de receptores dopaminérgicos nas ações do EOAZ, o que nos levou a investigar os efeitos desse em relação à estereotipia induzida por apomorfina (APO) um modelo farmacológico de psicose (ELLENBROEK & COOLS, 2002; RANDRUP & MUNKVAD, 1974). O EOAZ foi capaz de reverter de uma maneira dose-dependente os comportamentos induzidos pela administração de APO (escalada e *sniffing*), confirmando a participação de receptores dopaminérgicos nos efeitos do EOAZ.

Comportamentos estereotipados são característicos de doenças como esquizofrenia e transtorno obsessivo-compulsivo (RIDLEY, 1994). Segundo Grunblatt et al., (2001) estereotipia induzida por apomorfina em roedores tem sido considerado um modelo animal de psicose. A apomorfina é um potente agonista dos receptores D1 e D2 da dopamina (Bianchi & Landi, 1985).

A hipótese de hiperfunção dopaminérgica continua sendo utilizada para explicar a esquizofrenia. As duas principais evidências sustentando esta hipótese são: 1- indução de quadros psicóticos por anfetamina (agente que induz liberação de dopamina); 2 - efeito terapêutico das drogas antipsicóticas se dá através do bloqueio de receptores dopaminérgicos tipo D2 (Rice, 1999). Estudos sugerem que os sintomas psicóticos resultariam de um desequilíbrio entre os sistemas dopaminérgicos cortical e subcortical. O hipofuncionamento do sistema dopaminérgico do córtex pré-frontal pode ser o responsável pelo desenvolvimento de sintomas negativos, enquanto os sintomas

positivos poderiam ser atribuídos ao aumento da atividade dopaminérgica no sistema límbico (KAHN e DAVIS, 1995; KNABLE e WEINBERGER, 1997).

Baseados no fato do OEAZ ter prevenido a estereotipia induzida por apomorfina em camundongos, resolvemos analisar os níveis de dopamina (DA) em homogenatos de corpo estriado dos camundongos tratados com o OEAZ. Foi observado que o OEAZ em ambas doses utilizadas reduziu os níveis de DA no corpo estriado dos animais, ratificando a hipótese de inibição da neurotransmissão dopaminérgica por parte do óleo. É importante enfatizar que o corpo estriado é uma das áreas cerebrais mais envolvidas na fisiopatologia da esquizofrenia.

Para reforçar os achados relacionados aos efeitos antipsicóticos do OEAZ seus efeitos foram investigados em outro modelo farmacológico para o estudo da esquizofrenia, a hiperlocomoção induzida por Cetamina (CET).

A esquizofrenia é um transtorno psiquiátrico devastador que acomete aproximadamente 1% da população ao longo da vida. Os indivíduos geralmente são acometidos no auge do seu potencial produtivo e o curso da doença é crônico e debilitante. Apesar dos progressos no tratamento da esquizofrenia, como a introdução de antipsicóticos atípicos, as medicações continuam sendo bastante limitadas na sua eficácia clínica (RICE D.P., 1999). Apesar de inúmeros achados científicos demonstrarem uma disfunção dopaminérgica na esquizofrenia, uma série de evidências indica que outros sistemas neuroreceptores estão envolvidos na fisiopatologia do transtorno. Estudos têm sugerido que os receptores glutamatérgicos tipo N-methyl- D-aspartato (NMDA) estão envolvidos na fisiopatologia da esquizofrenia e podem ser alvo de tratamentos psicofarmacológicos (DEAKIN, et al 1997; 1989).

Os receptores NMDA são canais iônicos formados por diferentes proteínas heteroméricas chamadas subunidades: NMDA R1 (isoforms A-G) e NMDA R2 (isoforms A-D). Diferentes combinações de subunidades determinam especificidades na capacidade funcional de cada receptor. Os receptores NMDA controlam a condutância de Na⁺, K⁺ e em especial em última instância do Ca²⁺ através da membrana neuronal (DINGLELINE, R., 1999).

Dentre os modelos farmacológicos da esquizofrenia, o modelo de hipofunção do receptor NMDA é o que produz quadros psicóticos que mais se assemelham à

esquizofrenia. Tal como os modelos de psicose induzida por antagonistas NMDA como a CET induzem sintomas positivos (ex: delírios e alucinações) em voluntários sadios. Além destes sintomas, os antagonistas NMDA induzem uma série de sintomas que são típicos da esquizofrenia, tais como sintomas negativos (ex: embotamento afetivo, retraimento emocional e pensamento estereotipado), transtorno do pensamento (ex: circunstancialidade, desagregação do pensamento) e déficits neuropsicológicos similares aos observados na esquizofrenia (KRYSTAL, 1994; NEWCOMER, 1999).

Nossos dados mostraram que os animais tratados com CET (20 mg / kg, i.p) apresentaram aumento da atividade locomotora, enquanto que o antagonista dopaminérgico haloperidol diminuiu a atividade locomotora dos animais. Estes achados são corroborados pelos trabalhos de Andrade et al., 2004; Malveira et al., 2004 e mostram o valor preditivo deste teste.

O OEAZ na dose de 100mg/kg reduziu a atividade locomotora provocada pela CET, esses dados podem ser explicados como decorrentes do bloqueio de receptores dopaminérgicos. A DA está intimamente relacionada à função motora e os aumentos de seus níveis já foram relacionados ao incremento da atividade locomotora no teste de Campo Aberto (BUNNEY e COLS., 1978; BERNARDI e COLS., 1981, DELFS E KELLEY, 1990; LE MOAL, 1995).

Foi observado que mecanismos de estresse oxidativo têm sido implicados na patogênese dos transtornos psiquiátricos. Devido a associação do EO e a fisiopatologia da depressão o papel anti-oxidante nas reações terapêuticas dos antidepressivos tem sido relativamente compreensível.

O estresse oxidativo é um importante processo que vem sendo relatado na patogênese de algumas condições que afetam o sistema nervoso central (SNC), como é o caso das doenças neurodegenerativas, tipo epilepsia e demência. Este fato torna-se facilmente compreensível, visto que o SNC é altamente sensível ao estresse oxidativo, em face do alto consumo de oxigênio; do alto conteúdo lipídico, principalmente de ácidos graxos poliinsaturados, dos altos níveis de ferro e da baixa defesa antioxidante (HALLIWELL, 2006; VALKO et al., 2007).

O estresse oxidativo (EO) define um desequilíbrio entre a formação de espécies reativas do oxigênio (ROS) e os mecanismos de defesa antioxidante (Sies, 1997).

Segundo Cregan., et al (2002) nas desordens psiquiátricas relacionadas ao estresse, o EO desencadeia ou exacerba várias rotas do dano, como disfunção mitocondrial, desregulação da homeostasia do cálcio, alterações de rotas energéticas, dano aos precursores neuronais, inibição da neurogênese e indução dos eventos sinalizadores de apoptose.

Efeitos antioxidantes estabelecidos por antipsicóticos forneceram evidências indiretas para mecanismos fisiopatológicos da esquizofrenia. Anormalidades em níveis de antioxidantes e produtos de oxidação foram suprimidos ao longo do tratamento com antipsicóticos atípicos, coincidindo com melhora sintomática (DAKHALE et al, 2004; ZHANG et al, 2003).

Os radicais livres precursores do EO, são moléculas altamente reativas formadas a partir de transferência de elétrons, que podem reagir e formar uma outra série de espécies reativas como as Espécies Reativas do Oxigênio (ERO) e, se não neutralizadas, podem levar ao estresse oxidativo. Os radicais livres incluem as ERO como: oxigênio singlete (O_2), ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila ($\bullet OH$), Radical peróxido (ROO). Além desses existem também radicais livres como o óxido nítrico (ON) que ao reagir com o ânion superóxido gera peroxinitrito ($ONOO^-$). A produção de ON é catalisada pela enzima óxido nítrico sintase (NOS), a qual possui três diferentes isoformas: neuronal (nNOS), indizível (iNOS) e endotelial (eNOS).

A concentração das substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico e do nitrito foram parâmetros avaliados de atividade anti-oxidante.

O ON é um radical livre por causa de seu elétron desemparelhado. Porque os radicais do ON não podem produzir reações de iniciação ou de propagação, que não geram reações em cadeia radical livre. No entanto, o ON é uma molécula mensageira que medeia uma série de funções celulares, incluindo neurotransmissão, neurotoxicidade e plasticidade, a vasodilatação, regulação do fluxo sanguíneo e inibição da agregação plaquetária (MONCADA et al, 1991;. BREDT e SNYDER 1992; IGNARRO et al., 1999; KRUKOFF 1999).

Elevada produção de ON tem sido associada a diversas doenças neurodegenerativas, incluindo a doença de Alzheimer (NORRIS et al 1996; THORNS et al 1998), esclerose múltipla, doença de Parkinson (BOCKELMANN ;HEALES et al 1999).

Em função destas informações o OEAZ foi estudado visando seu potencial efeito antioxidante *in vitro*. Foi avaliado sobre a peroxidação lipídica em homogenatos de tecido cerebral submetidos ao choque térmico. A peroxidação lipídica é um processo extremamente lesivo, caracterizado pela quebra dos lipídeos de membrana celular e a formação do radical peroxil (OOH•). Uma vez iniciado, este processo pode ser propagado, já que o radical peroxil formado, pode reiniciar o processo que pode ocorrer indefinidamente (FERREIRA et a., 1997). As concentrações do Nitrito foram avaliadas neste teste.

Apesar de o uso terapêutico de plantas ser tão antigo quanto a própria espécie humana, o conhecimento de suas propriedades antioxidantes é relativamente recente. Diversas técnicas têm sido utilizadas para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, de forma a permitir uma rápida seleção de substâncias e/ou misturas potencialmente interessantes, na prevenção de doenças crônico-degenerativas.

Em nossa condição experimental OEAZ foi capaz de prevenir a alteração induzida pelo estresse oxidativo em todo cérebro, sugerindo que esse efeito também pode contribuir para seus efeitos benéficos em modelos animais de esquizofrenia. É importante mencionar que o OEAZ não aumentam o índice de nitrito, só o trouxe para níveis normais (níveis de controle negativo). Quanto aos níveis de MDA reduzidos, contribuindo pra o efeito anti-oxidante do óleo.

Esta informação é corroborada por Liu. et al. (2000), ao afirmarem que uma série de compostos fitoquímicos como vitaminas, caroténiodes, terpenóides, flavonóides, linanos, fenóis e alcaloídes exibem propriedades anti-oxidantes.

7. CONCLUSÕES

Através da análise dos resultados apresentados pode-se concluir que o OEAZ apresenta efeito antipsicótico, provavelmente relacionado aos seus efeitos inibitórios sobre a neurotransmissão dopaminérgica e antioxidantes. O óleo também apresentou atividade anticonvulsivante, embora necessite de mais estudos esclarecendo o provável mecanismo envolvido nesta ação.

REFÊRENCIAS

AHLENIUS S, HILLEGAART V. Involvement of extrapyramidal motor mechanisms in the suppression of locomotor activity by antipsychotic drugs: a comparison between the effects produced by pre- and post-synaptic inhibition of dopaminergic neurotransmission. **Pharmacol Biochem Behav.** v. 24, p. 1409-15,1986.

ALMEIDA, M.Z. Plantas Mediciniais. Salvador, BA: Editora a Universidade Federal da Bahia, 2000.

ALMEIDA, E. R. Plantas medicinais Brasileiras: conhecimentos populares e científicos. São Paulo: Hermus, 1993.

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

ANDRADE, M.M.; CHAVES, B.G.; JUCÁ, N.B.H. et al. - Blockade of the antidepressant-like effects of ketamine with atypical neuroleptics. **1st Neuroscience Symposium.**

ARCHER, J., *Anim.Behav.*, 21:205-235, 1973.

ARVINDAKSHAN M, SITASAWAD S, DEBSIKDAR V, GHATE M, EVANS D, HORROBIN D.F, et al. Essential polyunsaturated fatty acid and lipid peroxide levels in never-medicated and medicated schizophrenia patients. *Biol Psychiatry* 2003 Jan 1;53(1):56-64.

BARREIROS ALBS, DAVID JM, DAVID JP. Estresse Oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *.Química Nova* [29], 113-123. 2006.

BATTISTI, J.J., SHREFFLER, C.B., URETSKY, N.J. AND WALLACE, L.J. NMDA antagonists block expression of sensitization of amphetamine- and apomorphine-induced stereotypy. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 67 :241–246, 2000.

BEAR, M.F.; CONNORS, B.W.; PARADISO, M.A. – **Neurociências, desvendando o sistema nervoso**. 2ª edição, Artes Médicas, Porto Alegre, 131 – 162, 2002.

BEN OTHMEN L, MECHRI A, FENDRI C, BOST M, CHAZOT G, GAHA L, et al. Altered antioxidant defense system in clinically stable patients with schizophrenia and their unaffected siblings. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2008 Jan 1;32(1):155-9.

BERG, M., VAN, E. D. The ethnobotany of Amazonian Market. In: **Ethnobotany in the Neotropics**. New York, New York Botanical Garden, 1984.

BERNARDI, M.M.; DE SOUZA, H.; PALERMO NETO, J. – Effects of a single and long-term haloperidol administration on open-field behavior of rats. **Psychopharmacol** 73: 171 – 175, 1981.

BIANCHI, G., LANDI, M.,. Determination of apomorphine in rat plasma and brain by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. **J. Chromatogr.** 338, 230– 235, 1985.

BOGERTS, B. - The neuropathology of schizophrenia diseases: historical aspects and present knowledge. **Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci** 249(4): 2-13, 1999.

BOTSARIS, ALEXANDROS SPYROS. **Fitoterapia chinesa e plantas brasileiras**. São Paulo, Ícone, s/d, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria no 971, de 3 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial da União**, n.84, seção 1, 19p, 2006.

BREDT, D.S.;SNYDER, S.H. Nitric oxide, a novel neuronal messenger. **Neuron**, 8:3-11, 1992.

BROWN, T.M.; STOUDEMIRE, A. - Antipsychotics in Psychiatric Side Effects of Prescription and Over-the-Counter Medications, American Psychiatric Press, Washington, D.C., pp.3-33, 1993.

BOCKELMANN, R.; WOLF, G.; RANSMAYR, G.; RIEDERER, P. NADPH-diaphorase/nitric oxide synthase containing neurons in normal and Parkinson's disease

putamen. **Journal of Neural Transmission, Parkinson's Disease and Dementia Section**, v.7, p.115-121, 1994.

BUNNEY, B.S.; GRACE, A.A. – Acute and chronic haloperidol treatment: comparison of effects on nigral dopaminergic activity. **Life Sci** 343: 783 – 787, 1978.

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

COIMBRA, R. & DINIZ, E. **Notas de fitoterapia**. Rio de Janeiro, Laboratório Silva Araújo, 1943.

CORRÊA, A.J.C.; COSTA, M.C.C.D. Estudo da atividade antimicrobiana e citotóxica de extratos brutos de *Alpinia speciosa* K. Shum. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 10., 2008, Recife. **Resumos...** Recife: Universidade Católica de Pernambuco, CD-ROM, p.25., 2008

CORREA, M.P. Dicionário das plantas úteis do Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e IBDF, v.6, p. 345, 1975.

CORREA, M.P. Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: **Imprensa Nacional**, v.1, p.483-486,1926.

COPPEN AJ, DOOGAN DP. Serotonin and its place in the pathogenesis of depression. **J Clin Psychiatry** 1988;49 Suppl: 4-11.

COSTA, M.C.C.D. et al. Avaliação da atividade citotóxica de *Acmella oleracea* (L) R.K. Jansen, *Alpinia speciosa* K. Shum e *Chenopodium ambrosioides* L. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO VALE DO SÃO FRANCISCO, 1., 2007, Petrolina. **Anais...** Petrolina: Universidade do Vale do São Francisco-UNIVASF, CD ROM, p.18,2007b.

CRAVEIRO, A.A et al. A simple and inexpensive steam generator for essential oil extractions. **J Chem Ed** 1976; 53: 652.

CRONQUIST, A. An integrated system of classification of flowering plants. **Columbia University Press**, New York, 1981.

CRUZ, G.L. **Livro verde das plantas medicinais e industriais do Brasil** 2vs., Belo Horizonte, Veloso, 1965.

DAKHALE G, KHANZODE S, KHANZODE S, SAOJI A, KHOBRAGADE L, TURANKAR A. Oxidative damage and schizophrenia: the potential benefit by atypical antipsychotics. **Neuropsychobiology**; 49, 205–209, 1994.

DAVID E. GOLAN, APRIL W. ARMSTRONG, EHRIN J. ARMSTRONG, ARMEN H. TASHJIAN. **Princípios De Farmacologia - A Base Fisiopatológica Da Farmacoterapia**. NOVA GUANABARA, 2009.

DAVIES KJ. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. **Biochemical Society Symposium** 61, 1–31, 1995.

DAVIES KJ . Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. **IUBMB Life** 50, 279–289, 2000.

DE ARAÚJO FY, SILVA MI, MOURA BA, DE OLIVEIRA GV, LEAL LK, VASCONCELOS SM, VIANA GS, DE MORAES MO, DE SOUSA FC, MACÊDO DS. Central nervous system effects of the essential oil of the leaves of *Alpinia zerumbet* in mice. **J Pharm Pharmacol**. V. 61, op. 1521-7, 2009.

DEAKIN JF, SIMPSON MD. A two-process theory of schizophrenia: evidence from studies in post- mortem brain. **J Psychiatr Res** 1997;31:277-95.

DEAKIN JF, SLATER P, SIMPSON MD, GILCHRIST AC, SKAN WJ, ROYSTON MC, et al. Frontal cortical and left temporal glutamatergic dysfunction in schizophrenia. **J Neurochem** 1989;52:1781-6.

DELFS, J.M.; KELLEY, A.E. – The role of D1 and D2 dopamine receptors in oral stereotypy induced by dopaminergic stimulation of the ventrolateral striatum. **Neurosci** 39: 59 – 67, 1990.

DELGADO P.L, PRICE L.H, HENINGER G.R, CHARNEY D.S. Neurochemistry. In: Paykel ES, editor. **Handbook of affective disorders**. 2nd ed. New York: **The Guilford Press**; p. 219-53, 1992.

DEVIENNE, K.F.;RADDI, M.S.G.; POZETTI,G.L. Das plantas medicinais aos fitoterápico. **Rev.Bras, Pl.Med.**, Botucatu, V6, N.3,p11-14, 2004.

DINGLEDINE R, BORGES K, BOWIE D, TRAYNELIS S.F. The glutamate receptor ion channels. **Pharmacol Rev**, 1999;51:7-61.

DI STASI, L.C.; HIMURA-LIMA, C.A. Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. 2.ed. ver.ampl.São Paulo: Ed. UNESP,2002.

DORTA EJ. Introdução. In: Escala Rural: especial de plantas medicinais. 1(4):1-62. São Paulo: Escala Ltda; 1998.

DUNIAU, M. C. M. Plantas Medicinais: da magia à ciência. Rio de Janeiro: Ed.Brasport; 2003.

DUNHAM, N.W., MIYA, T.S., 1957. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **Journal of American Pharmaceutical Association Science** 46, 208–212.

DRAGO F. The expression of neuropeptide-induced excessive grooming behavior in dopamine D1 and D2 receptor-deficient mice. **Eur J Pharmacol** 1999; 365: 125–131.

DSM-IV: Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais. 4ª edição. Porto Alegre,Artes Médicas, 1995.

ERNST. Herbal remedies for anxiety – a systematic review of controlled clinical trials. **Phytomedicine**. v.13, p.205-208, 2006.

ELLENBROEK, B.A., COOLS, A.R. Apomorphine susceptibility and animal models for psychopathology: genes and environment, *Behav. Genet.* 32: 349–361, 2002.

EZAAWELY, A. A.; XUAN, T. D.; TAWATA, S. Essential oils, kava pyrones and phenolics compounds from leaves and rhizomes of *Alpinia zerumbet*(Pers.) B.L. Burt & R.M. Sm and their antioxidant activity. **Food Chem.**, v. 103, p. 486-496, 2007a.

EZAAWELY, A. A.; XUAN, T. D.; TAWATA, S. Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *Alpinia zerumbet*. **Food Chem.**, v.104, p. 1648-1653, 2007b.

FINK, M. Convulsive therapy and epilepsy research. In MR Trimble and EH Reynolds (eds.) *What is epilepsy?* Churchill Livingstone, p.217-228, 1985.

FITOTERAPIA – Vademecum de prescrição – Plantas medicinales.3ª ed.,Barcelona, Espanha, Colégio Oficial de Farmaceuticos de Biskaia y Asociación Española de médicos nauristas, Ed . Masson, 1998.

FURTADO, L. G., SOUZA, R. C., BERG, M. E. Notas sobre uso terapêutico de plantas pela população cabocla de Marapanim, Pará In: **Boletim do Museu Emílio Goeldi**. Nova série, Antropologia (70), 31 de outubro, 1978.

GISPEN, W. H. & ISAACSON, R. LACTH-induced excessive grooming in the rat. **Pharm. Ther.**, **12**,p. 209-246, 1981.

GRAEFF F.G. Neuroanatomy and neurotransmitter regulation of defensive behaviors and related emotions in mammals. **Braz J. Med. Biol. Res.** 27(4): 811-829,1994.

GRAEFF F.G, VIANA MB, MORA PO. Dual role of 5-HT in defense and anxiety. **Neurosci. Biobehav. Res.**21(6):791-799, 1997.

GRAEFF FG, BRANDÃO, M.L. Neurobiologia das Doenças Mentais.4ª edição. São Paulo: Editora Lemos, p. 188, 1999.

GREEN LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. **Anal Biochem.** 126(1):131-138, 1982.

GLANTZ, L.A; GILMORE, J.H; LIEBERMAN, J.A.; JARSKOG, L.F. - Apoptotic mechanisms and the synaptic pathology of schizophrenia. **Schizophr Res** 81: 47-63, 2006.

GRUNBLATT, E., MANDEL, S., MAOR, G., YODIM, M.B. Effects of R- and S-apomorphine on MPTP-induced nigro-striatal dopamine neuronal loss. **J. Neurochem.** v.77, p.146 – 156, 2001.

GOODMAN & GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

GOFF J. As doenças têm história. 2ª ed. Lisboa: Terramar; 1997.

GOFF, D.C.; COYLE, J.T. - The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. **Am J Psychiatry** 158: 1367-1377,2001.

HALES, R. **Tratado de psiquiatria**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1992.

HALBERSTEIN R.A . Medicinal Plants: Historical and Cross-Cultural Usage Patterns. AEP, V.15, vol 686-699, 2005.

HARTMAN, A.L ET AL: “**Efficacy of the Ketogenic Diet in the 6-Hz Seizure Test**” *Epilepsia* 49(2): 334-339, 2008.

HARISSON, P.J. - The neuropathology of schizophrenia: A critical review of the data and their interpretation. **Brain** 122: 593-624, 1999.

HALLIWELL, B. Free radicals and other reactive species in disease. In: **Encyclopedia of Life ciences**.Nature Publishing Group, p. 1-7. 2001.

HERSHKO C. Mechanism of iron toxicity and its possible role in red cell membrane damage. **Semin Hematol**; 26: 277-85, 1989.

HEALES, S.J.R.; BOLANOS, J.P; STEWART, V.C.; BROOKES, P.S.; LAND, J.M.; CLARK, J.B. Nitric oxide, mitochondria and neurological disease. **Biochimica et Biophysica Ada**, 1410, p. 215-228, 1999.

HERKEN H, UZ E, OZYURT H, SOGUT S, VIRIT O, AKYOL O. Evidence that the activities of erythrocyte free radical scavenging enzymes and the products of lipid peroxidation are increased in different forms of schizophrenia. **Mol Psychiatry** Jan;6(1):66-73, 2001

HSU, S. Y. Antiulcer effects of the constituents of *Alpinia spenciosa* rhizome: effects of dihydro-5-6-dehydrokawain and 5,6-dehydrokawain ongastric secreti. **Kuoli Chung-kuo I Yao Yen Chui Pao Kao**, p. 131-145,1982.

HSU, S. Y. Effects of the constituents of *Alpinia spenciosa* rhizome on experimental ulcers. **Twain I HSUCH-Hui- Tsa- Chih**, v. 86, p. 58-64, 1987.

IGNARRO, L.J.; CIRINO, G.; CASINI, A.; NAPOLI, C. Nitric oxide as a signaling molecule in the vascular system: An overview. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v.34p. 879-886, 1999.

ITOKAWA, H.; MORITA, H., WATANABLE, K.; MIHASHI, S.; IITOKA, Y. Isolation of agarofuran-type sesquiterpenes from *Alpinia japonica* (Thunb) Miq. **Chem.Pharm. Bull.** v. 28, n.2,p.681-682, 1980a.

ITOKAWA, H.; MORITA, H., OSAWA, K.; WATANABLE, Z.; IITOKA, Y., Novel guiane-and secoguiane-type sesquiterpenes from *Alpinia japonica* (thumb) Miq. **Chem.Pharm. Bull**, v.35, n.7, p.2860-2868, 1987b.

JANSSEN, A.M. & SCHEFFER, J.J.C. Acetoxychavicol acetate, an antifungal component of *Alpinia galangal*. **Planta Med.**, v.6, p.507-11, 1985.

JAREMA M. **Herbal drug treatment.** Neuro Endocrinol Lett. Nov 23;29(Suppl1),2008.

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

KAHN, R.S.; DAVIS, K.L. - New developments in dopamine and schizophrenia. In: Bloom, F.E.; Kupfer, D.J. *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress.* New York: **Raven Press.** pp. 1193-201, 1995.

KAPLAN HI, SADOCK BJ (eds). *Tratado de Psiquiatria*, 6ª edição, volume 1. Porto Alegre, Artes Médicas, 1999.

KAPUR, S.; SEEMAN, P. - Does fast dissociation from the dopamine D2 receptor explain the action of atypical antipsychotics? A new hypothesis. *Am J Psychiatry* 158: 360-369, 2001.

KEEF, K.D. & ROSS, G. Rhythmic coronary arterial contractions: changes with time and membrane potential. **Am. J. Physiol.**, v. 250, p.524-529,1986.

KIMURA, Y.; TAKIDO, M.; NAKANO, K.; TAKISHITA, M. **J. Pharm. Soc. Japan.**, v.86, p.1184, 1966.

KNABLE, M.B.; WEINBERGER, D.R. - Dopamine, the pre-frontal cortex and schizophrenia. **J Psychopharmacol** 11: 123-236, 1997.

KRESS, W. J.; PRINCE, L. M. & WILLIAMS, K. J. The phylogeny and a new classification of the gingers (Zingiberaceae): evidence from molecular data. *American Journal of Botany*. v. 89, p. 1682-1696, 2002.

KUMAR V. **Potential medicinal plants for CNS disorders: an overview**. *Phytother Res*. Dec;20:1023-35, 2006.

KRUKOFF, T.L. Central actions of nitric oxide in regulation of autonomic functions. *Brain Research: Brain Research Reviews*,v. 30,p. 52-65, 1999.

KRYSTAL J.H, KARPER L.P, SEIBYL J.P, FREEMAN G.K, DELANEY R, BREMNER J.D, et al. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. **Arch Gen Psychiatry** 1994;51:199-214.

LARA, D.R.; BRUNSTEIN, M.G.; GHISOLFI, E.S.; LOBATO, M.I.; BELMONTE_DE ABREU, P.; SOUZA, D.O. - Allopurinol augmentation for poorly responsive schizophrenia. **Int Clin Psychopharmacol** 4: 53-55, 2001.

LARA, D.R.; DALL'IGNA, O.P.; GHISOLFI, E.S.; BRUNSTEIN, M.G. - Involvement of adenosine in the neurobiology of schizophrenia and its therapeutic implications. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** 30: 617-629, 2006.

LARANJA, S.M.R.; BERGAMASCHI, C.M.; SCHOR, N. Avaliação de três plantas com potencial diurético. **Revista Associação Médica Brasileira**, v.38, n.1, p.13-6, 1992.

LARANJA, S.M.R.; BERGAMASCHI, C.M.; SCHOR, N. Evaluation of acute administration of natural products with potential diuretic effects, in humans. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.86, p.237-40, 1991.

LE MOAL, M. – Mesocorticolimbic dopaminergic neurons. In: BLOOM, F.E.; KUPFER, D.J. (ed.) – **Psychopharmacology: The fourth generation of progress**. Raven Press, New York: 283 – 294, 1995.

LEE, C. PARK, K.; LEE, J.M.; CHUN, K.S.; KANG, J.Y.; LEE, S.S; SURH, Y.J. Suppression of mouse skin tumor promotion and induction of apoptosis in HL-60 cells by *Alpinia oxiphylla* Miquel (Zingiberaceae). **Carcinogenesis**. V.19, n.8, p.1377-1381, 1998.

LEDOUX, J.E. The Emotional Brain, Fear, and the Amygdala, Cellular and Molecular Neurobiology, Vol. 23, Nos. 4/5, 2003.

LENT, ROBERT. Cem Bilhões de Neurônios – Conceitos Fundamentais de Neurociências, Editora Atheneu. 651-668, Edição 2004.

LYKETSOS C. Lessons from neuropsychiatry. **J Neuropsychiatry Clin Neurosci** **18:445–449**, 2006.

LISTER RG. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Sycopharmacology** .,92:180–5., 1987.

LOPEZ, M. & LLINAS, H. & SUARES, G.E. **Medicina tradicional dominicana (Una contribución a su estudio) Universidad Nacional Pedro Henriquez Ureña**, Santo Domingo, D.N., Rep. Dominicana, Ed. Técnico Profesional, 1992.

LUZ, A. I. R.; ZOGHBI, M.G.B.; RAMOS, L.S.; MAIA, J.G.S.; SILVA, M.L. Essential oils of some Amazonian Zingiberaceae, 3 genera *Alpinia* and *Rengalmia*. **J. Nat. Prod.**, v. 47, n.5, p.907-908, 1984.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 3.ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2001. 1067p.

MACEDO, M. B. S. et al. Efficacy of Electroconvulsive Therapy in Treatment-resistant Bipolar Disorder: A Case Series. **Journal of ECT**, submitted, 2004.

MACHADO, L.D. *Alpinia*. **Rev. Natureza**, v.101, n.5, p.39-42, 1996.

MCGARRY H, PIROTTA M, HEGARTY K, GUNN J. General practitioners and St. John's Wort: a question of regulation or knowledge? **Complement Ther Med**, v. 15p. 142-8, 2007.

MALVEIRA, G.C.H.; SOUSA, F.B.M.; VASCONCELOS, S.M.M. et al. -Effect of typical and atypical neuroleptics on ketamineinduced behavioral alterations in open field test. **1st Neuroscience Symposium**. Natal-Brasil, 2004.

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

MAREN, S. Neurobiology of Pavlovian fear conditioning, *Annu. Rev. Neurosci.* 24:897–931,2001.

MARTINS, L.G.S.; SENNA-VALLE, L.; PEREIRA, N.A. Princípios ativos e atividades farmacológicas de 8 plantas popularmente conhecidas por nome de medicamentos comerciais. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.7, n.2, p.73-76, 2005.

MASSAQUOI, S.G.; HALLETT, M. Ataxia and other cerebellar syndromes. In: Jankovic J, Tolosa E, editors. **Parkinson disease and movement disorders**. Baltimore: Willians & Wilkins, 1998.

MATOS, F. J. A. **Formulário fitoterápico do Prof. Dias da Rocha**. 5.ed(coleção ESAM, v.18, s.1)., p. 205, 1987.

MATOS, F.J.A. **Farmácias vivas**:sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. 2.ed. rev. e atual. Fortaleza: Edições- UFC, p. 179, 1996.

MATOS, F.J.A. & CAVALCANTI, F.S. & QUEIROZ, M.F.F.B. **Plantas da medicina popular do Ceará selecionadas pela maior frequência de seu uso**. In: VIII Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil. Manaus AM, INPA, Universidade do Amazonas,1984.

MELLER, C.A., HENRIQUES, J.A., SCHWARTSMANN, G., ROESLER, R. The bombesin/gastrin releasing peptide receptor antagonist RC-3095 blocks apomorphine but not MK-801-induced stereotypy in mice, *Peptides* 25: 585–588, 2004.

MELLO FILHO AC, HOFFMAN ME, MENEGHINI R. Cell killing and DNA damage by hydrogen peroxide are mediated by intracellular iron. **Biochem J**; 218: 273-5, 1983.

MENDONÇA, V.L.M. et al. Pharmacological and toxicological evaluation of *Alpinia speciosa*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.86, p.93-7, 1991.

MIRANDA, PEDRO. Segredos e Virtudes das Plantas Mediciniais. Internet. 1998

URL: <http://www.winbr.com/abc/medicina.htm>. Acesso em 15/08/2010.

MIYOSHI KOHO; MORIMURA YASUSHI. **Neuropsychiatric Disorders**. Hardcover. XIV, p. 368, 2010.

MIYAMOTO, S; DUNCAN, GE; GOFF, DC; LIEBERMAN, JA – Therapeutics of Schizophrenia. In: DAVIS, KL; CHARNEY, D; COYLE, JT; NEMEROFF, C (ed.) – Neuropsychopharmacology: The Fifth generation of Progress. **Raven Press**, Ltd. New York: 775 – 809, 2003.

MORENO, R. A. et al. Diagnóstico, tratamento e prevenção da mania e da hipomania no transtorno bipolar. **Revista de psiquiatria clínica**. São Paulo, v. 32, suppl.1, p. 39-48, 2005.

MONCADA, S., PALMER, R. M. J. & HIGGS, E. A. **Pharmacol.Rev**, v. 43,p. 109-142, 1991.

MURAKAMI S, MATSUURA M, SATOU T, HAYASHI S, KOIKE K. Effects of the essential oil from leaves of *Alpinia zerumbet* on behavioral alterations in mice. **Nat Prod Commun**. v. 4, p. 129-32, 2009.

MURRAY C.J.L, LOPEZ A.D. Alternative Projections of Mortality and Disability by Cause 1990-2020:Global Burden of Disease Study. *Lancet*; 349;14981504.

NEPOMUCENO, R. Viagem ao fabuloso mundo das especiarias. 4.ed. Rio de Janeiro:Ed. José Olympio, 2005.

NESTLER E.J, BARROT M, DILEONE R.J, EISCH A.J, GOLD S.J, MONTEGGIA L.M. Neurobiology of depression. **Neuron**; 34: p.13-25, 2002.

NEWCOMER J.W, FARBER N.B, JEVTOVIC-TODOROVIC V, SELKE G, MELSON A.K, HERSHEY T, et al. Ketamine-induced NMDA receptor hypofunction as a model of memory impairment and psychosis. **Neuropsychopharmacol**, v.20, p.106-18, 1999.

NORIAKI HIDAHA, KATSUYA SUEMARU, HIROAKI ARAKI. Serotonin-dopamine antagonism ameliorates impairments of spontaneous alternation and locomotor hyperactivity induced by repeated electroconvulsive seizures in rats. **Epilepsy Research**, v. 90,p.221-227, 2010.

OLFERT E.D et al. eds. Guide to the Care and Use of Experimental Animals, volume 1, 2nd edn. Canadian Council on Animal Care: 1993.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE / UNICEF. *Cuidados Primários em Saúde*. Relatório da Conferência Internacional sobre Cuidados Primários da Saúde, Alma-Ata, URSS, 6 a 12 de setembro de 1978. Brasília: Ministério da Saúde, 1979. 64 p.

ORMEL, J. & VON KORFF, M. – Synchrony of Change in Depression and Disability. **Arch Gen Psychiatry** 57:37580,2000.

PÁEZ-PEREDA M. New drug targets in the signaling pathways activated by antidepressants. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 29: p.1010-6, 2005.

PARKY, D.C. Great moments in pharmacy. Detroit: Northwood Institute Press, 1966.

PATHAK S, WANJARI M.M, JAIN S.K, TRIPATHI M. Evaluation of antiseizure activity of essential oil from roots of *Angelica archangelica* Linn. in mice. **Indian J Pharm Sci** 2010;72:371-5.

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

PENG W.H, LO K.L , LEE Y.H , HUNG T.H , LIN Y.C. Berberine produces antidepressant-like effects in the forced swim test and in the tail suspension test in mice. **Life Sci** ; v.81, p. 933-8, 2007.

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

PICADA, J.N., HENRIQUES, J.A., ROESLER, R. An oxidized form of apomorphine fails to induce stereotypy. **Schizophr. Res.** 63:199–200, 2003.

PINTO CA, SILVA DHS, BOLZANI US, LOPES NP, EPIFÂNIO RA. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Quim. Nova** , Mar-Abr; 25(1 supl.):45-61,2002.

PORSOLT R D. BERTIN A & JALFRE M. Behavioural despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.** 229:327-36, 1977.

POSSE, J.C. Plantas medicinais utilizadas pelos usuários do SUS nos bairros de Paqueta e Santa Teresa: uma abordagem etnobotânica/ Juliana Costa Posse.- Rio de Janeiro: UFRJ/Faculdade de Farmácia, 2007.

POTTER WZ, MANJI HK. Are monoamine metabolites in cerebrospinal fluid worth measuring? **Arch Gen Psychiatry** ;49:653-56, 1993.

PLOSKI, J.E. et al: "**Electroconvulsive Seizure-Induced Gene Expression Profile of the Hippocampus Dentate Gyrus Granule Cell Layer**" *J.Neurochemistry* 99 (4): 1122-1132, 2006.

PRUDENTE, D.; PERINEAU, F.; BESSIERE, J. M.; MICHEL, G.; BRAVO, R. Chemical analysis, bacteriostatic and fungistatic properties of the essential oil of the atouman from Martinique (*Alpinia spenciosa* K. Schum). **J. of Essent, Oil Res.**, v.5, n.3, p.255-264, 1993.

PSICOSE. In **Infopédia** [Em linha]. Porto: Porto Editora, 2003-2011. [Consult. 2011-01-07]. Disponível na www: <URL: [http://www.infopedia.pt/\\$psicose](http://www.infopedia.pt/$psicose)>.

RABBANI, M. et al. Anti-Brucella antibodies in blood donors in Boushehr, IRAN. *Com Clin Pathol*, 2007.

RANDRUP, I. MUNKVAD. Pharmacology and physiology of stereotyped behavior. **J. Psychiatr. Res.** v.11 p.1-10, 1974.

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

REDDY R, KESHAVAN M, YAO JK. Reduced plasma antioxidants in first-episode patients with schizophrenia. **Schizophr Res** 2003 Aug 1;62(3):205-12.

RICE DP. The economic impact of schizophrenia. **J Clin Psychiatry** ,60(1):4-6, 1999.

RIDLEY, R.M., 1994. The psychology of perseverative and stereotyped behaviour. **Prog. Neurobiol.** 44, 221–231.

RODRÍGUEZ-LANDA J.F, CONTRERAS CM. A review of clinical and experimental observations about antidepressant actions and side effects produced by *Hypericum perforatum* extracts. **Phytomedicine**, v.10, p. 688-99, 2003.

ROLLAND A, FLEURENTIN J, LANHERS MC, YOUNOS C, MISSLIN R, MORTIER F, et al. Behavioural effects of the American traditional plant *Eschscholzia californica*: sedative and anxiolytic properties. **Planta Med** 1991;57:212–6.

ROSS D, MOLDEUS P. Antioxidant defense systems and oxidative stress. In Vigo-Pelfrey C (ed): *Membrane lipid oxidation*. 1th ed. Boca Raton, **CRC Press**; p.151-70, 1991.

RUSTAY, N.R.; WAHLSTEN, D.; CRABBE, J.C. Influence of task parameters on rotar performance and sensitivity to ethanol in mice. **Behav. Brain Res**, v.141, p. 237-249, 2003.

SAKAKIBARA H, ISHIDA K, GRUNDMANN O, NAKAJIMA JI, SEO S, BUTTERWECK V, MINAMI Y, SAITO S, KAWAI Y, NAKAYA Y, TERAO J. Antidepressant effect of extracts from *Ginkgo biloba* leaves in behavioral models. **Biol Pharm Bull**,v.29,p.1767-70, 2006.

SANTANA, A.P.M. Avaliação da segurança e genotoxicidade do chá de *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burtt & Smith em voluntários sadios. 156f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Ceará., 2009.

SATOU T, MURAKAMI S, MATSUURA M, HAYASHI S, KOIKE K. Anxiolytic effect and tissue distribution of inhaled *Alpinia zerumbet* essential oil in mice. **Nat Prod Commun.** V. 5, p. 143-6, 2010.

SAYYAH M;VALIZADEH J; KAMALINEJAD M. Anticonvulsant activity and chemical composition of artemisia dracunculus l. Essential oil. **J Ethnopharmacol.** 2004 OCT;94(2-3):283-7.

SAYYAH M;VALIZADEH J; KAMALINEJAD M. ANTICONVULSANT ACTIVITY OF THE LEAF ESSENTIAL OIL OF LAURUS NOBILIS AGAINST PENTYLENETETRAZOLE- AND MAXIMAL ELECTROSHOCK-INDUCED SEIZURES. **Phytomedicine.** 2002 APR;9(3):212-6.

SEEMAN, P.; KO, F.; TALLERICO, T. - Dopamine receptor contribution to the action of PCP, LSD and ketamine psychotomimetics. **Mol Psychiatry** 26: *as supplied by publisher*, 2005.

STAHL, A.M. *Psicofarmacologia – Base Neurocientífica e Aplicações Práticas*. 2. ed. Rio de janeiro : MEDSI,2002.

SCHAUENBER, P., PARIS, F. **Guia de lãs plantas medicinales** 4^a ed., Barcelona, Omega, 1980.

SCHLICKER E., FINK K., DETZNER M., GOTHERT M. Histamine inhibits dopamine release in the mouse striatum via presynaptic H3-receptors. **J. Neural Transm.** 93 1–10, (1993).

SCHILDKRAUT JJ. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **Am J Psychiatry**;122:509-20, 1965.

SHAN X, AW TY, JONES DP. Glutathione-dependent protection against oxidative injury. **Pharmacol Ther** ; 47: 61-71, 1990.

SIEGEL, P.S., **Psychol.**,21:227, 1946.

SIES H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Experimental Physiology.** 82, 291–295, 1997.

SILVA, Penildon. *Farmacologia*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

SMITH, S.E., SHARP, T. Evidence that the enhancement of dopamine function by repeated electroconvulsive shock requires concomitant activation of D1-like and D2-like dopamine receptors. **Psychopharmacology**, v.133, p.77- 84, 1997.

SOUSA, C. M.; SILVA H. R. E.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova** 30: 351-355, 2007.

SRIVASTAVA N, BARTHWAL MK, DALAL PK, AGARWAL AK, NAG D, SRIMAL RC, et al. Nitrite content and antioxidant enzyme levels in the blood of schizophrenia patients. *Psychopharmacology (Berl)* 2001 Nov;158(2):140-5.

STHELE, H.; STHELE, M. **Flore agronomique des Antilles Française: Le Chevalier. Basse- terre. V.IX, p. 124-125, v.X, p. 50-51, 1958.**

STERU L, CHERMAT R, THIERRY B, SIMON P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 85, p.367-70, 1987.

SWINYARD, E.A., BROWN, W.C.& GOODMAN, L.S., **J. Pharmacol. Exp.Ther.**, 106:319, 1952.

TANDON, R. - Cholinergic aspects of schizophrenia. **Br J Psychiatry** (suppl 37): 7-11, 1999.

TAYLOR S, STEIN M.B. The future of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) in psychiatric treatment. *Med Hypotheses.*; v .66, p. 14-21, 2005.

TAVARES, W. Introdução aos estudos dos antimicrobianos. 2 ed. São Paulo: Atheneu, p. 3-13, 1996.

TAKAHASHI K. et al: "Expression of Ndr2 in the Rat Frontal Cortex After Antidepressant and Electroconvulsive Treatment" **Int. J. Neuropsychopharm.** V.8, p.381-389, 2005.

TSAI, G.; COYLE, J. T. – Glutamatergic Mechanisms in Schizophrenia. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.** 42: 165 – 179, 2002).

TAWATA, S. et al. Syntheses and biological activities of dihydro-5,6-dehydrokawain derivatives. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v.60, n.10, p.1643-5,1996a.

TAWATA, S. et al. Synthesis and fungicidal activity of new thiophosphorylated monoterpenoids and related compounds. **Journal of Pesticide Science**, v.21, n.2,p.141-146, 1996b.

THOMPSON, R.C. Reports of The Magicians And Astrologers of Nineveh and Babylon in the British Museum . **Pr Ams Inc**, 1970.

TREIT D, MENARD J, ROYAN C. **Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze**, *Pharmacol. Biochem. Behav.* v.44, p.463-469, 1993.

VALKO M; LEIBFRITZ D; MONCOL J; CRONIN M.T.; MAZUR M.; TELSER J . Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 39, 44–84, 2007.

VICTÓRIO CP, ALVIANO DS, ALVIANO CS, LAGE CLS. Chemical composition of the fractions of leaf oil of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt & R.M. Sm. and antimicrobial activity. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, p. 697-701, 2009.

WATTIEZ, N.; STERNON, F. **Elements de chimie vegetale**. 2.ed. Paris: Masson et Cie, 1942. 844p.

WAHLUND, B.; ROSEN D. ECT of major depressed patients in relation to biological and clinical variables: a brief overview. **Neuropsychopharmacology**. v. 28, Suppl 1 S21-6, Jul. 2003.

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

WANG R, XU Y, WU H.L, LI Y.B, LI Y.H, GUO J.B, LI X.J. The antidepressant effects of curcumin in the forced swimming test involve 5-HT1 and 5-HT2 receptors. **Eur J Pharmacol**, v. 578, p.43-50, 2008.

WEINER I.B. Early Identification of Schizophrenia. **Adolesc Med** 9(2):391-402, 1998.

WONG, C.H.A.; VAN TOL, H.H.M. - Schizophrenia: from phenomenology to neurobiology. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews** 27: 269 – 306, 2003.

WORLD HEALTH ASSOCIATION. The ICD-10 Clasification of Mental and Behavioural Disorders. Clinical descriptions and diagnostic guidelines. **Geneva: World Health Organization**; 1992.

YAO J.K, REDDY R, VAN KAMMEN D.P. Reduced level of plasma antioxidant uric acid in schizophrenia. **Psychiatry Res** 1998 Jul 27;80(1):29-39.

YOSHIDA, K., HIGUCHI, H., KAMATA, M., YOSHIMOTO, M., SHIMIZU, T., HISHIKAWA, Y. Dopamine releasing response in rat striatum to single and repeated electroconvulsive shock treatment. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, v.21, p.707-715, 1997.

ZHANG Z. Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders. **Life Sci** ,v. 75p.1659-99, 2004.

ZHANG Y.Z, LI Y.F, YU N.J, YUAN L, ZHAO Y.M, XIAO W.B, LUO Z.P. Antidepressant-like effects of the ethanolic extract of *Xiaobuxin-Tang*, a traditional Chinese herbal prescription in animal models of depression. **Chin Med J** ,v.120, p.1792-6, 2007.

ZOGHBI, M.G.B. et al. Volatile constituents from leaves and flowers of *Alpinia speciosa* K. Schum. and *A. pupurata* (Viell.) Schum. **Flavour and Fragrance Journal**, v.14, n.6, p.411-4, 1999.

ANEXO