

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

PATRÍCIA FREIRE DE VASCONCELOS

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS FARMACOLÓGICOS DE (-)- MENTOL EM
MODELOS COMPORTAMENTAIS E DE GASTROPROTEÇÃO EM
CAMUNDONGOS**

FORTALEZA

2009

PATRÍCIA FREIRE DE VASCONCELOS

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS FARMACOLÓGICOS DE (-)- MENTOL EM
MODELOS COMPORTAMENTAIS E DE GASTROPROTEÇÃO 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.

Orientador (a):
Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa

FORTALEZA

2009

V448a Vasconcelos, Patrícia Freire de

Avaliação dos efeitos farmacológicos de (-) – mentol em modelos comportamentais e de gastroproteção em camundongos / Patrícia Freire de Vasconcelos. – Fortaleza, 2009.

140f. : il.

Orientadora: Prof^a. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

1. Menta Piperita 2. Mentol 3. Dopamina 4. Úlcera Gástrica I. Sousa, Francisca Cléa Florenço de (Orient.) II. Título.

CDD: 615.78

PATRÍCIA FREIRE DE VASCONCELOS

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS FARMACOLÓGICOS DE (-)- MENTOL EM
MODELOS COMPORTAMENTAIS E DE GASTROPROTEÇÃO 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.

Aprovada em ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Silvânea Maria Mendes de Vasconcelos
Universidade Federal do Ceará

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

Ao Deus todo poderoso, por permitir que eu vivencie tudo isso.

Aos meus pais Marleide e Magno por perseverar e sempre seguirem adiante, dando-me tudo que era possível dentro de suas possibilidades.

Aos meus irmãos por sempre acreditarem em mim.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A **Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa**, por ter me recebido neste laboratório e sempre se fazer tão presente na minha vida, desde a graduação, acreditando e me ajudando a desenvolver minhas potencialidades. Foi com você que despertei meu gosto pela Farmacologia e minha vontade de ministrar aulas para graduação. Admiro-te bastante.

A **Profa. Dra. Glauce Socorro de Barros Viana**, pelo grande empenho em manter, juntamente com os outros professores desse laboratório, a chama da pesquisa. Obrigada pelo auxílio no andamento das pesquisas.

Ao Laboratório de Fisiologia da Universidade Federal de Sergipe, nas pessoas do **Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa**, que gentilmente nos cedeu a substância e que muito colaborou para a realização deste estudo.

Aos professores, **Profa. Dra. Silvânea Maria Mendes de Vasconcelos e Prof. Dr. Otoni**, por terem gentilmente aceito o convite para participar da Banca Examinadora da minha dissertação.

Aos professores do curso de pós-graduação em Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, em especial, , **Profa. Dra. Geanne Matos, Prof. Dr. Vietla Rao, Profa. Dra. Flávia Almeida, Profa. Dra. Elizabete Moraes, Profa. Dra. Helena Serra Azul Monteiro, Prof. Dr. Marcellus Henrique Loiola Pontes de Souza e Prof. Dra. Danielle Macêdo**, pelos conhecimentos transmitidos e dedicação permanente aos alunos e ao programa de pós-graduação.

À minha grande AMIGA, Maria Izabel Gomes Silva, por estar tão presente nos momentos bons e nos difíceis. Amiga imprescindível e sempre tão companheira! Amiga que sempre acreditou em mim e me ajudou!!! Obrigada AMIGA pela força incondicional.

Aos amigos de pós-graduação, **Caroline Leite, Fernando Luiz, Carla Thyciane, Aline Albuquerque, Patrícia Gomes, Jéferson, Lissiana, Nayrton, Edith, Charliane, Juliana, Maria do Carmo, Emiliano e Helvira** pela amizade, cooperação e apoio recebido.

Aos estudantes de iniciação científica do LNF, em especial, ao **Rufino, Brinell e Alyne Mara** pela amizade e pela dedicação na execução dos experimentos.

A **Vilani**, técnica do Laboratório de Neurofarmacologia, pela presença alegre e animadora no laboratório. Além de sua vigilância para manter tudo sempre em ordem!

Aos demais integrantes do Laboratório de Neurofarmacologia pela amizade prestada e também pela dedicação.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, **Aura, Márcia, Chiquinho, Edmílson, Haroldo, Fernando, Íris, Joana, Marta e Mônica**, pela dedicação ao trabalho.

Ao meu avô, **Francisco Moura de Vasconcelos** (*in memorium*) que certamente está orgulhoso por este momento e gostaria de estar presente, mas Deus preferiu que estivesse ao seu lado.

À minha família pelo apoio e incentivo desde o início da profissão.

Aos colegas do Hospital de Messejana, nas pessoas da **Dra. Mazé Marques e Dra. Cristina**, por acreditarem no meu potencial como enfermeira.

Aos amigos do C.S.F. Floresta **Aline Carvalho, Adriana Oliveira, Magna Geane, Hadson Sidor e Ricardo Ayres de Moura** pelo apoio e amizade.

À amiga **Isis Freire** por ter me ajudado em tantos momentos e me auxiliou para dar início como professora. Você é uma amiga necessária! Obrigada pelos momentos maravilhosos e por estar sempre presente em todos eles.

Às minhas amigas de profissão, **Patrícia Helena, Emília Mourão e Daniele Freitas**, por se fazerem presentes na difícil caminhada que é ser Enfermeira!!!

Enfim, AGRADEÇO a todos que contribuíram de maneira direta ou indiretamente para a realização deste sonho!!OBRIGADA!!!!!!!!!!

“Nossas dúvidas são traidoras e nos fazem perder o que com frequência poderíamos ganhar, por simples medo de arriscar “.

William Shakespeare

“Ai de vós, escribas e fariseus, hipócritas, porque dais o dízimo da hortelã, do endro e do caminho e tendes negligenciado os preceitos mais importantes da lei: a justiça, a misericórdia e a fé; devíeis, porém, fazer estas cousas, sem omitir aquelas! Guiaís cegos, que coais o mosquito e engolis camelo.”

(Mateus 23:23)

RESUMO

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS FARMACOLÓGICOS DE (-)- MENTOL EM MODELOS COMPORTAMENTAIS E DE GASTROPROTEÇÃO EM CAMUNDONGOS. PATRÍCIA FREIRE DE VASCONCELOS. Dissertação de Mestrado. Orientador (a): Francisca Cléa Florenço de Souza. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFC, 2009.

O mentol, constituinte majoritário da hortelã-pimenta, foi avaliado em modelos animais para investigar sua atividade no sistema nervoso central através de modelos experimentais animais para depressão, ansiedade, sedação e convulsão, tais como, nado forçado (NF), suspensão da cauda (SC), campo aberto, labirinto em cruz elevado (LCE), rota rod, tempo de sono induzido por pentobarbital e convulsão induzida por pentilenotetrazol. Dos efeitos comportamentais também foi avaliado o papel da gastroproteção, o qual buscou-se investigar os mecanismos de ação envolvidos, já que há indícios, mas poucos estudos referentes a esse efeito. (-)- Mentol foi administrado de forma aguda em todos os testes por via intraperitoneal, nas doses de 25 e 50 mg/kg, e no caso do NF também foi utilizado na dose de 10 mg/kg. Para o estudo da atividade gastroprotetora, (-)-mentol foi administrado por via oral nas doses de 100 e 200 mg/kg. A úlcera gástrica foi induzida pela administração de 0,2 ml de etanol absoluto ou indometacina (20mg/kg). Os resultados mostraram que no NF e SC, (-)-mentol apresentou efeito antiimobilidade em todas as doses. No teste do campo aberto, (-)-mentol aumentou o número de travessias nas doses de 25 e 50 mg/kg, com nenhum efeito significativo na dose de 10 mg/kg. Houve também aumento de *rearing* e diminuição de *grooming*. O mecanismo de ação de anti-imobilidade do mentol parece estar envolvido com os sistemas dopaminérgico e noradrenérgico, talvez com uma possível ativação dos receptores dopaminérgicos do tipo D₂, e noradrenérgico, provavelmente por ativação dos receptores adrenérgicos do tipo α_1 . No *rota rod*, em todas as doses, a coordenação motora dos animais não foi alterada. No LCE, (-)-mentol não houve alteração em nenhum parâmetro. No tempo de sono induzido por pentobarbital, (-)- mentol reduziu o efeito sedativo/hipnótico do pentobarbital sódico. Na convulsão induzida por pentilenotetrazol aumentou a latência de morte. A administração oral de (-)-mentol 100 e 200 mg/kg foi capaz de proteger dos danos na mucosa gástrica pelo pré-tratamento com etanol e indometacina. Administração prévia de glibenclamida (10 mg/kg, i.p.) foi capaz de reverter a gastroproteção promovido por (-)-mentol 200 mg/kg na úlcera induzida por etanol. No entanto, pré-tratamento com L-NAME (10 mg/kg, i.p.) não foi capaz de reverter efeito gastroprotetor do (-)-mentol. A dosagem de GSH gástrico mostrou que os níveis de GSH aumentaram com a administração de (-)-mentol. O presente estudo fornece evidências há uma ação psicoativa de mentol no NF e esta parece ser dependente da sua interação com os sistemas noradrenérgico (α_1) e dopaminérgico (D₂). Em conjunto, estes resultados sugerem que o mentol apresenta, provavelmente ação estimulante no SNC, e é desprovida de efeito ansiolítico e tem provável ação anticonvulsivante. A gastroproteção promovida por (-)-mentol pode estar associada à abertura dos canais K⁺ dependentes de ATP e ao aumento da quantidade de GSH.

Palavras-chave: *Mentha piperita*. (-) -Menthol. Efeito Antidepressivo. Efeito Anticonvulsivante. Gastroproteção.

ABSTRACT

ASSESSMENT OF THE EFFECTS OF (-)-MENTHOL ON BEHAVIORAL AND GASTROPROTECTIVE MODELS IN MICE. PATRICIA FREIRE DE VASCONCELOS. DISSERTATION. SUPERVISOR (A): FRANCISCA CLEA FLORENÇO DE SOUZA. DEPARTMENT OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY, UFC, 2009.

Menthol, major constituent of peppermint, has been evaluated in animal models to investigate their activity in the central nervous system through experimental animal models for depression, anxiety, sedation and convulsion, such as forced swimming (FS), tail suspension (TS), open field, elevated plus maze (EPM), rota rod, sleeping time induced by pentobarbital and pentylenetetrazol-induced convulsion. Behavioral effects was also evaluated the role of gastroprotective, seeking to investigate the mechanisms involved, since there is evidence, but few studies on this effect. (-) - Menthol was administered acutely in all tests intraperitoneally at doses of 25 and 50 mg / kg, and in the case of NF, it was also used at a dose of 10 mg / kg. To study the gastroprotective activity, (-)-menthol was administered orally at doses of 100 and 200 mg / kg. The gastric ulcer was induced by administration of 0.2 ml of absolute ethanol or indomethacin (20mg/kg). The results showed that the FS and TS, (-)-menthol showed antidepressant effect at all doses. In the open field test, (-)-menthol increased the number of crossings in doses of 25 and 50 mg / kg, with no significant effect on the dose of 10 mg / kg was not significant. There was increased rearing and decreased grooming. The mechanism of action of anti-immobility menthol seems to be involved with the dopaminergic and noradrenergic systems, perhaps with a possible activation of the dopamine D₂ and noradrenergic, likely by activation of adrenergic receptors of type α_1 . The rota rod, at all doses, the motor coordination of animals was not changed. In EPM, (-)-menthol did not change in any parameter. In the sleep time induced by pentobarbital, (-) - menthol reduced the sedative / hypnotic of pentobarbital sodium. Convulsion induced by pentylenetetrazol increased the latency of death. Oral administration of (-)-menthol 100 and 200 mg / kg were able to protect the damage to gastric mucosa by pre-treatment with ethanol and indomethacin. Prior administration of glibenclamide (10 mg / kg, ip) was able to reverse the gastroproteção promoted by (-)-menthol 200 mg / kg in ethanol-induced ulcers. However, pretreatment with L-NAME (10 mg / kg, ip) was not able to reverse gastroprotective effect of (-)-menthol. Measurement of gastric GSH showed that GSH levels increased with the administration of (-)-menthol. In conclusion, this study provides evidence indicating that there is a psychoactive effects of menthol in NC and this seems to be dependent on their interaction with the noradrenergic (α_1) and dopamine (D₂). Together, these results suggest that menthol has probably stimulating action in the CNS is devoid of anxiolytic and anticonvulsant action is likely. The gastroprotective action promoted by (-)-menthol can be associated with the opening of ATP-dependent K⁺ channels and the increased amount of GSH.

Keywords: *Mentha piperita*. (-)-Menthol. Antidepressant. Anticonvulsant. Gastroprotective action.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	<i>Mentha piperita</i>	29
FIGURA 2.	Estrutura química do (-)-Mentol	32
FIGURA 3.	Isômeros do (-)-Mentol	33
FIGURA 4.	Vias dopaminérgicas no cérebro	39
FIGURA 5.	Estimulação e inibição da adenilato ciclase pelas diferentes famílias de receptores dopaminérgicos (D1-like e D2-like) da (dopamina), ATP (adenosina trifosfato), cAMP (adenosina monofosfato cíclico), GTP (guanosina trifosfato), GDP (guanosina difosfato).	40
FIGURA 6.	Via noradrenérgica no cérebro	42
FIGURA 7.	Cristais de (-)-Mentol	52
FIGURA 8.	Esquema do Teste do Nado Forçado.	59
FIGURA 9.	Esquema do Teste da Suspensão da Cauda.	60
FIGURA 10.	Esquema do Teste do Campo Aberto.	61
FIGURA 11.	Esquema do Teste do <i>Rota Rod</i> .	62
FIGURA 12.	Esquema do Teste do Labirinto em Cruz Elevado	64
FIGURA 13.	Esquema do Teste do Tempo de Sono Induzido por Pentobarbital.	65
FIGURA 14.	Esquema do Teste da Convulsão Induzida por Pentilenotetrazol.	66
FIGURA 15.	Efeito do mentol, bupropiona e imipramina, via intraperitoneal, sobre o tempo de imobilidade no teste nado forçado.	74
FIGURA 16.	Efeito do mentol (50 mg/Kg) e da bupropiona (30 mg /Kg), via intraperitoneal, sozinho ou associado com SCH 23390 (15µ/Kg), antagonista dos receptores dopaminérgicos D ₁ sobre o tempo de imobilidade (s), em segundos, no teste nado forçado.	75
FIGURA 17.	Efeito do mentol (50 mg/Kg) e da bupropiona (30 mg/ Kg), via intraperitoneal, sozinho ou associado com sulpirida (50 mg/Kg), antagonista dos receptores dopaminérgicos D ₂ sobre o tempo de imobilidade (s), em segundos, no teste nado forçado.	76

- FIGURA 18.** Efeito do mentol (50 mg/Kg), via intraperitoneal, sozinho ou associado com prazosina (1 mg/Kg), antagonista dos receptores adrenérgicos α_1 sobre o tempo de imobilidade (s), em segundos, no teste nado forçado. 77
- FIGURA 19.** Efeito do mentol (50 mg/Kg) e da imipramina (10 mg/Kg), via intraperitoneal, sozinhos ou associados com Ioimbina (1mg/Kg), antagonista dos receptores adrenérgicos α_1 sobre o tempo de imobilidade (s), em segundos, no teste nado forçado. 78
- FIGURA 20.** Efeito do mentol (25 e 50 mg/Kg) e imipramina (10 mg/Kg), via intraperitoneal, sobre o tempo de imobilidade, em segundos, no teste suspensão da cauda. 79
- FIGURA 21** Efeito do mentol, bupropiona e diazepam, via intraperitoneal, sobre o número de travessias no teste campo aberto em camundongos. 82
- FIGURA 22.** Efeito do mentol (50 mg/Kg) e bupropiona (30 mg/Kg), via intraperitoneal, sozinho ou associado com SCH 23390 (15 μ /Kg), antagonista dos receptores dopaminérgicos D_1 sobre o número de travessias no teste campo aberto. 83
- FIGURA 23.** Efeito do mentol (50 mg/Kg) e da bupropiona (30 mg/Kg), via intraperitoneal, sozinho ou associado com sulpirida (50 mg/Kg), antagonista dos receptores dopaminérgicos D_2 sobre o número de travessias no teste campo aberto. 84
- FIGURA 24.** Efeito do mentol (25 e 50 mg/Kg) e diazepam (2 mg/Kg), via intraperitoneal, sobre o número de *rearings* no teste campo aberto em camundongos. 85
- FIGURA 25.** Efeito do mentol e diazepam, via intraperitoneal, sobre o número de *grooming* no teste campo aberto em camundongos. 86
- FIGURA 26.** Efeito do mentol (25 mg/Kg e 50 mg/Kg) e diazepam (DZP: 2 mg/Kg), via intraperitoneal, sobre o número de entradas no braço aberto no teste labirinto de cruz elevada em camundongos. 90

- FIGURA 27.** Efeito do mentol (25 mg/Kg e 50 mg/Kg) e diazepam, via intraperitoneal, sobre o tempo de permanência no braço aberto no teste labirinto de cruz elevada em camundongos. 91
- FIGURA 28.** Efeito do mentol (25 mg/Kg e 50 mg/Kg) e diazepam, via intraperitoneal, sobre a porcentagem de entradas no braço aberto no teste labirinto de cruz elevada em camundongos. 92
- FIGURA 29.** Efeito do mentol e diazepam, via intraperitoneal, sobre a porcentagem de entradas no braço aberto no teste labirinto de cruz elevada em camundongos. 93
- FIGURA 30.** Efeito do mentol e diazepam, via intraperitoneal, sobre a latência do sono, em segundos, no teste tempo de sono induzido por pentobarbital em camundongos. 95
- FIGURA 31.** Efeito do mentol e diazepam, via intraperitoneal, sobre a duração de sono, em segundos, no teste tempo de sono induzido por pentobarbital em camundongos. 96
- FIGURA 32.** Efeito do mentol 100 mg/kg e 200 mg/kg e ciproeptadina (10 mg/kg) na porcentagem de lesões ulceradas induzidas por Etanol em camundongos. 99
- FIGURA 33.** Efeito do (-)-Mentol 100 e 200 mg/Kg e Ranitidina 25 mg/Kg no escore de lesão de úlcera induzida por Indometacina. 100
- FIGURA 34.** Envolvimento do Óxido Nítrico (NO) no efeito gastroprotetor do de (-)-Menthol em modelo de úlcera induzida por etanol absoluto em camudongos. 101
- FIGURA 35.** Envolvimento dos canais de K^+_{ATP} dependentes na gastroproteção induzida por (-)-menthol no modelo de úlcera induzida por etanol. 103
- FIGURA 36.** Efeito do (-)- mentol e NAC no conteúdo de GSH em estômagos de camundongos. 104

LISTA DE QUADROS

1.	Receptores de Dopamina.	41
2.	Drogas e reagentes utilizados durante os procedimentos experimentais	54
3.	Equipamentos utilizados durante os procedimentos experimentais	55
4.	Determinação de escore na úlcera induzida por indometacina.	68

LISTA DE TABELAS

- 1.** Efeito da administração intraperitoneal do mentol e diazepam no tempo de permanência no teste *Roda Rod* **88**
- 2.** Efeito da administração intraperitoneal do mentol e diazepam na latência de convulsão e na latência de morte. **97**

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

5-HT	Serotonina
AINES	Agentes antiinflamatórios não esteroidais
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AAS	Ácido acetilsalicílico
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
ALE	Atividade Locomotora Espontânea
Aδ	Fibras nervosas de condução rápida, revestida por uma fina bainha de mielina.
ANOVA	Análise de Variância
BUP	Bupropiona
Ca²⁺	Íons Cálcio
CEPA	Comitê de Ética em Pesquisa Animal
Cl⁻	Íons cloreto
CNS	Conselho Nacional de Saúde
CMR1	<i>Cool menthol receptor 1</i>
COMT	Catecol-O-metil-transferase
C₆H₆	Benzeno
CHCl₃	Clorofórmio
Cont.	Controle
DAT	Transportador específico de dopamina
D₁	Receptores dopaminérgicos do subtipo 1 (D ₁ – Símile)
D₂	Receptores dopaminérgicos do subtipo 2 (D ₂ - Símile)
DL50	Dose letal que mata 50% dos animais
GRD	Gânglios das raízes dorsais
DS	Duração do Sono
DZP	Diazepam
DZO	Diazóxido
EPM	Erro padrão da média
ESF	Estratégia Saúde da Família
EUA	Estados Unidos
FLU	Flumazenil

GABA	Ácido gama amino butírico
GMPc	Guanosina monofosfato cíclico
GSH	Glutationa reduzida
H. pylori	<i>Helicobacter pylori</i>
IMI	Imipramina
i.p.	Intraperitoneal
IP₃	Trifosfato de Inositol
K⁺ATP	Canais de potássio dependentes de ATP
LCE	Labirinto em Cruz Elevado
LC	Latência da Convulsão
LM	Latência de Morte
L-NAME	NG-nitro-L-arginina-metilester
LS	Latência do Sono
MÃO	Monoamino oxidase
MENT-25	(-)-Mentol 25 mg/kg
MENT-50	(-)-Mentol 50 mg/kg
MGPG	3-metoxi-4-hidroxifenilmetil-glicol
MS	Ministério da Saúde
Na⁺	Íon sódio
NCR	Núcleo caudado da rafe
NEBA	Número de Entradas nos Braços Abertos
NF	Nado forçado
NMDA	N-metil-D-aspartato
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintetase
NQ	Número de Quedas
OMS	Organização Mundial de Saúde
p	Nível de Significância
PEBA	Porcentagem de Entrada nos Braços Abertos
PTB	Pentobarbital sódico
PTBA	Porcentagem do Tempo de Permanência nos Braços Abertos
PTZ	Pentilenotetrazol
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada

rpm	Rotação por Minuto
SCH	SCH23390
SNC	Sistema Nervoso Central
SPD	Sulpirida
spp	Espécies
TH	Tirosina hidroxilase
TP	Tempo de Permanência
TPBA	Tempo de Permanência nos Braços Abertos
UD	Úlcera duodenal
UG	Úlcera gástrica
ATV	Área tegmental ventral
v.o.	Via oral
Vs	Versus
W	Watt

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
1.1	Generalidades	23
1.2	A Família Lamiaceae	27
1.3	O Gênero Mentha	27
1.4	(-)-Mentol	30
1.5	Modelos Experimentais para Estudos de Substâncias com Ação no SNC	34
1.5.1	Introdução	34
1.5.2	Depressão	35
1.5.3	Sistema Dopaminérgico	37
1.5.4	Sistema Noradrenérgico	42
1.6	Úlcera Gástrica	
1.6.1	Considerações Gerais	43
1.6.2	Fatores Protetores	44
1.6.3	Fatores Agressores	45
1.6.4	Etanol e Úlcera péptica	47
1.6.5	DAINES e Úlcera péptica	48
2	RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA	50
3	OBJETIVOS	
3.1	Objetivo Geral	51
3.2	Objetivos Específicos	51
4	MATERIAIS E MÉTODOS	
4.1	Material	52
4.2	Animais	53

4.3	Drogas e Reagentes	54
4.4	Equipamentos	55
4.5	Preparo de Drogas	56
4.6	Tratamento dos Grupos Experimentais	56
4.7	Protocolo Experimental	
4.7.1	Avaliação da Atividade no Sistema Nervoso Central	57
4.8	Avaliação da Atividade Antidepressiva	57
4.9	Avaliação da Atividade Antedepressiva	
4.9.1	Teste do Nado Forçado	58
4.9.2	Teste da Suspensão da Cauda	60
4.10	Avaliação da Atividade Ansiolítica	
4.10.1	Teste do campo Aberto	61
4.10.2	Teste do <i>Rota Rod</i>	62
4.10.3	Teste do Labirinto em Cruz Elevada	63
4.11	Avaliação da Atividade Sedativa/Hipnótica e Anticonvulsivante	
4.11.1	Teste do Tempo de Sono Induzido por Pentobarbital	65
4.11.2	Teste da Convulsão Induzida por Pentilenotetrazol	66
4.12	Avaliação da Atividade Gastroprotetora	
4.12.1	Avaliação da Atividade Gastroprotetora do Mentol em Modelo de Úlcera Gástrica Induzida por Etanol em Camundongos	67
4.12.2	Lesões Gástricas Induzidas por Indometacina em Camundongos	68
4.12.3	Papel do Óxido Nítrico (NO) no Efeito Protetor do Mentol na Lesão Gástrica Induzida por Álcool em Camundongos	69
4.12.4	Papel dos Canais de Potássio ATP-dependentes (KATP), no Efeito Gastroprotetor do Mentol em Modelo de Lesões Gástricas Induzidas por Etanol em Camundongos	69
4.12.5	Qualificação dos Níveis de Glutathiona (GSH) no Estômago e Fígado de Camundongos Tratados com Mentol e Exposto ao Etanol	70
4.13	Análise Estatística	71
5	RESULTADOS	
5.1	Avaliação da Atividade Antidepressiva	

5.1.1	Teste do Nado Forçado	72
5.1.2	Teste da Suspensão da Cauda	79
5.2	Avaliação da Atividade Ansiolítica	
5.2.1	Teste do Campo Aberto	80
5.2.2	Teste do <i>Rota Rod</i>	87
5.2.3	Teste do Labirinto em Cruz Elevado	89
5.3	Avaliação da Atividade Sedativa/Hipnótica e Anticonulsivante	
5.3.1	Teste do Tempo de Sono Induzido por Pentobarbital	94
5.4	Teste da Convulsão Induzida por Pentilenotetrazol	97
5.5	Atividade Antiulcerogênica	
5.5.1	Avaliação do efeito do (-)- mentol nas lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos	98
5.5.2	Avaliação do efeito do (-)-mentol nas lesões gástricas induzidas por Indometacina em camundongos	100
5.5.3	Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor do (-)-mentol em modelo das lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos	101
5.5.4	Papel dos canais de potássio ATP-dependentes (K_{ATP}) no efeito gastroprotetor (-)- mentol em modelo das lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos	102
5.5.5	Papel de Glutathione Reduzida (GSH) no efeito gastroprotetor do (-)-mentol em modelo das lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos	104
6	DISCUSSÃO	
6 I	Estudo das Ações Centrais do (-)- Mentol	105
6 II	Estudo da Ação Gastroprotetora do (-)-Mentol	116
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	120
	REFERÊNCIAS	122

1 INTRODUÇÃO

1.1 Generalidades

Planta medicinal é aquela planta administrada sob qualquer forma e por alguma via ao homem, exercendo algum tipo de ação farmacológica. As plantas podem ser classificadas de acordo com sua ordem de importância, iniciando-se pelas plantas empregadas diretamente na terapêutica, seguidas daquelas que constituem matéria-prima para manipulação e, por último, as empregadas na indústria para obtenção de princípios ativos ou como precursores em semi-síntese (FOGLIO *et al.*, 2006).

A história do uso de plantas medicinais tem mostrado que elas fazem parte da evolução humana e foram os primeiros recursos terapêuticos utilizados pelos povos. As antigas civilizações têm suas próprias referências históricas acerca das plantas medicinais e, muito antes de aparecer qualquer forma de escrita, o homem já utilizava as plantas e, entre estas, algumas como alimento e outras como remédio. Nas suas experiências com ervas, tiveram sucesso e fracasso, sendo que, muitas vezes, estas curavam e em outras matavam ou produziam efeitos colaterais severos (TOMAZZONI *et al.*, 2006).

Diante disso, ao longo dos anos, a população de um modo geral acumulou um saber expressivo sobre métodos alternativos para o tratamento de doenças. O uso de produtos naturais tem significado mágico-religioso e em diferentes culturas influencia o conceito saúde-doença existente (RATES, 2001).

As plantas, além de seu uso na medicina popular com finalidade terapêutica, têm contribuído, ao longo dos anos, para a obtenção de vários fármacos, até hoje amplamente utilizados na clínica, como a emetina, a vincristina, a colchicina, a rutina. A cada momento são relacionadas na literatura novas moléculas, algumas de relevante ação farmacológica como a forskolina, o taxol e a artemisinina (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998).

Até meados do século XX, as plantas medicinais e seus derivados constituíam a base da terapêutica medicamentosa, quando a síntese química, que teve início no final do século XIX, iniciou uma fase de desenvolvimento vertiginoso (CALIXTO, 2000).

Com a Revolução Industrial, veio o desenvolvimento acentuado de produtos químicos resultando na preferência por parte da população pelo uso de medicamentos sintéticos para o tratamento farmacológico das doenças. As razões para que isso acontecesse foram à facilidade da obtenção de compostos puros, modificação estrutural deles para produzir fármacos potencialmente mais ativos e seguros podendo ser mais fácil e barato para a indústria farmacêutica que vinha em franca expansão (RATES, 2001).

Nos países em desenvolvimento, entre eles o Brasil, assim como em países desenvolvidos, a partir da segunda metade dos anos 70 e década de 80, tem-se verificado o crescimento das “medicinas alternativas” e, entre elas, a fitoterapia (TOMAZZONI *et al.*, 2006).

É notório que nos últimos tempos, o interesse pelo uso de produtos naturais vem aumentando. Esse interesse pelas drogas de origem natural deve-se a várias razões, dentre elas, o uso abusivo e até mesmo incorreto de drogas sintéticas, resultando em outros problemas diferentes daqueles que já se tinha, a inacessibilidade de grande parte da população ao tratamento farmacológico tradicional e a sensibilização da população em acreditar que produtos naturais sejam inofensivos (RATES, 2001).

Atualmente cerca de 50% dos medicamentos utilizados são de origem sintética e cerca de 25% são de origem vegetal, isolados ou produzidos por semi-síntese (CALIXTO, 2000).

Diante desta expansão do uso de plantas medicinais, muitos centros nas mais variadas regiões do mundo vêm desenvolvendo estudos sobre as propriedades farmacológicas das plantas medicinais, sendo os resultados bem promissores (CORRÊA *et al.*, 2003).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), fitoterápico consiste em todo medicamento obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais. Caracteriza-se pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Através de levantamentos etnofarmacológicos de utilização, documentações tecnocientíficas em publicações ou ensaios clínicos de fase três é validada a sua eficácia e segurança. Os fitoterápicos, assim como todos os medicamentos, devem oferecer garantia de qualidade, ter efeitos terapêuticos comprovados, composição padronizada e segurança de uso para a população (LEITE, 2008).

Os fitoterápicos representam uma parcela significativa no mercado de medicamentos. O setor movimentava globalmente US\$ 21,7 bilhões por ano. No Brasil, não existem dados oficiais atualizados, porém, estima-se que esse mercado gira em torno de US\$ 160 milhões por ano. E o fator de atração é o ritmo de crescimento das vendas internamente, mais de 15% anuais, contra 4% do que evoluem as vendas dos medicamentos sintéticos. Em toda a cadeia produtiva, o setor fitoterápico movimentava anualmente cerca de R\$ 1 bilhão (FEBRAFARMA, 2009).

Com o advento da Estratégia Saúde da Família (ESF), criada em 1994 pelo Ministério da Saúde, houve a valorização da fitoterapia dentro das perspectivas terapêuticas da ESF, resultando não só em benefícios para a saúde, mas também em benefícios de ordem econômica, conforme relata Noumi *et al.* (1999). Um aspecto importante desta proposta de tratamento complementar está no fato de que a aplicação deste conjunto de informações torna possível o emprego terapêutico do princípio ativo, sem que seja preciso retirá-lo da planta, evitando, assim, a aplicação dos onerosos processos necessários a sua extração, isolamento e purificação (BRASILEIRO *et al.*, 2008).

Com o desenvolvimento do mercado de fitoterapia, houve a preocupação por parte de órgãos ligados ao governo em regulamentar o uso de plantas medicinais em nosso país. Para tanto foi criada a Portaria 6/1995 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, reformulada pela Portaria 1029/1988 e finalmente substituída pela Resolução RDC ANVISA 17/2000, que estabelece parâmetros de qualidade, visando o registro desses produtos junto ao MS (BRASIL, 2000).

Essa preocupação surgiu porque no Brasil, as plantas medicinais da flora nativa são consumidas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas, propagadas por usuários ou comerciantes. Muitas vezes essas plantas são, inclusive, empregadas para fins medicinais diferentes daqueles utilizados pelos silvícolas. Comparada com a dos medicamentos usados nos tratamentos convencionais, a toxicidade de plantas medicinais e fitoterápicos pode parecer trivial. Isto, entretanto, não é verdade. A toxicidade de plantas medicinais é um problema sério de saúde pública. Daí a necessidade da elaboração de regulamentação a partir de protocolos para sua utilização (VEIGA-JUNIOR *et al.*, 2005).

Desde a Declaração de Alma-Ata, em 1978, a Organização Mundial da Saúde tem expressado sua posição a respeito da necessidade de valorizar a utilização de plantas medicinais no âmbito sanitário, em função de que 80 % da população mundial dependem dessas espécies, no que se refere à atenção primária à saúde. Dentro deste contexto, o Brasil tem buscado estabelecer diretrizes na área de plantas medicinais e saúde pública, como a aprovação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2006).

Através da realização de diversas reuniões internacionais, a Organização Mundial da Saúde (OMS) investiga melhores condições para manter a qualidade, a eficácia e a segurança dos fitoterápicos (SOUSA *et al.*, 2008).

Atualmente existe um grande número de plantas medicinais cujo potencial terapêutico tem sido estudado em uma variedade de modelos animais, e cujos mecanismos de ação tem sido investigados através de ensaios neuroquímicos. Estes estudos têm providenciado informações úteis para o desenvolvimento de novas farmacoterapias a partir dessas plantas para o tratamento dos mais variados distúrbios (SOUSA *et al.*, 2008).

Logo, a seleção de uma planta para estudo farmacológico é um passo muito importante. A escolha pode ser feita de várias maneiras através do uso tradicional dos componentes químicos, da seleção randomizada ou da combinação de mais de um critério. A estratégia mais comum é o uso das fontes naturais na medicina popular, que é conhecida como etnofarmacologia (RATES, 2001).

Neste contexto, o fato de usar princípios ativos extraídos de plantas medicinais, em sua forma isolada, apresenta muitas vantagens como asseguramento da constância de composição, ausência de qualquer outra substância ativa, além daquela determinante da atividade e maior facilidade para o controle de qualidade, em relação aos produtos de composição complexa e não conhecida completamente (SCHENKEL *et al.*, 2003).

1.2 A Família *Lamiaceae*

Várias espécies de plantas da família *Lamiaceae* (*Labiatae*) têm importância hortícola e são utilizadas na culinária, na medicina caseira, na indústria farmacêutica e cosmética. Essa família apresenta distribuição cosmopolita, com cerca de 300 gêneros e aproximadamente 7500 espécies. No Brasil, ocorrem cerca de 350 espécies distribuídas em 26 gêneros (SOUSA *et al.*, 2005). São cosmopolitas, porém têm como centros de origem as regiões mediterrânicas, o Oriente Médio e as montanhas subtropicais. Muitas espécies de importância econômica da família *Lamiaceae*, como o alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), erva-cidreira (*Melissa officinalis* L.), hissopo (*Hyssopus officinalis* L.), hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.), lavanda (*Lavandula* spp.), manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), manjerona (*Origanum majorana* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.), sálvia (*Salvia officinalis* L.), segurelha (*Satureja hortensis* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.) são propagadas por sementes (KRUPPA, 2008).

1.3 O Gênero *Mentha*

Várias espécies de plantas aromáticas, de nome hortelã, estão classificadas como espécies de *Mentha*. O gênero *Mentha* inclui aproximadamente 30 espécies que se desenvolvem em diversas regiões da Europa, Ásia, Austrália e América do Sul (DORMAN *et al.*, 2003) e que foi introduzida no Brasil através de imigrantes (MATOS, 2007).

Algumas foram introduzidas ainda na época do descobrimento do Brasil, enquanto outras vieram com japoneses e europeus no início do século XX. As espécies são valorizadas para uso culinário e para fazer chás medicinais, e são conhecidas principalmente pelo sabor característico e aroma refrescante. Todas as plantas são perenes, de crescimento rápido e fácil, com caules violáceos, ramificados; folhas opostas, serradas e cor verde escura; flores lilases ou azuladas, dispostas em espigas terminais. Entre as mais populares destacam-se hortelã-japonesa ou vique (*Mentha arvensis* L.), hortelã-pimenta (*Mentha x piperita* var. *piperita* L.), hortelã-verde ou menta-dos-jardins (*Mentha spicata* L.), hortelã-rasteira ou hortelã-de-panela (*Mentha x villosa* Huds.), hortelã-limão (*Mentha x piperita* var. *citrata* (Ehrh.) Briq.), menta-do-levante (*Mentha x gracilis* Sole) e hortelã-comum (*Mentha suaveolens* Ehrh.) (GARLET,

2008). Esse gênero apresenta dificuldades para sua classificação devido à grande variabilidade em suas características morfológicas e a facilidade de hibridização (LORENZO *et al.*, 2002).

Devido as suas condições climáticas favoráveis, o Brasil que já foi o maior produtor de menta, hoje tem produção insignificante, ficando atrás da China e do Paraguai. Em relação ao mercado de óleo essencial de menta, são comercializados por ano mais de 5.000 toneladas que, em valores históricos de US\$ 10,00 kg⁻¹, perfaz em US\$ 50 milhões por ano (MAIA, 1998).

O interesse econômico em espécies de *Mentha* deve-se, principalmente, à exploração comercial dos óleos essenciais que são substâncias complexas com grande polimorfismo químico. Embora apresentem grande diversidade de constituintes, os principais são os monoterpenos (SEIGLER, 1998) que têm a função ecológica de proteção contra estresses bióticos e abióticos (GERSHENZON; CROTEAU, 1991; HARBORNE, 1991). A produção mundial anual de óleos essenciais de trinta espécies aromáticas é estimada entre 110.000 e 120.000 toneladas (KHOTARI, 2005), e, desta quantidade, 22.200 toneladas vêm de espécies de *Mentha*: *M. arvensis* (16.000), *M. x piperita* (4.000), *M. spicata* (2.000) e outras (200) (SANT SANGANERIA, 2005).

O gênero *Mentha* (Lamiaceae), comumente conhecido como hortelã, destaca-se pelo uso culinário e de chás com efeito medicinal, sendo conhecido pelo seu sabor característico e aroma refrescante. A espécie *Mentha piperita* L., conhecida como hortelã-pimenta, é produtora de óleo essencial rico em mentol e flavonóides, cujas aplicações nas indústrias farmacêuticas conferem-lhe grande importância econômica (MARTINS *et al.*, 1998).

Alguns estudos etnofarmacológicos têm relatado que plantas do gênero *Mentha* L. (Lamiaceae) têm atividade antiparasitária, incluindo *Mentha villosa* Huds., popularmente conhecida como hortelã-comum, hortelã-de-tempero, hortelã-rasteira ou mentrasto. Tem sido relatado o uso dessa espécie contra amebíases, giardíases, tricomoníases urogenitais e esquistossomose, dentre outras atividades farmacológicas. A adição de leite às folhas trituradas de *M. villosa* é utilizada para o tratamento de verminoses em crianças. Alguns autores detectaram a presença de óxido de piperitenona (rotundifolona) como constituinte

majoritário no óleo essencial de *M. villosa*. No entanto, não foi possível determinar se seria este ou outro o componente que age como seu princípio ativo antiparasitário (NASCIMENTO, 2009).



Figura 1 – *Mentha piperita*

Fonte: <http://www.indigenousremedies.com/files/Peppermint.jpg>

1.4 (-)-Mentol

(-)-Mentol (Figura 2) é um monoterpene volátil obtido naturalmente por destilação, a partir de plantas da espécie *Mentha*, ou sinteticamente através de outros óleos essenciais como citronela e eucalipto. Sua estrutura química contém um terpeno álcool cíclico com três átomos de carbono assimétricos. Existem quatro pares de isômeros ópticos nomeados (-) - e (+)-mentol, (-) - e (+) - neomenthol, (-) - e (+)-isomenthol, (-) - e (+) – neoisomenthol (Figura 3). Entre os seus isômeros ópticos, (-)-mentol é um dos que ocorrem mais amplamente na natureza e é dotado da propriedade peculiar por ser um composto aromático (GALEOTTI *et al.*, 2002).

O uso de mentol em alimentos, produtos farmacêuticos e tabaco, foi relatado por mais de 50 anos (ECCLES, 1994). Isso se deve a várias propriedades terapêuticas proporcionadas pelo (-)-mentol.

Estudos anteriores demonstraram que o (-)-mentol apresenta propriedades anestésicas (RUPPERT; BARNES, 1994) e antiinflamatórias (LORENZO *et al.*, 2002), sendo freqüentemente utilizado como (KORTING; WEIGAND, 1975). Além de exercer ações como descongestionante nasal (KORTING; WEIGAND, 1975; ECCLES; JONES, 1983) e antitussígeno (MORICE *et al.*, 1994; LAUDE *et al.*, 1994), sendo também utilizado no tratamento da inflamação pulmonar crônica encontrada em doenças como a asma brônquica (CHIYOTANI; TAMAOKI, 1994; TAMAOKI *et al.*, 1995; JUERGENS; STOBER; VETTER, 1998).

Devido à propriedade refrescante do (-)-mentol, ele é costumeiramente utilizado em cigarros, conhecidos como cigarros mentolados. Sua utilização justifica-se por proporcionar aos fumantes uma sensação de prazer descrita por estes usuários. Nos Estados Unidos quase 25% dos caucasianos e 70-80% de africano-americanos do sexo masculino e feminino fumantes escolhem os cigarros mentolados (CUMMINGS *et al.*, 1987; PICKWORTH *et al.*, 2002; CASTRO, 2004; SUTTON; ROBINSON, 2004). Interessantemente, a maioria dos sintomas decorrentes do uso do cigarro, como tosse crônica, produção de muco espesso e falta de ar podem ser reduzidos pelo contínuo uso de cigarros mentolados (GARTEN; FALKEN, 2003).

In vitro, apresenta atividade antimicrobiana e antiviral, forte ação antioxidante e antitumoral (MCKAY; BLUMBERG, 2006). É utilizado também como antiprurítico (BURKHART; BURKHART, 2003). Exerce função como anti-séptico, estando presente nas pastas dentífricas, nos produtos de higiene bucal e no tratamento de doenças digestivas sintomáticas devido à sua ação carminativa. Apresenta também propriedades antiespasmódicas.

Com tantas propriedades terapêuticas, vários estudos tentam elucidar o provável mecanismo de ação do (-)- mentol por ainda não está bem claro. Alguns autores sugerem que suas propriedades analgésicas podem ser mediadas através da ativação dos receptores opióides do tipo kappa (GALEOTTI *et al.*, 2002). Outros autores mostraram que o (-)-mentol é capaz de ativar os receptores TRPM8 (receptor de potencial transitório melastatina 8) também conhecidos por CMR1 (*Cool menthol receptor 1*) (HALL *et al.*, 2004). TRPM8 faz parte da família dos receptores TRP. Estes receptores estão relacionados com analgesia, assim como também, com a dor e aparecem também atuando como sensores térmicos.

O receptor TRPM8 é expresso por aproximadamente 20% dos neurônios dos gânglios de raiz dorsal (GRD) e 35% dos neurônios do gânglio do trigêmeo de ratos, e possui limiar de ativação em torno de 25°C (PEIER *et al.*, 2002). Curiosamente, também podem ser encontrados na próstata humana. Estudos consideram esse receptor como um alvo promissor para o tratamento do câncer de próstata já que a expressão de TRPM8 na próstata é regulado por andrógenos e é elevada em células cancerígenas andrógeno-sensíveis em comparação com as células normais. Embora haja alguns estudos, a função de TRPM8 nestas células ainda não é muito conhecida. Ressalta-se também que o câncer de próstata é de difícil tratamento e há uma quantidade limitada de marcadores para diagnóstico e prognóstico disponíveis (ZHANG; BARRITT, 2006).

Sabe-se também nos receptores TRPM8 são expressos por uma sub-população diferente de fibras C e por um grupo de fibras mielinizadas do tipo A δ (STORY *et al.*, 2003). Alguns autores sugerem que a sensação de refrescância proporcionada pelo mentol deve-se a ativação dos receptores TRPM8. Isso ocorre através da indução da liberação do cálcio intracelular, resultando em aumento do neurotransmissor nas sinapses sensoriais (TSUZUKI *et al.*, 2004).

Além da participação do mentol com os receptores TRPM8, Hall *et al.* (2004) observaram que o mentol apresenta ação sobre os receptores GABA_A. Sabe-se que GABA_A, assim como glicina, são os principais receptores ionotróficos responsáveis pela neurotransmissão inibitória do sistema nervoso central nos mamíferos. Ambos receptores estão relacionados com ação sedativa, ansiolítica, anestésica e anticonvulsivante (HALL *et al.*, 2004). Entretanto não se sabe o sítio exato de ligação do mentol com o receptor GABA_A. Alguns autores sugerem que haja um sitio específico para este monoterpene (HALL *et al.*, 2004). Watt (2008) sugere que o mentol se liga ao receptor GABA_A em sítios de ação diferentes dos benzodiazepínicos. Observou ainda que o mentol pode competir com o propofol, potente anestésico, pelo sítio de ação de GABA_A.

Ainda ressaltando os possíveis alvos farmacológicos do mentol, estudos anteriores na literatura (UMEZU; MORITA, 2003; UMEZU *et al.*, 2001) demonstraram que a (-)-mentol pode promover a deambulação em camundongos e que este efeito parece estar relacionado a neurotransmissão dopaminérgica, semelhante a mecanismo apresentado por psicoestimulantes.

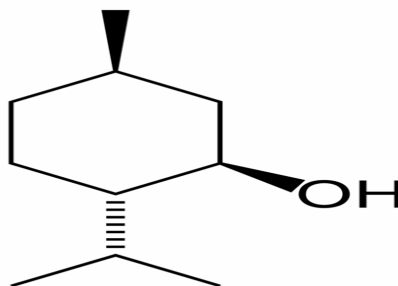


Figura 2 – Estrutura química do (-)- mentol

Fonte: Sousa *et al.* (2007)

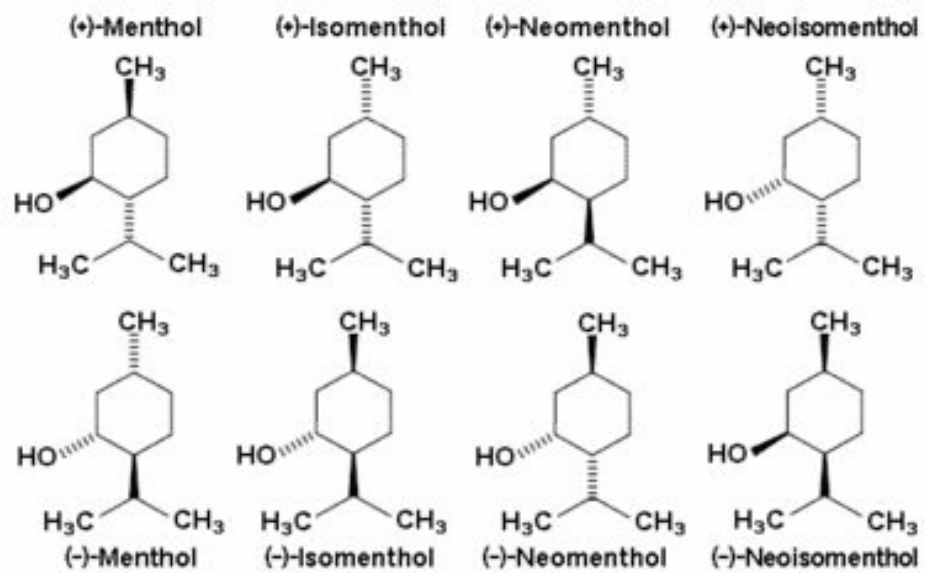


Figura 3 – Isômeros do (-)- mentol

Fonte: Sousa *et al.* (2007)

1.5 Modelos experimentais para estudos de substâncias com ação no SNC

1.5.1 Introdução

Durante toda a vida, 31 a 50% da população brasileira apresentam, pelo menos, um episódio de transtorno mental e cerca de 20 a 40% necessitam, por conta disso de algum tipo de ajuda profissional (XIMENES-NETO *et al.*, 2009).

O transtorno de ansiedade generalizada está entre os transtornos mentais mais freqüentes. Embora visto inicialmente como um transtorno leve, atualmente se avalia que é uma doença crônica, associada a uma morbidade relativamente alta e a altos custos individuais e sociais. Por exemplo, cerca de 24% dos pacientes classificados como grandes usuários de serviços médicos ambulatoriais apresentam diagnóstico de algum tipo de transtorno (ANDREATINI *et al.*, 2001).

No que se refere à depressão, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), desde a década de 1990, a depressão vem ocupando uma posição de destaque no rol dos problemas de saúde pública. É considerada a doença mais onerosa de todas as doenças em todo o mundo, as expectativas são de que até o ano de 2010, ocupará em segundo lugar, estando atrás das doenças cardíacas isquêmicas graves. Ainda, segundo a OMS, esta síndrome, no ano de 2020, será a segunda moléstia que afetará os países desenvolvidos e a primeira em países em desenvolvimento (SIQUEIRA *et al.*, 2009).

Devido à magnitude dessas patologias, é notória sua repercussão sobre a saúde pública. Aliando-se a esses dados, juntamente com a morbidade e os custos associados a elas, torna-se importante o desenvolvimento de novos fármacos a fim de se ampliar a terapêutica já existente.

Diante disso, os modelos experimentais que induzem depressão, ansiedade e convulsão, objetivando avaliar inicialmente o potencial ou não de um fármaco como ansiolítico, antidepressivo ou até mesmo como anticonvulsivante tornam-se muito úteis como ensaios pré-clínicos. É válido ressaltar que modelos experimentais com animais apenas modelam, tendo em vista que não se podem reproduzir, condições subjetivas, como ansiedade e depressão (MARTINEZ *et al.*, 2005).

Portanto, no presente trabalho utilizaram-se modelos amplamente estudados e validados, que tentam reproduzir essas condições comportamentais de depressão e ansiedade. O nado forçado, por exemplo, é útil para realização de *screening* de drogas antidepressivas e para determinar comportamento de depressão-símile após exposição ao estresse (PEDREANEZ *et al.*, 2006). No caso, a pesquisa por novos antidepressivos é necessária e importante. Considerando que há indivíduos que não toleram ou têm resposta refratária ao tratamento farmacológico existente, o que justifica a necessidade da descoberta de novos fármacos (GARCIA *et al.*, 2008).

1.5.2 Depressão

O termo depressão pode significar uma síndrome que faz parte de inúmeros distúrbios emocionais sem ser exclusivo de nenhum deles. Pode, por exemplo, significar uma síndrome traduzida por muitos variáveis sintomas ou, ainda, pode significar uma doença. Enquanto sintoma, a depressão pode estar presente no transtorno do estresse pós-traumático, demência, esquizofrenia, alcoolismo e ainda, em circunstâncias econômicas e sociais adversas ou como resposta a eventos estressantes. Como síndrome, a depressão inclui não somente alterações de humor, tais como tristeza, apatia, falta de capacidade de sentir prazer, irritabilidade, mas compreende também alterações psicomotoras, cognitivas e vegetativas, como sono, apetite, etc. Na forma de doença, a depressão pode ser classificada de muitas formas, a saber, como transtorno depressivo maior, distímia, melancolia, depressão como parte da ciclotímia, depressão integrante do transtorno bipolar tipos I e II, dentre outros (DEL PORTO, 2002).

Na depressão, segundo o critério diagnóstico do episódio depressivo maior pelo DSM-IV (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*), deve haver obrigatoriamente presença de humor depressivo ou perda de interesse ou prazer durante pelo menos duas semanas, além de uma série de outros sintomas relacionados, tais como alterações psicomotoras e de sono, redução no grau de concentração, variação de peso corporal e perda de energia (VISMARI *et al.*, 2008).

Com a descoberta dos antidepressivos nos anos cinquenta, originou-se uma corrida entre os pesquisadores para compreender a ação do funcionamento das drogas no organismo. Alguns começaram a propor que a serotonina cerebral estava ligada às funções emocionais. Esta descoberta serviu como base para afirmar a idéia de que o comportamento era resultado

imediate da biologia. A partir de então novas teorias surgem para justificar as emoções e as psicopatologias por meio dos neurotransmissores, como norepinefrina, epinefrina, dopamina e serotonina (TEIXEIRA, 2005).

A maioria dos antidepressivos aumenta a quantidade de noradrenalina e/ou serotonina na fenda sináptica, através de bloqueio de sua recaptação nos terminais sinápticos ou por inibir o catabolismo de enzimas monoaminas oxidases. Com relação a serotonina, sabe-se que ISRS são muito eficazes no tratamento da depressão (NAKAZATO *et al.*, 1998). Logo, acredita-se que a depressão é causada por decréscimo de serotonina e noradrenalina (D'AQUILA *et al.*, 2000).

Além disso, sabe-se que os pacientes maníacos comparados com controles normais apresentam aumento nos níveis líquidos do metabólito da noradrenalina, 3-metoxi-4-hidroxifenilmetil-glicol (MHPG), e também elevação nos níveis urinários de noradrenalina, aumentando seu *turnover* noradrenérgico. Contrariamente, na depressão ocorre diminuição (VIEIRA *et al.*, 2008).

Um outro neurotransmissor que parece estar envolvido na depressão é a dopamina (RANDRUP *et al.*, 1975). Sabe-se que drogas que aumentam os níveis de dopamina, como a cocaína e anfetamina, produzem elevação do humor e contrariamente, drogas que reduzem os níveis de dopamina, como a reserpina, causam disforia e humor depressivo. Além disso, os neurônios dopaminérgicos que se originam na área tegmental ventral (ATV) e projetam-se para diferentes áreas do telencéfalo, como, o córtex pré-frontal e o núcleo accumbens, estão envolvidos no comportamento de recompensa e na motivação (D'AQUILA *et al.*, 2000).

Uma outra observação interessante é que substâncias que reduzem a liberação de NMDA têm efeito antidepressivo. Alguns autores sugerem que este ocorre provavelmente por uma modulação no caminho das monoaminas no SNC (CARDOSO *et al.*, 2008).

Com relação aos neurotransmissores envolvidos na depressão, ressalta-se ainda que o conhecimento dos receptores cerebrais evolui constantemente, sendo já identificados 4 subtipos de receptores noradrenérgicos, 7 subtipos de receptores serotoninérgicos e 5 subtipos de receptores dopaminérgicos. Alguns desses subtipos são ainda subclassificados em

diferentes isoformas, tendo por base características farmacológicas e moleculares (BAHLS, 1999).

Ainda com relação aos receptores dos neurotransmissores, o interesse a respeito da importância destes na biologia da depressão derivou dos seguintes achados: a) a depleção de monoaminas provoca um aumento compensatório do número de receptores pós-sinápticos (*up-regulation*); b) estudos *post mortem*, em cérebros de pacientes suicidas mostraram que ocorreu um acréscimo no número de receptores 5-HT₂ no córtex frontal; c) a ativação de alguns subtipos do mesmo receptor provoca efeitos diversos e até mesmo opostos, como no caso dos receptores 5-HT₂ e 5-HT_{1A} (GRAEFF; BRANDÃO, 1993; STAHL, 1998; WILLNER, 1990).

1.5.3 Sistema Dopaminérgico

A dopamina constitui cerca de 80% do conteúdo de catecolaminas cerebrais, possuindo importante papel na regulação de fatores motivacionais, cognitivos, motores e hormonais (NEVES *et al.*, 2004).

A dopamina apresenta uma distribuição no cérebro mais restrita do que outras catecolaminas, como por exemplo, a noradrenalina. Encontra-se em quantidades mais abundantes no corpo estriado, uma parte do sistema motor extrapiramidal relacionada à coordenação do movimento. Também se encontra em algumas regiões do sistema límbico e hipotálamo. É sintetizada a partir da tirosina pela ação da enzima tirosina-β-hidroxilase nos neurônios dopaminérgicos. Após sua liberação na fenda sináptica é, em grande parte, recaptada por transportadores específicos (DAT) pertencente aos transportadores de monoaminas. Sua metabolização se faz pelas enzimas monoamina oxidase (MAO) e catecolamina O-metiltransferase (COMT). Seus principais produtos são o ácido dihidroxifenilacético e o ácido homovanílico, os quais são excretados na urina (FAGUNDES, 2007).

A dopamina é sintetizada por neurônios cujos corpos localizam-se no tronco cerebral e se projetam por diferentes vias (Figura 4). Sendo quatro as vias principais:

1. Via Nigroestriatal: Neurônios da substância negra que se projetam ao putâmen e núcleo caudado. Possui, prevalentemente, receptores D₁ e D₂ e pouco D₃. É a principal via dopaminérgica e corresponde cerca de 70% dos circuitos dopaminérgicos do SNC.

2. Via Mesolímbica: Originada na área tegmental ventral e se projeta ao núcleo accumbens (D₂ e D₃) e área septal (núcleo septal lateral), núcleo amigdalóide, giro parahipocampal e hipocampo (D₄ e D₅).

3. Via Mesocortical: Originada em neurônios da área tegmental ventral e se projeta principalmente para o córtex pré-frontal (D₄);

4. Via Tuberoinfundibular: Emerge principalmente do núcleo arqueado do hipotálamo (e também de outros núcleos hipotalâmicos) e se projeta para a eminência mediana do hipotálamo (D₁), onde inibe a liberação de prolactina pela hipófise (MOREIRA *et al.*, 2007).

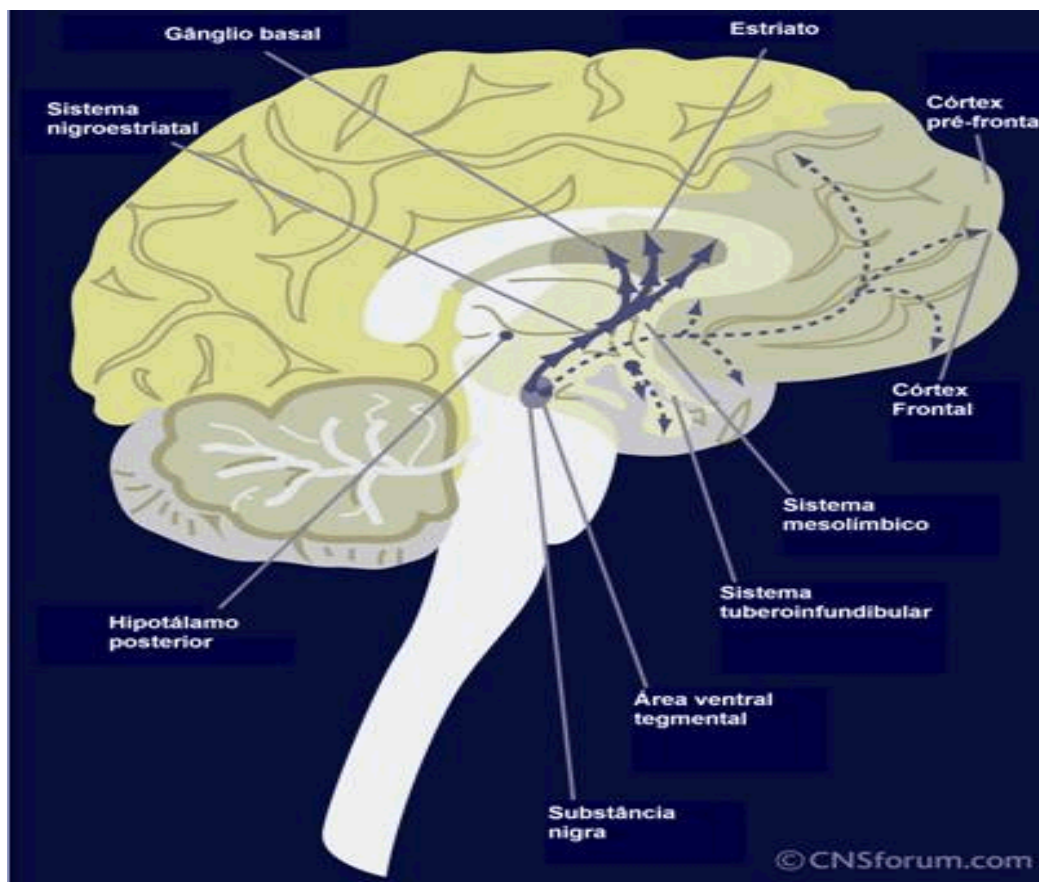


Figura 4 – Vias dopaminérgicas no cérebro

Fonte: <http://www.uff.br/sbqrio/novidades/Novidades2009/imagens/Parkinson3.gif>.

Os agonistas dopaminérgicos são drogas que estimulam diretamente os receptores pós-sinápticos da dopamina. Técnicas modernas de biologia molecular permitiram conhecer, até o presente momento, cinco tipos de receptores dopaminérgicos: D₁, D₂, D₃, D₄ e D₅ (Quadro 1), estando organizados em dois grupos: o grupo D₁ ou D₁-símile e o grupo D₂ ou D₂-símile. O grupo D₁ está representado pelos receptores D₁ e D₅; o grupo D₂, pelos receptores D₂, D₃ e D₄. A definição desses dois grupos está baseada na ligação com os mecanismos de transdução. Os pertencentes ao grupo D₁, estimulam a enzima adenilato ciclase e aumentam o nível intracelular de AMP cíclico enquanto os do grupo D₂ inibem essa enzima e diminui o AMP cíclico intracelular (Figura 5). Os receptores dopaminérgicos estão distribuídos anatomicamente em áreas ditas principais ou de alta densidade. Devido à localização principal de D₁ e de D₂ no núcleo caudado, no putâmen e no núcleo accumbens, acredita-se que esses receptores exerçam um papel no comportamento motor. Assim, a regra geral é de que estimulando os receptores D₁ e D₂ (ação agonista) ocorra efeito antiparkinsoniano. A

maioria dos agonistas dopaminérgicos, eficazes como antiparkinsonianos, atuam no receptor D₂ (em animais e em humanos) (MATTOS; MATTOS, 1999).

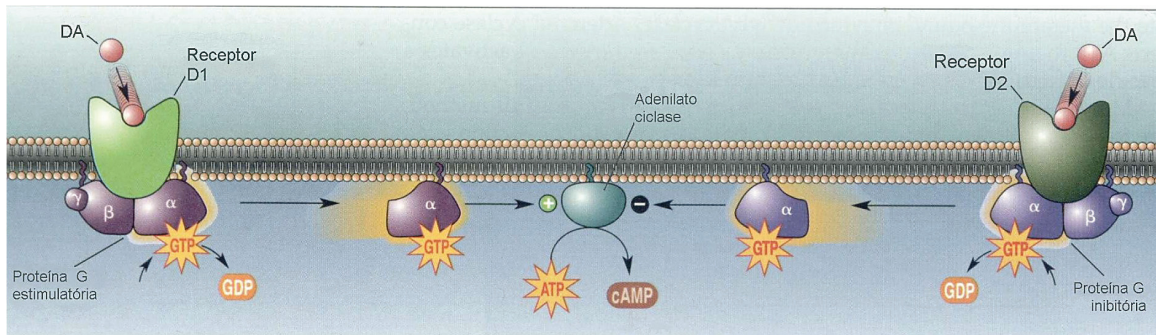


Figura 5 - Estimulação e inibição da adenilato ciclase pelas diferentes famílias de receptores dopaminérgicos (D1-LIKE E D2-LIKE). DA (DOPAMINA), ATP (Adenosina Trifosfato), CAMP (Adenosina Monofosfato Cíclico), GTP (Guanosina Trifosfato), GDP (Guanosina Difosfato).

Fonte: Neves *et al.* (2004)

		D ₁	D ₅	D ₂	D ₃	D ₄
Córtex	Reatividade, Humor	+++	-	++	-	+
Sistema Límbico	Emoção, Comportamento Estereotipado	+++	+	++	+	
Estriado	Controle motor	+++	+	++	+	+
Hipotálamo ventral e adeno- hipófise	Secreção de prolactina	-	-	++	+	-
Transdução de sinais		↑AMPc	↑AMPc	↓AMPc e/ou ↑IP ₃	↓AMPc e/ou ↑IP ₃	↓AMPc e/ou ↑IP ₃
Efeito		Inibição pós- sináptica	Inibição pós- sináptica	Inibição pré- e pós-sináptica Ativação/ inibição da secreção de hormônios	Inibição pré- e pós- sináptica Ativação/ inibição da secreção de hormônios	Inibição pré- e pós- sináptica Ativação/ inibição da secreção de hormônios

IP₃ – trifosfato de inositol

Quadro 1 – Receptores de Dopamina

Fonte: Rang *et al.* (2007)

1.5.4 Sistema Noradrenérgico

Quanto ao sistema noradrenérgico, vale salientar que assim como outros diversos sistemas de receptores do SNC são modulados pelas proteínas G, incluindo os receptores noradrenérgicos e classificados farmacologicamente em subtipos α e β . Os estudos subseqüentes com agonistas e antagonistas confirmaram a existência de dois subtipos principais de receptores α -adrenérgicos (α_1 e α_2) e três subtipos de receptores β -adrenérgicos (β_1 , β_2 e β_3) (BYLUND, 1994).

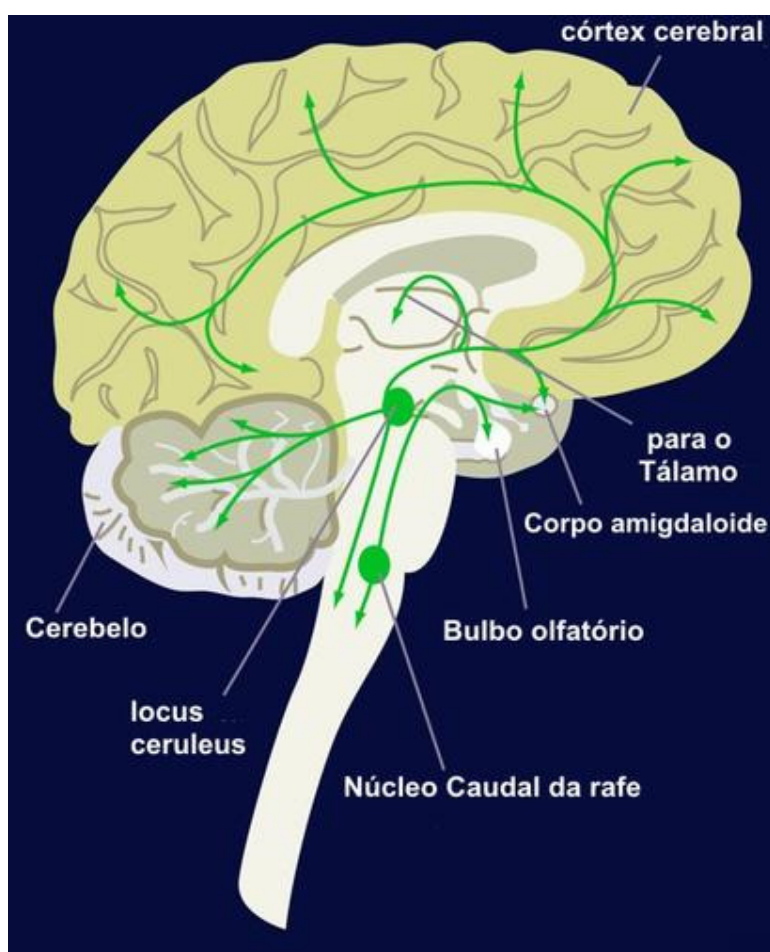


Figura 6 – Via noradrenérgica no cérebro

Fonte: <http://fotolog.terra.com.br/neuroclinica:31>.

Os principais centros dos neurônios noradrenérgicos são no *locus ceruleus* e no núcleo caudado da rafe (NCR). Essas vias projetam-se de forma ascendente para o córtex

frontal, tálamo, hipotálamo e sistema límbico. A noradrenalina é também transmitida do *locus ceruleus* para o cerebelo. Sabe-se também que há inervações projetam-se do NCR ascendendo para amígdala, havendo também projeções descendentes (PINEL, 2005).

1.6 Úlcera gástrica

1.6.1 Considerações Gerais

Define-se úlcera como uma abertura na mucosa do sistema digestório que se estende através da musculatura da mucosa à submucosa ou mais profundamente. Úlcera péptica é uma denominação genérica comumente utilizada para designar lesões agudas ou crônicas que ocorrem em qualquer local do trato gastrintestinal exposto à ação agressiva dos sucos pépticos ácidos. As lesões são geralmente únicas, com menos de quatro centímetros, localizadas mais freqüentemente na primeira parte do duodeno e no antro gástrico (D'ACAMPORA *et al.*, 2008).

A incidência mundial de doença ulcerosa péptica é estimada em 1.500 a 3.000 por 100.000 habitantes por ano (ZITTEL; JEHLE; BECKER, 2000). A prevalência da úlcera difere ao redor do mundo, com a úlcera duodenal (UD), predominando nos países ocidentais e as úlceras gástricas (UG), sendo mais freqüentes na Ásia, especialmente no Japão. Embora a incidência da doença ulcerosa péptica nos países ocidentais tenha declinado nos últimos 100 anos, 1 em cada 10 americanos continuava a ser por ela afetado (SAUL *et al.*, 2007).

Até pouco mais de uma década, acreditava-se que a origem da gastrite, úlcera gástrica, duodenite e úlcera duodenal era atribuída basicamente ao desequilíbrio entre mecanismos de defesa do hospedeiro e secreção ácida (KODAIRA *et al.*, 2002). Hoje, sabe-se que a úlcera péptica é uma doença comum do trato gastrointestinal e a sua patogênese é multifatorial, podendo estar relacionada com processos infecciosos, incluindo infecções pelo *Helicobacter pylori*, assim como também com o aumento da concentração de ácido gástrico e de pepsina, alterações na motilidade gastroduodenal, hábitos de vida como o tabagismo, ingestão de bebida alcoólica, hábitos alimentares inadequados e estresse. Todas essas ações contribuem para o desequilíbrio entre os fatores agressores e protetores do estômago (BELAICHE *et al.*, 2002).

1.6.2 Fatores Protetores

O nosso organismo é capaz de produzir substâncias bem conhecidas que servem para proteção da mucosa gástrica. Dentre eles temos, fatores secretados no lúmen: ácido gástrico, bicarbonato, muco, imunoglobulinas e outras substâncias antibacterianas (WALLACE; GRANGER, 1996).

A barreira formada por muco, fosfolipídios e bicarbonato, a constante renovação das células epiteliais gástricas, a contínua geração de prostaglandinas (PGs), inervação neuronal da mucosa gástrica e a manutenção de uma eficiente microcirculação local constituem os principais fatores de proteção da mucosa gástrica (ADEYEMI *et al.*, 2005).

Dentre esses fatores, a barreira formada por muco, bicarbonato e fosfolipídios constitui a primeira linha de defesa da mucosa gástrica e tem papel estrutural importante na sua proteção. Esta barreira funciona como um micro-ambiente estável que retém íons bicarbonato secretados e, assim, mantém o pH aproximadamente neutro na superfície das células epiteliais mesmo frente ao ácido gástrico. O muco produzido no epitélio gástrico impede a retrodifusão dos íons H^+ . Além disso, age como proteção física que impede a pepsina de atingir e causar proteólise ao epitélio gástrico (BEEJAY; WOLFE, 2000).

Já as prostaglandinas protegem a mucosa gástrica através do estímulo à produção de muco e de bicarbonato, que, como já foi dito anteriormente, formam uma camada protetora da mucosa contra ulcerações (SGARBIERI, 2004).

Ainda existe a linha de defesa representada pelo sistema imune, que consiste de várias “células de alarme”, como os mastócitos e macrófagos, que reconhecem a entrada de invasores na mucosa e produzem uma resposta inflamatória apropriada (WALLACE; GRANGER, 1996).

Além destes fatores de proteção, há também a forma constitutiva do óxido nítrico, que tem um papel chave na perfusão e regulação vascular por promover a vasodilatação pela sinalização da célula muscular lisa via GMPc. Ele está relacionado por promover reparos na mucosa gástrica, mantendo a barreira protetora da mucosa gástrica. Esse mecanismo protetor do NO pode ser devido a sua capacidade em aumentar do fluxo sanguíneo da mucosa e

estabilizar a influência dos mastócitos (ALICAN *et al.*, 1996). Além disso, reduz a secreção ácida (TAKEUCHI *et al.*, 1990) e promove a angiogênese (MA; WALLACE, 2000). Entretanto, o excesso na produção de NO associado com estados inflamatórios é caracterizado pelo aumento na permeabilidade epitelial e perda da função da barreira de muco. (TWARDOWSCHY, 2007).

Os antioxidantes são substâncias que neutralizam ou previnem a oxidação de substâncias oxidáveis. O aumento deles pode causar a varredura de espécies reativas de oxigênio (ERMOs), ativando a barreira de proteínas detoxificantes, como, por exemplo, a glutathione redutase, ou prevenindo a geração de radicais livres (HALLIWELL; GUTTERIDGE; CROSS, 1992). Os ERMOs estão relacionados com a gênese de algumas patologias, como, por exemplo, a úlcera gástrica (DAS *et al.*, 1997).

Sob condições de estresse oxidativo, o GSH reduz as espécies reativas do oxigênio (ERMOs), desta forma, o GSH atua neutraliza a ação de radicais livres e substâncias tóxicas ingeridas com a comida ou produzidas diretamente no trato gastrointestinal (SHIRIN *et al.*, 2001), minimizando as lesões gástricas provocadas por radicais livres.

1.6.3 Fatores Agressores

A infecção por *Helicobacter pylori* e o uso de AINEs são as principais causas de ulceração do estômago e duodeno e suas complicações. O *Helicobacter pylori* é uma bactéria gram-negativa bastante estudada tanto por sua alta prevalência na população do mundo, quanto pela sua relação com gastrites, úlceras e câncer gástrico (RODRIGUES; CORVELO; FERRER, 2007). A referida bactéria coloniza o estômago humano, através da aderência às células epiteliais gástricas. Para realizar o processo de aderência são necessários receptores que se encontram nas células do hospedeiro, além de adesinas existentes na superfície das bactérias. Estudos demonstram que existem proteínas de membranas externas que foram identificadas como estando implicadas na aderência às células epiteliais gástricas, nomeadas, BabA, SabA, SabB e HopZ (CARVALHO *et al.*, 2006).

No início a idéia de que uma bactéria poderia colonizar um ambiente tão ácido quanto o estômago foi combatida; porém este organismo possui mecanismos que possibilitam

neutralizar o ambiente gástrico, a partir da atividade da enzima urease que produz a amônia e dióxido de carbono a partir da uréia. O *H. pylori* possui ainda proteases que desmembram as glicoproteínas da camada mucosa e expõem as células epiteliais às ações lesivas do ácido e da pepsina (GIBALDI, 1995). Paralelo a isto, as células produtoras de somatostatina, inibidor da secreção de gastrina, estão diminuídas na infecção por *H. pylori* o que pode contribuir para a secreção de ácido aumentada (HOOGERWERF; PASRICHA, 2004).

Sabe-se também que para o desenvolvimento da úlcera péptica, assim como de outras patologias gástricas, a presença de ácido é um fator fundamental (BELAICHE *et al.*, 2002) e o aumento de sua produção propicia o surgimento de lesão. Em algumas condições, como no estresse emocional, há aumento de sua produção. A úlcera de estresse define as lesões erosivas ou ulceradas da mucosa gástrica, associadas a estresse fisiológico extremo. Nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI), atualmente estima-se uma incidência de 1,5% de sangramento digestivo clinicamente importante e é secundário à úlcera de estresse.

O estresse induz a peroxidação lipídica a partir do aumento dos níveis de peroxidase lipídica. A consequência desse processo é o aumento da geração de espécies reativas de oxigênio, ocasionando, conseqüentemente, dano oxidativo que é o fator comum na patogenia clínica de úlcera (GOEL; BHATTACHARYA, 1991; SAIRAM *et al.*, 2002). Neste contexto, há redução da capacidade protetora da mucosa gástrica, com redução da secreção de muco gástrico e bicarbonato na luz intestinal, além da inibição da reciclagem das células do estômago (MACHADO- VIEIRA *et al.*, 2006).

Outros fatores relacionados ao aparecimento de úlcera gástrica são o consumo de fumo, consumo de álcool, uso de antiinflamatórios-não-hormonais (AINES), incluindo o ácido acetilsalicílico (AAS), cloreto de potássio, medicamentos imunossupressores e a queda dos níveis de prostaglandinas relacionados com a idade (SAUL *et al.*, 2007).

A alteração no fluxo sangüíneo da mucosa é outro fator de grande importância na gênese das lesões gástricas. O fluxo sangüíneo pode ser severamente alterado por ação de drogas, como o ácido acetilsalicílico, etanol e pela entrada de agentes luminiais, como ácido e pepsina (ROBBINS, 1998). A cicatrização das lesões fica comprometida devido à redução do fluxo sangüíneo na mucosa causada por estes agentes (BOOTHE, 1999).

1.6.4 Etanol e Úlcera Péptica

A indução de úlceras gástricas induzidas por etanol em ratos é considerada uma ferramenta confiável para o estudo da patogênese da ulceração aguda da mucosa gástrica. A exposição ao etanol, de forma dose-dependente, aumenta a extensão do dano celular (MUTOH *et al.*, 1990).

A patogênese da lesão da mucosa gástrica induzida pelo etanol é complicada por envolver necrose de celulares superficiais, bem como a participação de vários mediadores derivados de tecidos. Estes agem sobre a microvasculatura gástrica, provocando uma série de eventos que levam a lesões celulares aos tecido da mucosa e submucosa (OATES; HAKKINEN,1988).

Uma das lesões iniciais presentes na microvasculatura, após o uso do etanol, segundo Yonei e Guth (1991), seria a isquemia. Os mediadores endógenos para o início da lesão vascular da mucosa gástrica são: o óxido nítrico (MASUDA *et al.*, 1995), leucotrienos (YONEI; GUTH 1991; PIHAN; ROGERS; SZABO, 1998), a histamina (MORINI *et al.*, 1998), adenosina (NAGATA *et al.*, 1996), TNFa (FERRAZ *et al.*, 1997) e endotelinas (SZABO *et al.*, 1998).

Sabe-se também que o etanol, após ser metabolizado, libera ânion superóxido e hidroxila e que estes radicais livres estão envolvidos no mecanismo da dor aguda e crônica na ulceração na mucosa gástrica (PIHAN *et al.*, 1987).

Os radicais livres medeiam à injúria no tecido estimulando a peroxidação dos lipídios, provocando lesões na membrana celular através da coagulação de proteínas, lipídios e ácidos nucléicos. As lesões histopatológicas mais evidenciadas são congestão, edema, hemorragia, erosão e necrose (AL-SHABANAH *et al.*, 2000; LA CASA *et al.*, 2000).

A depleção de GSH e o aumento da peroxidação lipídica são fatores reconhecidos que contribuem para o desenvolvimento das lesões gástricas causadas pelo etanol. Ademais, distúrbios na secreção gástrica, destruição da barreira protetora de muco e bicarbonato, alterações na permeabilidade, esgotamento gástrico também são observados após a administração de etanol (SALIM, 1990).

1.6.5 DAINES e Úlcera Péptica

As drogas antiinflamatórias não esteroidais (AINEs) são amplamente utilizadas no tratamento da dor, febre e inflamação. No entanto, essas drogas possuem diversos efeitos colaterais, principalmente no trato gastrointestinal, como erosões da mucosa gástrica, ulcerações, sangramento e perfurações (WALLACE, 2001).

É amplamente conhecido, porém, que os AINEs tem seus efeitos benéficos devido sua capacidade de bloqueio da ciclooxigenase (COX), inibindo assim a produção de prostaglandinas (PG) (VANE; BOTTING, 1998). Os efeitos adversos têm sido descritos tradicionalmente como resultado da inibição de Ciclooxigenase-1 (COX-1), a isoforma da enzima ciclooxigenase que catalisa a síntese contínua de prostaglandinas gastroprotetoras. Por outro lado, a inibição de Ciclooxigenase-2 (COX-2), a isoforma da enzima envolvida na resposta inflamatória, está ligada aos efeitos antiinflamatórios e analgésicos dos AINEs. A falta de seletividade dos AINEs tradicionais para uma determinada isoforma da COX, é a razão pela qual essas drogas são eficazes para o tratamento de estados inflamatórios e a dor associada, mas possuem elevada toxicidade gástrica. O desenvolvimento das úlceras gástricas associadas aos AINESs deve-se a inibição da COX-2, desencadeando o aumento da aderência de leucócitos ao endotélio vascular local, enquanto que a inibição da COX-1 está ligada à diminuição do fluxo sanguíneo da mucosa gástrica. Essas lesões estão relacionadas com aumento nos marcadores de infiltração de neutrófilos e intensa geração de radicais livres (WALLACE, 2001).

Além disso, está relacionada aos AINEs, a diminuição na secreção de muco, a inibição da secreção de bicarbonato, a redução no fluxo sanguíneo na mucosa gástrica, a alteração nas estruturas microvasculares, que proporcionam lesão microvascular (TAKEUCHI *et al.*, 1990), infiltração de neutrófilos e aumento da secreção ácida (WALLACE, 2001).

Uma outra importante causa de lesões da mucosa gastrointestinal induzida por AINE deve-se ao aumento de espécies reativas de oxigênio, como ânions superóxido e radicais hidroxilas (WHITTLE, 2003; POHLE *et al.*, 2001). Estes mecanismos, em associação com aqueles relacionados à supressão de prostaglandinas (PGs). As prostaglandinas são produtos do metabolismo do ácido araquidônico, e é produzida pela mucosa gástrica, aumentando na presença de agentes irritantes, e apresenta um papel citoprotetor importante, inibindo a

secreção ácida por reduzir a produção celular do monofosfato de adenosina (AMP) (BEEJAY; WOLFE, 2000).

De fato, em estudos anteriores, observou-se que erosões gástricas causadas por indometacina aumentavam a peroxidação lipídica e diminuição da atividade da glutathiona peroxidase (HALICI *et al.*, 2005).

2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

A fitoterapia é uma terapêutica popular milenar. Após o reconhecimento pela Organização Mundial de Saúde (OMS), na Conferência de Alma Ata em 1978, o aproveitamento das plantas medicinais foi ressaltado como parte do Programa Saúde Para Todos no Ano 2000 recomendando-se, inclusive a realização de mais estudos e a propagação do uso das plantas medicinais regionais como uma maneira de diminuir custos dos programas de saúde pública (YAMADA, 1998).

É nítido que há dificuldade do acesso por grande parcela da população para aquisição de fármacos e que há a dependência essencialmente de plantas medicinais para o cuidado com a saúde primária. Apesar disso, poucas plantas foram cientificamente estudadas para assegurar sua qualidade, segurança e eficácia (CALIXTO, 2005).

A hortelã é uma planta amplamente utilizada pela população e tem como constituinte majoritário o (-)-mentol. Este, por sua vez, já foi bastante estudado por suas diversas propriedades, porém, não foram encontrados estudos conclusivos sobre sua ação no sistema nervoso central. Neste sentido, há citações de uso do mentol para fadiga mental, sendo, portanto, utilizado como psicoestimulante e há relatos de uso também como calmante e sedativo. Diante disso, objetivou-se neste estudo investigar as ações do mentol no SNC, considerando que apesar de usado popularmente, seu uso é dúbio e não muito claro. Um outro amplo uso do mentol, desde os tempos antigos, é para o desconforto gástrico. Mas, até onde se sabe, não há subsídios científicos que confirmem esta propriedade. Com base nestas considerações, é também proposta deste trabalho investigar ação do mentol na úlcera gástrica.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar as ações do mentol no sistema nervoso central e nas úlceras gástricas, através do estudo das alterações comportamentais em diferentes modelos, já padronizados, de depressão, ansiedade, convulsão, sedação e gastroproteção em camundongos.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar os efeitos do mentol:

- ✓ Seus efeitos sobre depressão, ansiedade e atividade motora;
- ✓ Na participação dos sistemas dopaminérgico e noradrenérgico no nado forçado e no campo aberto;
- ✓ Na convulsão, utilizando o modelo de convulsão induzido por pentilenotetrazol (PTZ);
- ✓ Possível atividade sedativa/hipnótica;
- ✓ No modelo de úlcera aguda induzida por etanol e por indometacina, investigando a possível participação do óxido nítrico (NO), glutatona reduzida (GSH) e canais de potássio ATP-dependentes (K^+ ATP).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Material

Os cristais de (-)-mentol (Fig. 7) foram comprados na Usina Colombina S. A., Bebedouro-SP e fornecidos pelo Prof. Dr. Damião Pergentino de Souza do grupo de pesquisa do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Sergipe.



Figura 7 – Cristas de (-)- Mentol

Fonte: http://img.mercadolivre.com.br/jm/img?s=MLB&f=81499347_6962.jpg&v=E.

4.2 Animais

Foram utilizados camundongos *Swiss* (20-25 g), adultos, do sexo masculino, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará e do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia. Os animais foram mantidos em caixas de propileno, acondicionados em temperatura ambiente (26 ± 1 °C) e submetidos ao ciclo claro/escuro de 12 em 12 h, onde receberam ração do tipo padrão e água *ad libitum*. Os experimentos foram realizados conforme as diretrizes atuais para o cuidado dos animais de laboratório e de orientações éticas para a investigação de dor experimental em animais conscientes (ZIMMERMANN, 1983). Nos experimentos em que a via oral era utilizada para absorção do fármaco, os animais foram colocados em jejum de sólidos de 12 horas. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) desta universidade.

4.3 Drogas e Reagentes

Quadro 2. Drogas e reagentes utilizados durante os procedimentos experimentais

Drogas/Reagentes	Origem
Água Destilada	Deionizador
Álcool etílico P.A.	Quimex, Brasil
Bupropiona	Zyban®, Glaxo-Wellcome
Carboximetilcelulose	Merck
Ciproeptadina	Sigma
Diazepam	União Química Brasil
Imipramina	Imipra®, Cristália
Indometacina	Sigma
Ioimbina	Sigma
Glibenclamida	Sigma
L-NAME	União Química
(-)-Mentol	Usina Colombina S. A
N-acetilcisteína	Sigma
Pentilenotetrazol	Abbot
Pentobarbital	Cristália
Ranitidina	Cristália
SCH 23390	Sigma
Sulpirida	Equilid®, Aventis Pharma
Tween 80 – Polyoxyethylene Sorbitan Mono-oleate	Sigma

4.4 Equipamentos

Quadro 3 – Equipamentos utilizados durante os procedimentos experimentais

Equipamentos	Origem
Balança Analítica	Modelo H5, Mettler, Suíça
Balança para animais	Filizola, Brasil
Campo Aberto	Fabricado no próprio laboratório
Cronômetro	Incoterm, Brasil
Deionizador	USF, Elga, USA
Equipamento do <i>Rota Rod</i>	Ugo Basile, Italy
Labirinto em cruz elevado	Fabricado no departamento
Pipetas Automáticas	H.E., Dinamarca
Recipiente do Nado Forçado	Fabricado no próprio laboratório
Sonicador	Modelo PT 10-35. Brinkmann Instruments Inc., USA
Vidrarias	Pirex, Brasil

4.5 Preparo das drogas

O mentol (Ment) foi dissolvido com Tween 80 a 2% e diluída em água destilada, obtendo-se a concentração final de 1, 2,5 e 5,0 mg/mL para ser administrada nas doses 10, 25 e 50 mg/kg, respectivamente. Os grupos controles receberam veículo (água destilada emulsificada a 2% com Tween 80). As drogas utilizadas ao longo dos experimentos tais como, diazepam (1 e 2 mg/kg), imipramina (10 e 30 mg/kg), bupropiona (10 e 30 mg/kg), pentobarbital sódico (40 mg/kg), pentilenotetrazol (100 mg/kg), SCH 23390 (15 µg/kg), sulpirida (50 mg/kg), ioimbina (1 mg/kg), prazosina (1 mg/kg), etanol absoluto (0,2 mL), ciproeptadina (10 mg/kg), indometacina (20 mg/kg, dissolvida em 0,5% de carboximetilcelulose e diluída em água destilada), ranitidina (20 mg/kg), NG-nitro-L-arginina-metilester (L-NAME, 10 mg/kg) e N-acetilcisteína (750 mg/kg) foram dissolvidas e diluídas diretamente em água destilada. O volume total de solução administrada nos animais foi de 10 mL/kg.

4.6 Tratamento dos grupos experimentais

Os animais foram tratados com mentol, de forma aguda, nas doses de 25 e 50 mg/kg através da via intraperitoneal (i.p.), para o estudo da atividade no sistema nervoso central, sendo que também foi feita a dose de 10 mg/kg no teste do nado forçado e do campo aberto, e da oral (v.o.), utilizou-se doses de 100 e 200 mg/kg para avaliação da atividade gastroprotetora. Os animais foram submetidos aos testes 30 ou 60 minutos (min) após o tratamento intraperitoneal ou oral, respectivamente.

Para a avaliação da atividade antidepressiva, foi utilizada a imipramina na dose de 10 e 30 mg/kg, i.p., no teste do nado forçado e da suspensão da cauda, respectivamente, e bupropiona 10 e 30 mg/kg, i.p., no teste nado forçado e campo aberto, simultaneamente, como padrões positivos. Como referência ansiolítica, foi utilizado diazepam 1 mg/kg, i.p., no teste do labirinto em cruz elevado, e, diazepam 2 mg/kg, i.p., no campo aberto. Diazepam 2 mg/kg, i.p., foi usado também no modelo do *rota rod*, como padrão para atividade relaxante muscular, assim como diazepam 1 mg/kg, i.p., foi ainda utilizado nos modelos de tempo de sono induzido por pentobarbital e convulsão induzida por pentilenotetrazol como padrão para atividade sedativa e anticonvulsivante, respectivamente.

Para avaliação de uma possível atividade antiulcerogênica de (-)-mentol foi utilizado o etanol para indução de úlcera e mentol nas doses de 100 e 200 mg/kg e a ciproceptadina 10 mg/kg, v.o., foi utilizada como padrão positivo. A indometacina 20 mg/kg, v.o., foi usada na indução de úlcera gástrica por drogas antiinflamatórias não esteroidais, sendo a ranitidina 20 mg/kg, v.o., empregada como padrão positivo. Já para avaliar a participação de NO no efeito gastroprotetor, foram utilizados mentol 200 mg/kg e L-NAME 10 mg/kg, i.p., . A glibenclamida 10 mg/kg, v.o., foi usada para verificação da participação dos canais de potássio ATP-dependentes no efeito gastroprotetor e o diazóxido 3 mg/kg, i.p., como padrão positivo. N-acetilcisteína 750 mg/Kg, v.o., foi utilizada como padrão positivo na dosagem de GSH.

4.7 Protocolo Experimental

4.7.1 Avaliação da Atividade no Sistema Nervoso Central

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

4.8 Avaliação da Atividade Gastroprotetora

Os animais após permanecerem desprovidos de alimentos por 12 horas, foram tratados com mentol nas doses de 100 ou 200 mg/kg. Uma hora após o tratamento, as lesões gástricas foram induzidas por álcool e indometacina. Após uma hora da administração de etanol e 6

horas de indometacina, os camundongos foram sacrificados, através de deslocamento cervical, posteriormente, os estômagos foram removidos, abertos pela grande curvatura, lavados com salina a 0,9% e comprimidos por dois vidros de relógio para uma melhor visualização.

4.9 Avaliação da Atividade Antidepressiva

4.9.1 Teste do Nado Forçado

No teste do nado forçado (PORSOLT *et al.*, 1977), os tanques cilíndricos são transparentes, medindo 22 cm de diâmetro e 40 cm de altura. A água está em temperatura ambiente ($25 \pm 1^\circ \text{C}$) até a metade do tanque, cerca de 20 cm. Após 30 ou 60 minutos dos tratamentos i.p. ou v.o., respectivamente, os animais foram colocados, um por vez, no tanque onde o parâmetro observado foi o tempo de imobilidade, em segundos, durante cinco minutos. O animal foi considerado imóvel quando permaneceu flutuando na água, fazendo apenas movimentos suaves necessários para manter a cabeça acima da água (Figura 8).

Com a finalidade de investigar o mecanismo de ação da atividade anti-imobilidade do mentol e o envolvimento com receptores dopaminérgicos, os animais foram pré-tratados com sulpirida, antagonista D_2 , (SPD; 50 mg/kg, i.p.) ou SCH 23390, antagonista D_1 , (SCH; 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.p.) 30 minutos antes da administração de mentol (50 mg/kg, v.o.), veículo (água destilada + 2% Tween 80, v.o.) ou bupropiona (30 mg/kg, v.o.). Depois de 60 minutos da administração de ment-50, veículo ou bupropiona, os animais foram colocados no cilindro com água onde o tempo de imobilidade por 5 minutos foi avaliado.

Na investigação do envolvimento do sistema noradrenérgico, foram utilizados prazosina (PRA; 1 mg/kg; i.p.), antagonista dos receptores α_1 -adrenérgicos, ou ioimbina (IOIM; 1mg/kg; i.p.), antagonista dos receptores α_2 -adrenérgicos e como padrão positivo a imipramina (10 mg/kg, i.p.).

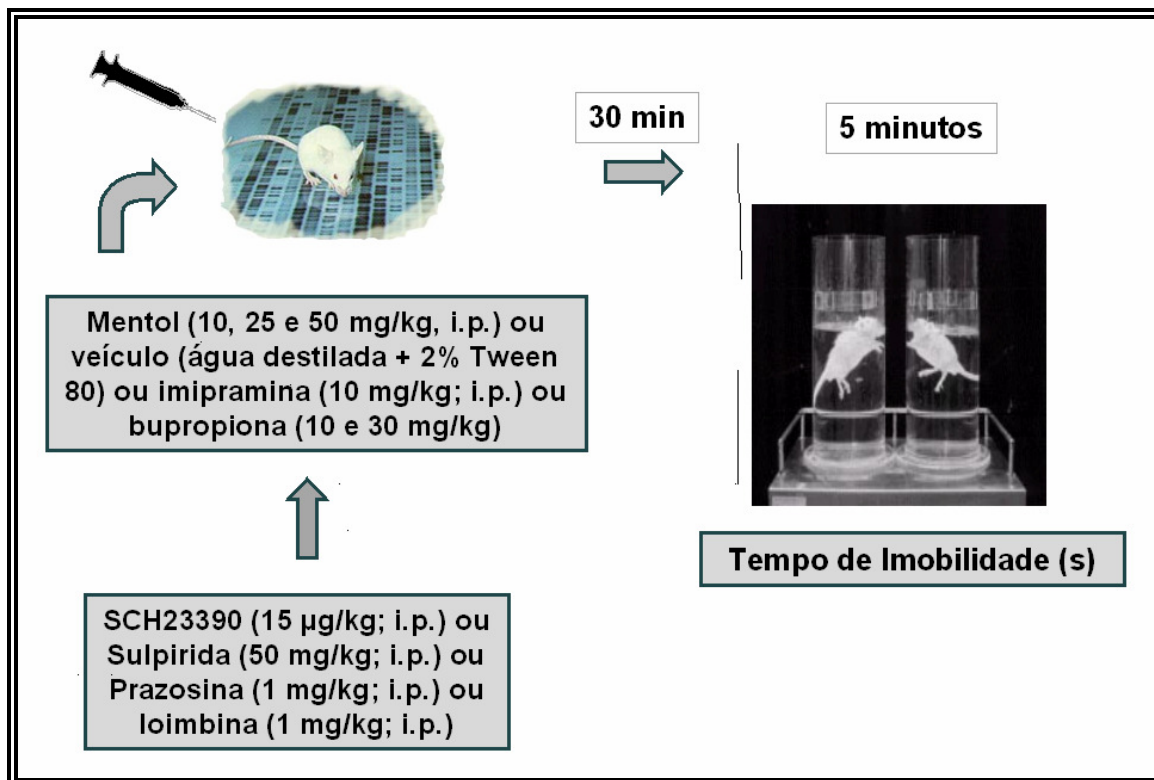


Figura 8 – Esquema do Teste do Nado Forçado

4.9.2 Teste da Suspensão da Cauda

O método seguido foi o proposto por Steru *et al.* (1985). Após 30 ou 60 min do tratamento i.p. ou v.o., respectivamente, os animais foram suspensos, presos com uma fita adesiva a cerca de 1 cm da ponta da cauda, numa plataforma 58 cm acima da bancada. O tempo de imobilidade do animal, em segundos, foi observado durante 6 minutos. Neste experimento foram utilizados os seguintes grupos: imipramina (30 mg/kg, i.p.), veículo (i.p. ou v.o.) ou mentol (25 e 50 mg/kg; i.p ou v.o.) (Figura 9).

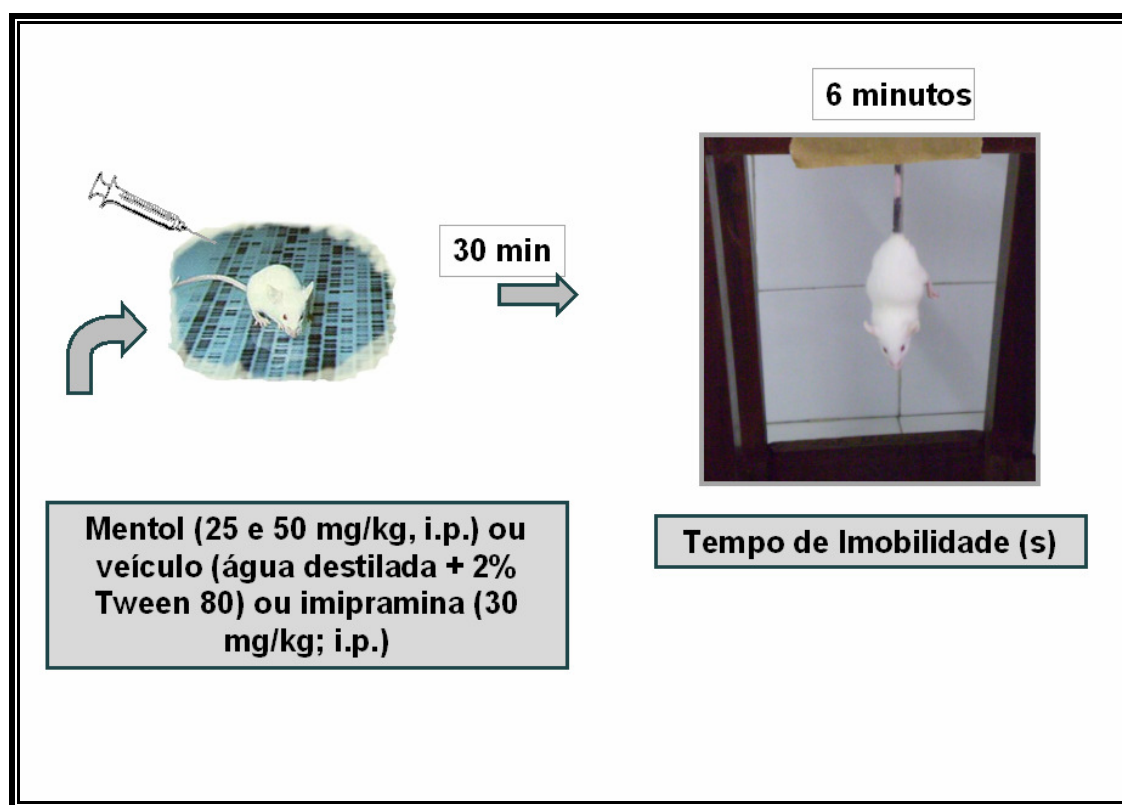


Figura 9 – Esquema do Teste da Suspensão da Cauda

4.10 Avaliação da Atividade Ansiolítica

4.10.1 Teste do Campo Aberto

O campo aberto foi utilizado para avaliar a atividade exploratória do animal (ARCHER, 1973). O teste consiste em observar o número de travessias de cada animal, durante 5 minutos. O aparato para camundongos é feito de acrílico (paredes transparentes e piso preto, 30 x 30 x 15 cm) e dividido em 9 quadrantes iguais. Após 30 ou 60 minutos dos tratamentos i.p. ou v.o., respectivamente, os animais, um por vez, foram colocados no centro do campo aberto. Os parâmetros observados foram: ALE (atividade locomotora espontânea), ou seja, o número de quadrantes atravessados com as quatro patas cruzando cada área, “*grooming*” (número de comportamentos de autolimpeza) e “*rearing*” (número de comportamento exploratório vertical) (Figura 10).

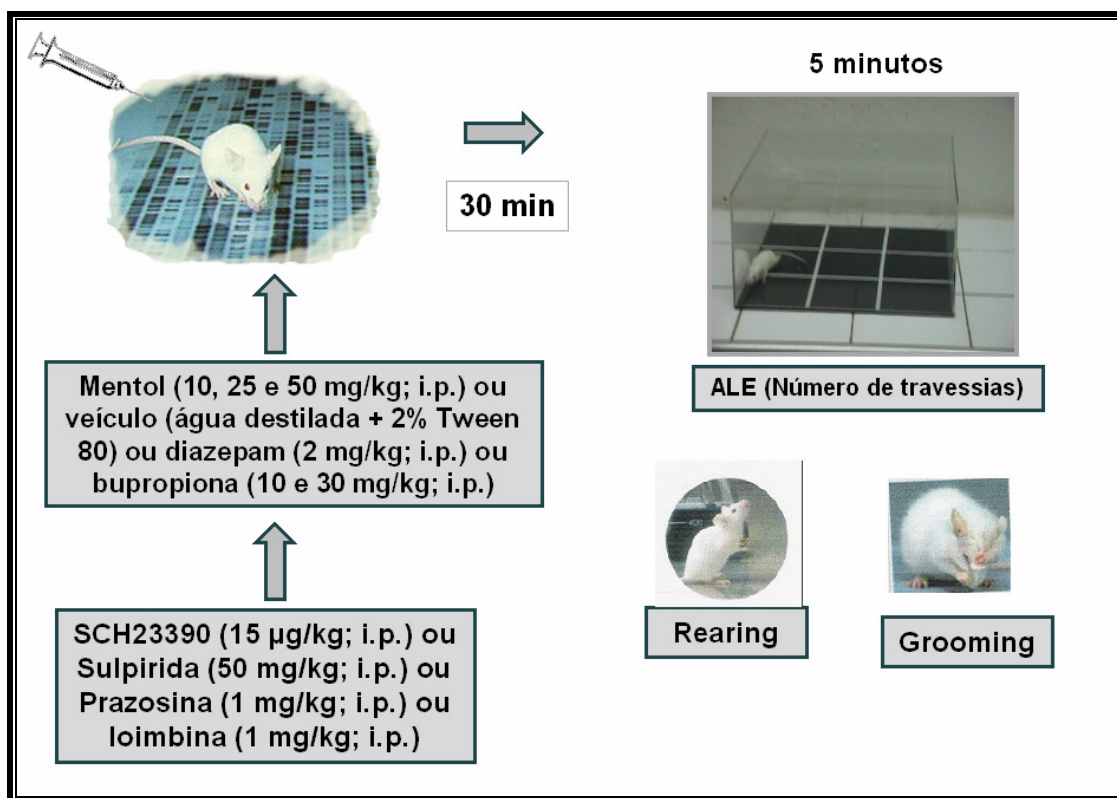


Figura 10 – Esquema do Teste do Campo Aberto

4.10.2 Teste do *Rota Rod*

O teste do *rota rod* mede o efeito de relaxamento muscular ou incoordenação motora produzido por drogas no animal (CARLINI; BURGOS, 1979). O animal foi colocado com as quatro patas sobre uma barra de 2,5 cm de diâmetro, elevada a 25 cm do piso, em uma rotação de 12 rpm. Para cada animal foi registrado o tempo de permanência na barra giratória, em segundos (s), em um período de até 1 minuto (DUNHAM; MIYA, 1957) (Figura 11).

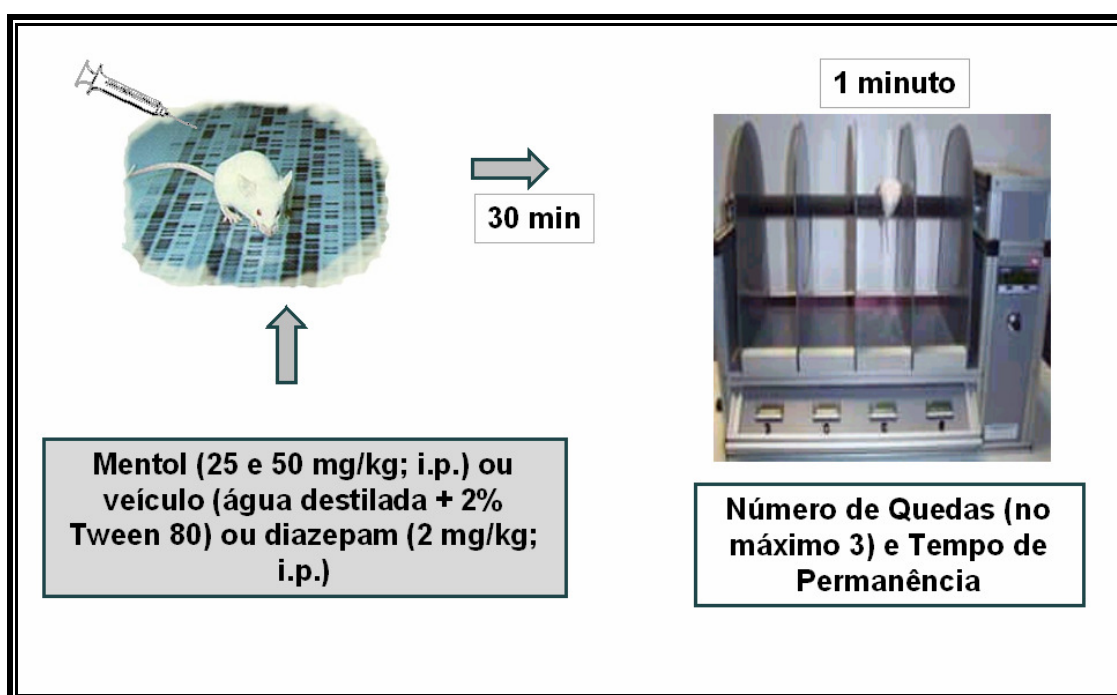


Figura 11 – Esquema do Teste do *Rota Rod*

4.10.3 Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE)

O labirinto em cruz elevado para camundongos (LISTER, 1987) consiste de dois braços abertos (30 x 5 cm) e dois fechados (30 x 5 x 25 cm) posicionados perpendicularmente. Os braços abertos e fechados estão conectados por uma plataforma central (5 x 5 cm). A plataforma, as paredes laterais dos braços fechados são confeccionadas em acrílico transparente e o chão em acrílico preto.

O aparelho está elevado a uma altura de 45 cm do nível do chão. Após 30 ou 60 minutos dos tratamentos i.p. ou v.o., respectivamente, os animais foram posicionados no centro do aparelho com o focinho voltado para um dos braços fechados.

Durante 5 minutos foram observados os seguintes parâmetros: número de entradas nos braços abertos e fechados e o tempo de permanência em cada um deles. A frequência total de entradas é 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 nos braços abertos é calculada dividindo-se a frequência de entradas nos braços abertos pela frequência total de entradas, e esse índice multiplicado por 100.

De maneira semelhante é calculada a percentagem do tempo em que os animais permanecem nos braços abertos. Dessa forma, os parâmetros levados em consideração para análise estatística são: número de entradas nos braços abertos (NEBA), tempo de permanência nos braços abertos (TPBA), percentagem de entrada nos braços abertos (PEBA) e percentagem do tempo de permanência nos braços abertos (PTBA) (Figura 12).

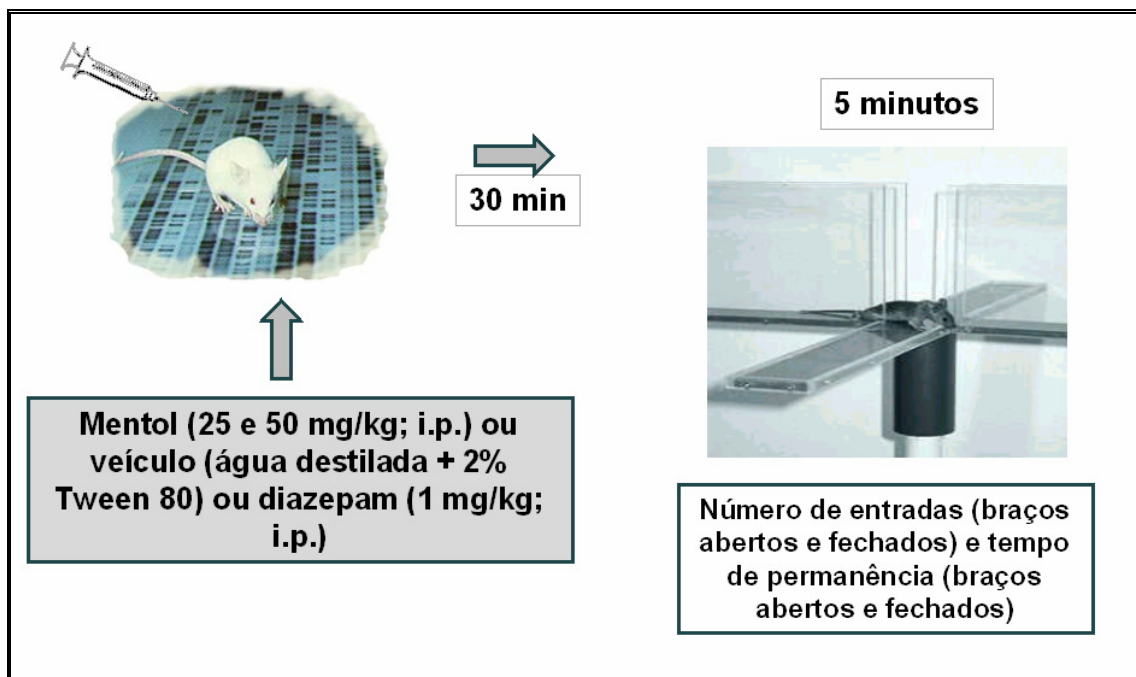


Figura 12 – Esquema do Teste do Labirinto em Cruz Elevado.

4.11 Avaliação da Atividade Sedativa/Hipnótica e Anticonvulsivante

4.11.1 Teste do Tempo de Sono Induzido por Pentobarbital

Os animais foram pré-tratados com mentol (25 e 50 mg/kg; i.p.), veículo (controle) ou diazepam (1 mg/kg, i.p.). Após 30 minutos dos tratamentos i.p., respectivamente, injetou-se pentobarbital sódico (PTB) na dose de 40 mg/kg, via i.p. Com o início da atividade do PTB, os animais foram colocados na posição de decúbito dorsal. O tempo desde a injeção do pentobarbital até o animal perder o reflexo postural é registrado como latência de sono e o tempo de latência entre a perda e a recuperação voluntária do reflexo postural é registrada como tempo de sono (WAMBEBE, 1985; ROLLAND *et al.*, 1991). O critério para a recuperação dos reflexos foi fixado quando o animal saiu da imposição por três vezes consecutivas (CARLINI *et al.*, 1986; MATTEI *et al.*, 1998). Um tempo máximo de 240 minutos foi estabelecido, ou seja, animais cujo tempo de sono ultrapassava esse valor, o mesmo foi mantido (Figura 13).

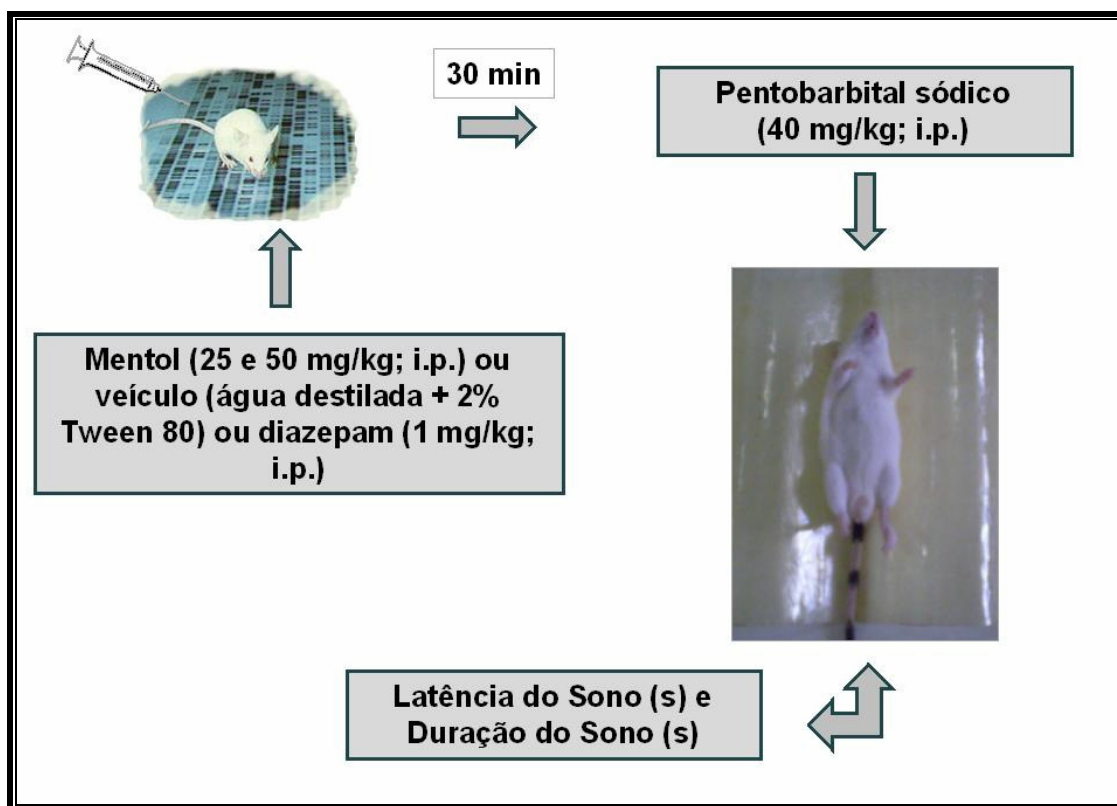


Figura 13 – Esquema do Teste do Tempo de Sono Induzido por Pentobarbital

4.11.2 Teste da Convulsão Induzida por Pentilenotetrazol

Esse experimento tem como objetivo avaliar a possível ação anticonvulsivante da droga em teste. O pentilenotetrazol (PTZ) 100 mg/kg, i.p. foi administrado como agente indutor das convulsões após o tratamento com mentol (25 e 50 mg/kg; i.p.), veículo (controle) ou diazepam (1 mg/kg, i.p.). Os animais foram colocados em gaiolas individuais e observados por um período de até 20 minutos. Os parâmetros analisados foram: latência da convulsão (tempo entre a administração do PTZ até a primeira convulsão clônica ou tônico-clônica), em segundos, e, a latência de morte dos animais (tempo decorrido da administração do PTZ até a morte), em segundos (Figura14).

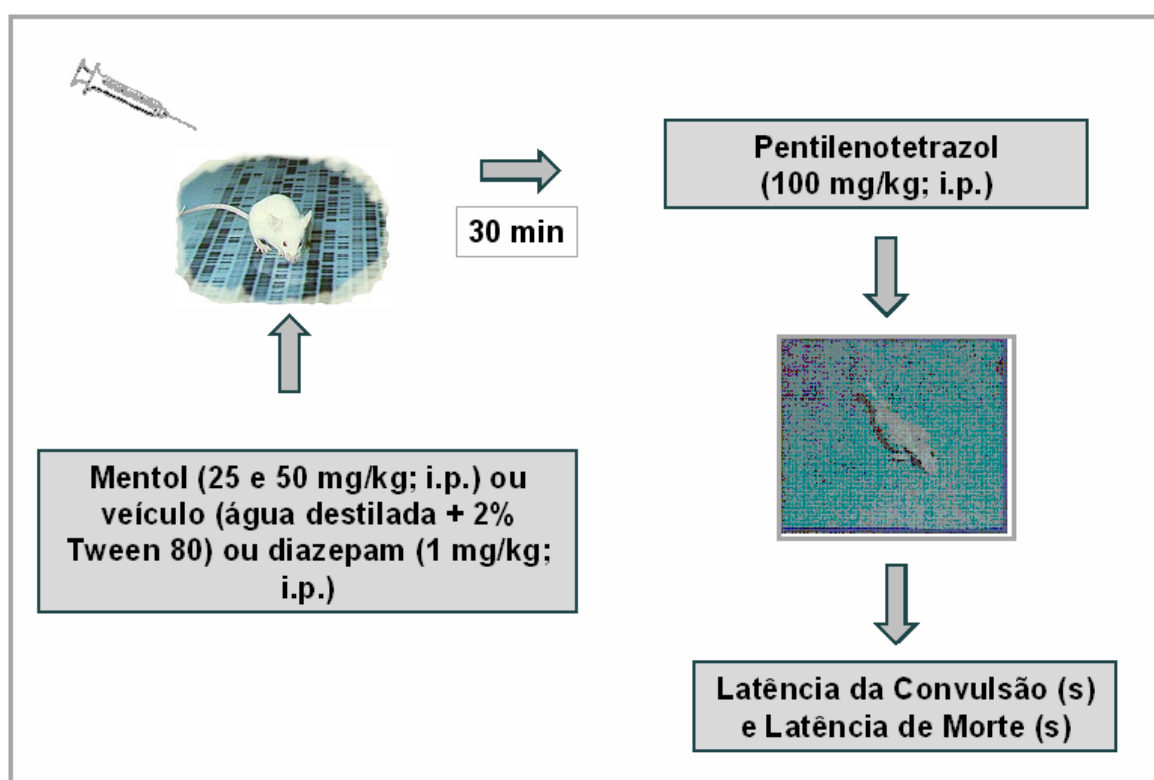


Figura 14 – Esquema do Teste da Convulsão Induzida por Pentilenotetrazol.

4.12 Avaliação da Atividade Gastroprotetora

4.12.1 Avaliação da Atividade Gastroprotetora do Mentol em Modelo de Úlcera Gástrica Induzida por Etanol em Camundongos

Para avaliação da atividade antiulcerogênica do mentol, utilizou-se o método previamente descrito por Robert *et al.* (1979). Neste método, é induzida a úlcera por administração oral de etanol absoluto em doses que induz significativamente ulceração gástrica.

A dose utilizada neste experimento foi de 0,2 mL de etanol absoluto em cada animal (n=07). Após um período de jejum de 12 h, os animais foram tratados com diferentes doses de mentol (100 e 200 mg/kg, v.o.) ou veículo (3 % de Tween 80, 10 ml/kg, v.o.). Os controles positivos receberam ciproceptadina, 10 mg/kg, i.p. (OHTAU *et al.*, 1999). Após uma hora dos tratamentos, os animais receberam oralmente 0,2 mL de etanol absoluto. Diferentes doses de mentol (100 e 200 mg/kg, v.o.) ou veículo foram administradas e não foram expostos ao etanol_{abs} a fim de se investigar se o mentol seria capaz de causar injúria por si só. Decorridos 30 min da administração do etanol, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e seus estômagos foram removidos.

Posteriormente, cada estômago foi aberto pela grande curvatura, lavado em solução salina 0,9 % e comprimido entre dois vidros de relógio para uma melhor visualização. O contorno das lesões da porção glandular do estômago foi traçado usando um papel filme transparente, como descrito previamente por Iwata *et al.* (1997). O percentual de área gástrica lesionada foi determinado com o auxílio de um programa de planimetria computadorizada (*ImageJ*). A área ulcerada foi expressa em termos de percentagem em relação à área total do corpo gástrico. As áreas lesionadas foram medidas por um único observador, que não conhecia a identificação dos grupos experimentais (estudo cego).

4.12.2 Lesões Gástricas Induzidas por Indometacina em Camundongos

Como descrito previamente por Molina *et al.* (2005) e Santos *et al.* (2005), as lesões gástricas podem ser induzidas pela indometacina (20 mg/kg, dissolvida em 0,5% de carboximetilcelulose e diluída em água destilada, v.o.). Após um período de jejum de 12 h, os animais (n= 8) foram tratados com mentol (100 e 200 mg/kg, v.o.), veículo (3 % de Tween 80, 10 ml/kg, v.o.) ou ranitidina (20 mg/kg, v.o., como controle positivo) 60 min antes da administração da indometacina, enquanto o grupo controle recebeu veículo e não foi exposto ao agente agressor. Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical após 8 h da indução da úlcera (BHARGAVA *et al.*, 1973) e tiveram seus estômagos removidos. Subseqüentemente, cada estômago foi aberto pela grande curvatura, lavados em salina 0,9 % e a extensão das lesões foi registrada, atribuindo-se escores, de acordo com a escala de Szabo *et al.* (1985), evidenciada no **Quadro 4**. As áreas lesionadas foram medidas por um único observador, que não conhecia a identificação dos grupos experimentais (estudo cego).

Injury	Scores
Discoloration of mucosa	1
Edema	1
Hemorrhages	1
Number of petechia	
Until 10	2
More than 10	3
Intensity of ulceration	
Ulcers or erosion up to 1mm	N x 2
Ulcers or erosion larger than 1mm	N x 3
Perforated ulcers	N x 4

Quadro 4 – Determinação do escore de úlcera induzida por Indometacina

Fonte: Szabo *et al.* (1985)

4.12.3 Papel do Óxido Nítrico (NO) no Efeito Protetor do Mentol na Lesão Gástrica Induzida por Álcool em Camundongos

Para investigar o envolvimento do NO no efeito gastroprotetor do mentol, NG-nitro-L-arginina-metilester (L-NAME, 10 mg/kg, i.p.), um inibidor da NOS, foi administrado 15 min antes da administração oral de mentol (200 mg/kg) ou veículo (3 % de Tween 80, 10 ml/kg, v.o.). As doses e tempos de administração do L-NAME foram usados de acordo com estudos prévios (GÜRBÜZ *et al.* 1999; CHANDRANATH *et al.* 2002). Dois grupos foram tratados com veículo antes da administração do mentol (200 mg/kg, v.o.). No grupo de animais foram utilizados, na dose de 200 mg/kg (8 animais). Os controles receberam apenas veículo. Em seguida, 60 min após os tratamentos, as lesões da mucosa gástrica foram induzidas por etanol_{abs}. Um grupo foi tratado com veículo e não foi exposto ao etanol_{abs} (n=6 animais). Decorridos 30 min da administração do etanol_{abs}, os animais foram sacrificados, os estômagos retirados, as lesões foram medidas e expressas como descrito anteriormente sendo utilizado 08 animais.

4.12.4 Papel dos Canais de Potássio ATP-dependentes (K_{ATP}), no Efeito astroprotetor do Mentol em Modelo de Lesões Gástricas Induzidas por Etanol em Camundongos

A glibenclamida, um potente antagonista dos canais de K_{ATP}, preparada com 4% de glicose, para minimizar hipoglicemia, foi utilizada para investigar o possível envolvimento dos canais de K_{ATP} no efeito gastroprotetor do mentol. Glibenclamida na dose de 10 mg/kg, i.p., foi administrada 30 min antes da administração de mentol (200 mg/kg, v.o.) ou veículo (3 % de Tween 80, 10 ml/kg, v.o.), de acordo com Peskar *et al.* (2002). Em grupos adicionais, veículo foi administrado seguido por mentol (200 mg/kg, v.o.) antes da administração do etanol_{abs}. Outro grupo de animais recebeu glibenclamida (10 mg/kg), 15 minutos antes da administração de Diazóxido (3 mg/kg, i.p.), e após 30 minutos, esses animais receberam etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.). Os controles receberam apenas veículo. Após 60 min da administração dos tratamentos, os animais foram expostos ao etanol_{abs} para a indução das lesões. Um grupo de animais recebeu veículo e não foi exposto ao etanol. Trinta minutos após a administração do etanol_{abs}, os animais foram sacrificados, os estômagos retirados, as lesões foram medidas e expressas como descrito anteriormente. Para este experimento, foram utilizados 7-8 animais por grupo.

4.12.5 Quantificação dos Níveis de Glutathione (GSH) no Estômago e Fígado de Camundongos Tratados com Mentol e Expostos ao Etanol

A quantificação de glutathione (GSH, uma sulfidril não protéica) foi utilizada para investigar uma possível ação antioxidante na atividade gastroprotetora do mentol foi realizada nos estômagos dos camundongos. Mentol (200 mg/kg, v.o.) foi administrado aos camundongos 1 h antes da administração do etanol_{abs} (0,2 mL, v.o.) ou veículo (3 % de Tween 80, 10 ml/kg, v.o.). O grupo controle recebeu apenas veículo, enquanto o controle positivo recebeu N-acetilcisteína (NAC, 750 mg/Kg, i.p.), um aminoácido essencial na formação do GSH, antes da administração do etanol_{abs}. Um grupo de animais foi tratado apenas com veículo e não foi exposto ao etanol. Decorridos 30 min da administração do etanol_{abs}, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e tiveram os seus estômagos. Para a dosagem do GSH, o segmento glandular de cada estômago foi individualmente homogeneizado a 10% (peso/volume) em uma solução gelada de EDTA 0,02 M. À alíquotas de 400 µl dos homogenatos foram misturadas a 320 µl de água destilada e 80 µl de ácido tricloroacético (50%) e centrifugadas a uma rotação de 3000 rpm durante 15 min (para os estômagos). Após a centrifugação, 400 µl dos sobrenadantes foram misturados com 800 µl de tampão Tris (0,4 M, pH 8.9). Por fim, foi adicionado 20 µL de DTNB (5,5'-dithio-bis (2- nitrobenzoico ácido) 0,01M). O material foi então agitado durante 3 minutos e a absorbância foi mensurada a 412 nm em espectrofotômetro. Uma alíquota do sobrenadante foi separada e a sua concentração de proteínas foi medida usando o método de Lowry *et al.* (1951). Os valores de absorbância foram extrapolados a partir de uma curva-padrão e expressos em µg de GSH/mg de proteína. Para este experimento, foram utilizados 7 animais por grupo. No grupo do padrão positivo foram utilizados 6 animais.

4.13 Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do software GraphPad Prism versão 4.0 para Windows, GraphPad Software, San Diego California EUA. Copyright (c) 1994-1999 por GraphPad Software.

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

Em todas as análises estatísticas, os valores foram representados pela Média \pm Erro Padrão da Média (EPM) com o número de animais entre parênteses e foi considerado o nível crítico para rejeição da hipótese de nulidade menor que 0,05 ($p < 0,05$). Os asteriscos (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$) caracterizam o grau de significância, assim como os demais símbolos a e b.

5 RESULTADOS

5.1 Atividade antidepressiva

5.1.1 Teste nado forçado

No teste do nado forçado, o mentol administrado por via intraperitoneal, (i.p.), causou redução no tempo de imobilidade quando utilizado nas doses 25 mg/Kg [$65,57 \pm 1,49$ s (7); $p < 0,05$] e 50 mg/Kg [$35,75 \pm 3,75$ s (8); $p < 0,001$] quando comparado ao grupo controle [$86,56 \pm 6,74$ s (8)]. Os animais tratados com imipramina 10 mg/Kg, i.p., droga utilizada como controle positivo, também reduziram o tempo de imobilidade [$21,00 \pm 2,61$ s (7); $p < 0,001$] em relação ao controle (Fig. 15).

Na Figura 15, observa-se ainda que quando mentol é administrado em uma dose menor (10 mg/kg, i.p), ainda ocorre redução no tempo de imobilidade nos animais [$68,80 \pm 7,50$ s (6); $p < 0,01$] quando comparado ao grupo controle [$86,56 \pm 6,74$ s (8)]. Os animais também foram tratados com bupropiona na dose 10 mg/kg, droga utilizada como controle positivo, que também reduziu o tempo de imobilidade [$46,28 \pm 6,50$ (4) s; $p < 0,01$] em relação ao controle [$86,56 \pm 6,74$ s (8)]. Assim como também, na dose 30 mg/kg houve redução no tempo de imobilidade [$61,22 \pm 6,90$ (9); $p < 0,01$] quando comparado ao controle [$86,56 \pm 6,74$ s (8)].

Na Figura 16, é observado que os animais tratados com SCH 23390 (15 μ g/Kg) não apresentaram nenhuma alteração no tempo de imobilidade [$92,88 \pm 7,22$ (16) s; $p > 0,05$] em relação ao controle i.p. [$77,92 \pm 6,60$ (13)]. A associação de SCH 23390 15 μ g/Kg + Mentol 50 mg/Kg [$21,30 \pm 7,80$ s (10); $p > 0,05$] não reverteu os efeitos do mentol, quando comparado ao mentol sozinho [$34,30 \pm 2,83$ s (10); $p > 0,05$]. Já os camundongos que receberam SCH 23390 e em seguida bupropiona 30 mg/Kg [$97,75 \pm 10,22$ s (8)] houve reversão do efeito do efeito da bupropiona quando comparado com a bupropiona 30 mg/Kg sozinha [$49,60 \pm 9,34$ s (10); $p < 0,001$].

Quando os animais foram tratados com sulpirida 50 mg/Kg (Fig 10) [$116,00 \pm 7,53$ s (4)], também não houve nenhuma alteração em relação controle [$103,10 \pm 3,47$ s (13); $p > 0,05$] (Fig. 18), mas os efeitos do mentol foram revertidos pelo pré-tratamento com sulpirida 50

mg/Kg [$119,40 \pm 2,56$ s (10)] quando comparado com o mentol sozinho [$35,75 \pm 3,70$ s (8); $p < 0,001$]. O mesmo ocorreu com os animais tratados com sulpirida 50 mg/Kg e em seguida com bupropiona 30 mg/Kg [$89,40 \pm 7,38$ s (10); $p < 0,001$], ocorrendo reversão do efeito da bupropiona 30 mg/Kg quando administrada sozinha [$55,11 \pm 8,43$ s (9)].

Na Figura 17, observou-se que a prazosina [$106,3 \pm 2,59$ s (9)] também não alterou o tempo de imobilidade quando comparado com o grupo controle i.p [$98,88 \pm 4,98$ s (8); $p > 0,05$], mas esta droga associada ao mentol [$151,60 \pm 5,21$ s (8); $p > 0,001$] causou reversão do efeito antiimobilidade previamente observado no grupo mentol sozinho [$55,50 \pm 2,59$ s (8); $p < 0,001$]. Como foi visto no grupo mentol com prazosina, também com o grupo da imipramina 10 mg/Kg associada a prazosina 1 mg/Kg [$45,17 \pm 6,29$ s (6)] houve redução da imobilidade dos animais quando comparado com o grupo imipramina 10 mg/Kg sozinha [$18,13 \pm 2,74$ s (8); $p < 0,001$] (Fig. 17).

Como demonstrado na Figura 18, os animais tratados com ioimbina 1 mg/Kg não apresentaram nenhuma redução do tempo de imobilidade no teste do nado forçado [$109,80 \pm 4,32$ s (9); $p > 0,05$] quando comparados ao controle [$98,88 \pm 4,98$ s (8)]. Quando os animais foram previamente tratados com ioimbina 1 mg/Kg e posteriormente com mentol 50 mg/Kg, i.p., verificou-se ainda redução da imobilidade [$72,67 \pm 6,76$ s (9); $p < 0,001$] em comparação ao controle [$98,88 \pm 4,98$ s (8)], mas não houve diferença quando comparado ao mentol sozinho [$55,5 \pm 2,59$ s (8)]. Quando os animais foram pré-tratados com ioimbina 1mg/Kg, i.p., e posteriormente com imipramina 10 mg/Kg, i.p., [$58,00 \pm 8,45$ s (6), $p < 0,001$], observou-se redução da imobilidade quando comparado com o grupo controle [$98,88 \pm 4,98$ s (8); $p < 0,001$], entretanto a redução da imobilidade foi bem menor na associação quando comparado ao efeito da imipramina sozinha ($18,13 \pm 2,74$; $p < 0,001$).

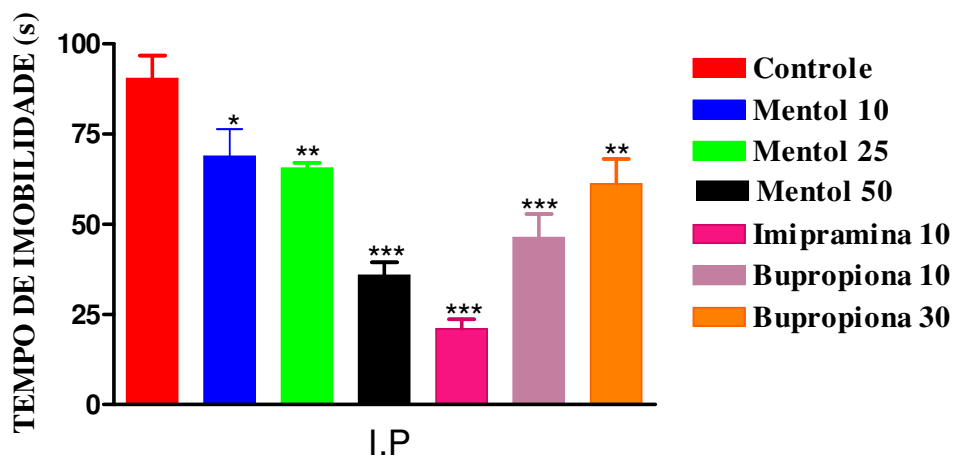


Figura 15 – Efeito do mentol, imipramina e bupropiona, via intraperitoneal, sobre o tempo de imobilidade, em segundos, no teste nado forçado

Nota: Controle, mentol (MENT: 10 mg/Kg, 25 mg/Kg e 50 mg/Kg), imipramina (IMP:10 mg/Kg) e bupropiona 10 mg/Kg foram administrados 30 minutos antes do experimento. Os valores da Figura representam a Média \pm EPM do tempo de imobilidade (s) durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$ vs controle.

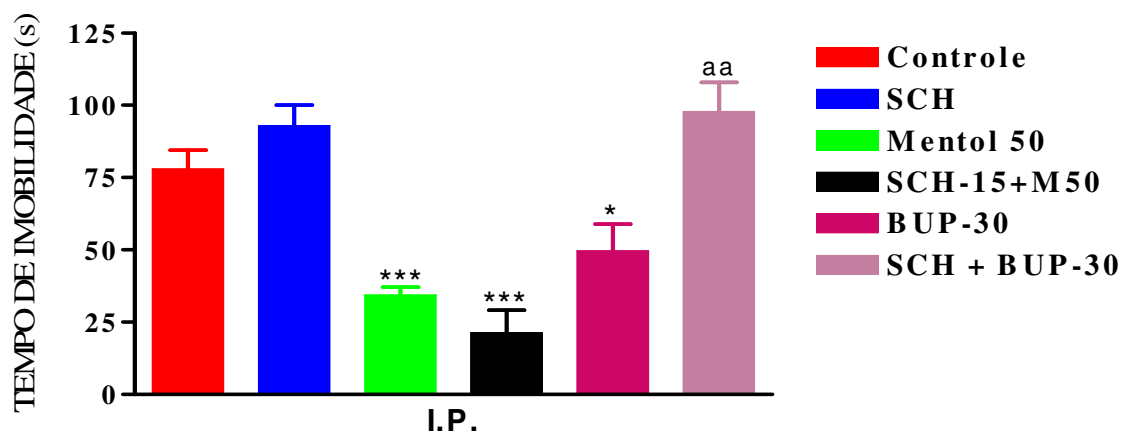


Figura 16 – Efeito do mentol (50 mg/Kg) e da bupropiona (30 mg /Kg), via intraperitoneal, sozinho ou associado com SCH 23390 (15µ/Kg), antagonista dos receptores dopaminérgicos D₁ sobre o tempo de imobilidade (s), em segundos, no teste nado forçado.

Nota: Controle, mentol (50 mg/Kg) e bupropiona 30 mg/Kg foram administrados 30 minutos antes do experimento; ou quando associados foram administrados 30 minutos após administração de SCH 23390 (SCH: 2,5 mg/Kg). Os valores da Figura representam a média ± EPM do tempo de imobilidade (s) durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguida por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ vs controle; ^{aa} $p < 0,001$ vs bupropiona (BUP - 30).

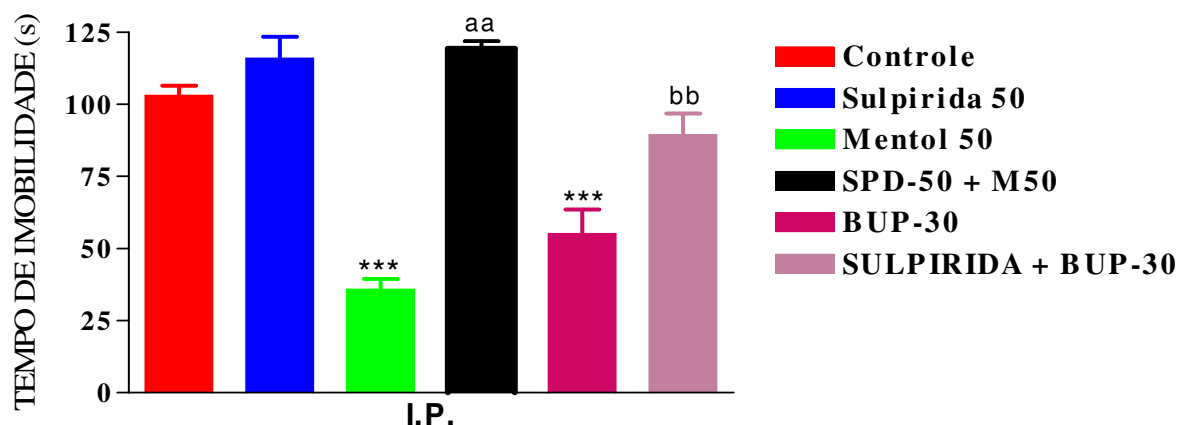


Figura 17 – Efeito do mentol (50 mg/Kg) e da bupropiona (30 mg/ Kg), via intraperitoneal, sozinho ou associados com sulpirida (50 mg/Kg), antagonista dos receptores dopaminérgicos D₂ sobre o tempo de imobilidade (s), em segundos, no teste nado forçado.

Nota: Controle, mentol (50 mg/Kg) e bupropiona 30 mg /Kg foram administrados 30 minutos antes do experimento; ou quando associados foram administrados 30 minutos após administração de sulpirida (SPD-50: 50 mg/Kg). Os valores da Figura representam a média \pm EPM do tempo de imobilidade (s) durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: *** $p < 0,001$ vs controle; ^{aa} $p < 0,001$ vs mentol 50 mg/Kg; ^{bb} $p < 0,001$ vs bupropiona 30 mg/Kg.

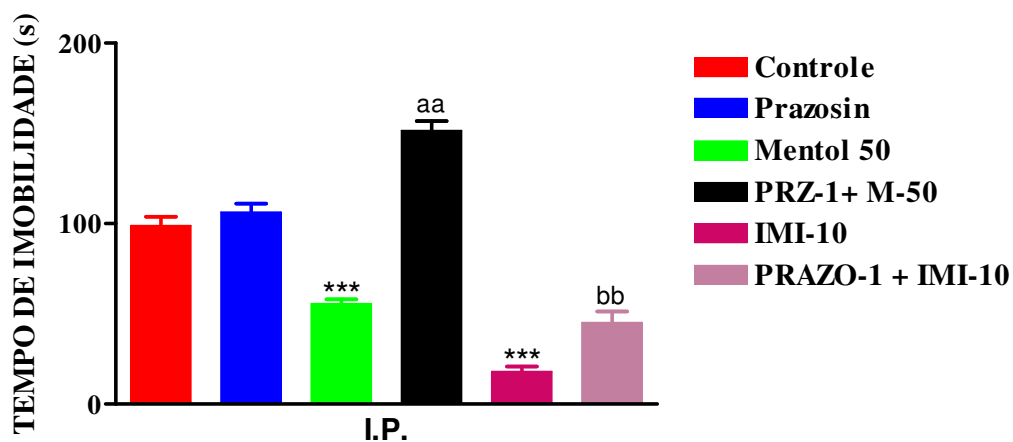


Figura 18 – Efeito do mentol (50 mg/Kg), via intraperitoneal, sozinho ou associado com prazosina (1 mg/Kg), antagonista dos receptores adrenérgicos α_1 , sobre o tempo de imobilidade (s), em segundos, no teste nado forçado.

Nota: Controle e mentol (MENT: 50 mg/Kg) foram administrados 30 minutos antes do experimento; ou quando associados foram administrados 30 minutos após administração de prazosina (PRZ: 1 mg/Kg). Os valores da Figura representam a média \pm EPM do tempo de imobilidade (s) durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: *** $p < 0,001$ vs controle; ^{aa} $p < 0,001$ vs mentol 50 mg/Kg; ; ^{bb} $p < 0,001$ vs imipramina 10 mg/Kg.

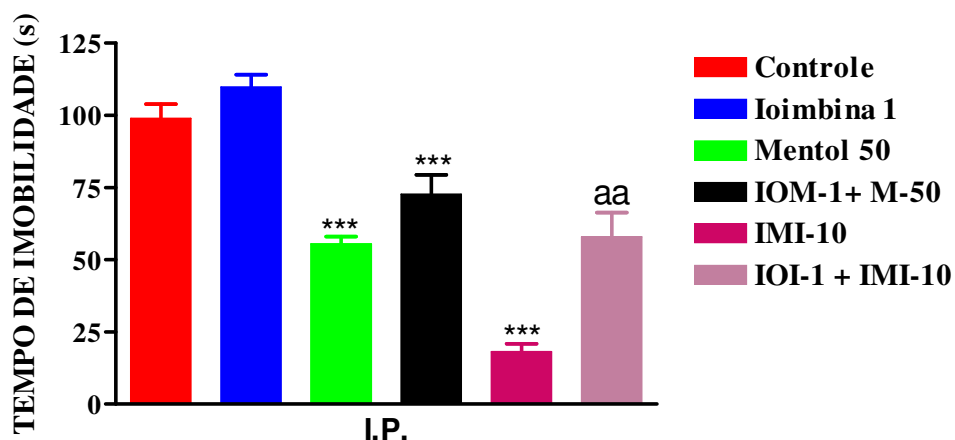


Figura 19 – Efeito do mentol (50 mg/Kg) e da imipramina (10 mg/Kg), via intraperitoneal, sozinhos ou associados com Ioimbina (1mg/Kg), antagonista dos receptores adrenérgicos α_2 sobre o tempo de imobilidade (s), em segundos, no teste nado forçado.

Nota: Controle, mentol (50 mg/Kg) e imipramina (10 mg/Kg) foram administrados 30 minutos antes do experimento; ou quando associados foram administrados 30 minutos após administração de iomibina (IOM 1mg/Kg). Os valores da Figura representam a média \pm EPM do tempo de imobilidade (s) durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como teste *post hoc*. Valores significativos: *** $p < 0,001$ vs controle; ^{aa} $p < 0,001$ vs imipramina 10 mg/Kg.

5.1.2 Teste suspensão da cauda

Neste modelo experimental, o mentol, i.p., promoveu a redução da imobilidade na dose de 25 mg/Kg [$119,0 \pm 3,99$ s (10)], assim como também, na dose de 50 mg/Kg [$117,40 \pm 5,27$ s (9)] quando comparado com o controle [$179,70 \pm 3,30$ s (10); $p > 0,001$] (Fig. 20).

A imipramina na dose de 30 mg/Kg também reduziu o tempo de imobilidade [$25,2 \pm 3,7$ s (10)] em relação ao grupo controle [$179,70 \pm 3,30$ s (10); $p > 0,001$] (Fig. 20).

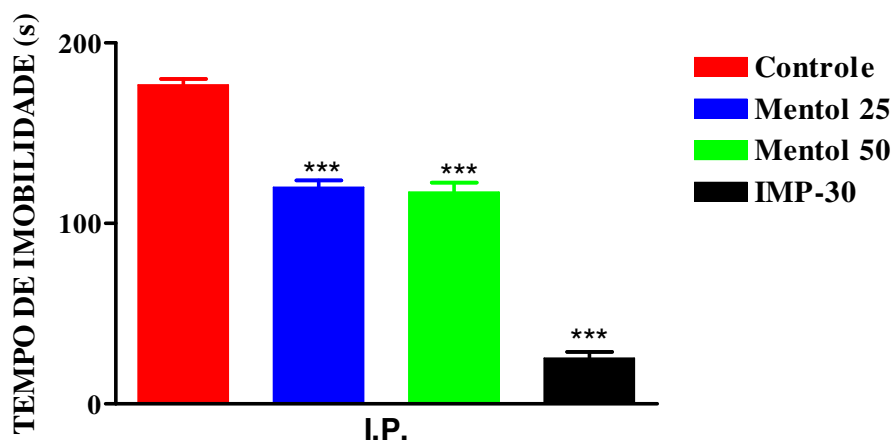


Figura 20 – Efeito do mentol (25 e 50 mg/Kg) e imipramina (10 mg/Kg), via intraperitoneal, sobre o tempo de imobilidade, em segundos, no teste suspensão da cauda.

Nota: Controle, mentol (MENT: 25 mg/Kg e 50 mg/Kg) e imipramina (IMP:30 mg/Kg) foram administrados 30 minutos antes do experimento. Os valores da Figura representam a média \pm EPM do tempo de imobilidade (s) durante 6 minutos. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: *** $p < 0,001$ vs controle.

5.2 Avaliação da atividade ansiolítica

5.2.1 Teste do campo aberto

Os parâmetros avaliados neste experimento foram atividade locomotora (ALE), *grooming* e *rearing* e os resultados foram expressos em número de travessias, *grooming* e *rearing*. Na Figura 21, observa-se que a atividade locomotora foi aumentada pelo mentol nas doses de 25 mg/Kg [$56,43 \pm 4,27$ (7)] e na dose de 50 mg/Kg [$62,43 \pm 4,69$ (5)] quando comparados com o controle [$29,40 \pm 2,54$ (5); $p < 0,01$]. Entretanto, o mentol 10 mg/kg [$34,56 \pm 1,78$ (8); $p > 0,05$], assim como a bupropiona 10 mg/kg [$40,66 \pm 3,51$ (5); $p > 0,05$] não causou alteração significativa quando comparado ao controle [$29,40 \pm 2,54$ (5); $p < 0,01$]. O diazepam, 2 mg/Kg, i.p., reduziu a atividade locomotora em relação ao controle [DPZ-2: $17,6 \pm 0,90$ (5); $p < 0,05$]

Na Figura 22, observou-se que os animais tratados com SCH 23390 [$53,00 \pm 5,74$ (5)] não apresentaram alteração na atividade locomotora quando comparados com o controle [$59,40 \pm 2,75$ (5); $p > 0,05$]. Assim como, os animais tratados com SCH 23390 e posteriormente com mentol 50 mg/Kg [$63,00 \pm 2,5$ (5)] não apresentaram alteração quando comprado com o grupo mentol 50 mg/Kg sozinho [$73,40 \pm 3,40$ (5); $p > 0,05$]. Entretanto, quando a bupropiona foi administrada após o SCH 23390 [SCH-15 + BUP-30: $55,50 \pm 2,88$ (8)] houve reversão quando comparado com a bupropiona sozinha [BUP-30: $87,93 \pm 4,25$ (6); $p < 0,001$].

Como demonstrado na Figura 23, os animais tratados com sulpirida 50 mg/Kg [$50,20 \pm 4,83$ (5)] não apresentaram nenhuma redução no número de travessias quando comparado ao controle [$60,50 \pm 2,50$ (6); $p > 0,05$]. Entretanto os animais tratados previamente com sulpirida e após 30 minutos com mentol 50 mg/Kg [SPD-50 + M-50: $62,25 \pm 4,20$ (8); $p > 0,05$] houve alteração em relação ao mentol sozinho [$75,63 \pm 2,30$ (8); $p > 0,05$]. Assim como também, os efeitos causados pela bupropiona 30 mg/Kg [$87,33 \pm 4,25$ (6)] foram alterados pela associação de bupropiona 30 mg/kg com sulpirida 30 mg/Kg [$49,14 \pm 2,65$ (7); $p > 0,001$].

Um outro parâmetro avaliado foi o *rearing*. Os resultados mostram que houve aumento do *rearing* após administração i.p.do mentol nas doses de 25 mg/Kg [$17,67 \pm 2,10$ (7); $p > 0,01$]

e na dose de 50 mg/Kg [$14,29 \pm 1,50(6)$; $p < 0,05$] quando comparado ao grupo controle [$10,00 \pm 1,51(7)$]. O diazepam, 2 mg/Kg, reduziu o número de *rearings* [$3,60 \pm 0,65 (13)$; $p < 0,001$] (Fig. 25).. . O número de *groomings* foi reduzido na dose de 25 mg/Kg [$4,57 \pm 0,92 (7)$] e na dose de 50 mg/Kg [$4,375 \pm 0,32 (8)$] em relação ao controle [$6,71 \pm 0,68 (7)$; $p < 0,05$]. Diazepam, 2 mg/kg, também reduziu esse parâmetro [$1,64 \pm 0,38 (14)$] comparado com o controle [$6,71 \pm 0,68 (7)$; $p < 0,001$] (Fig. 24).

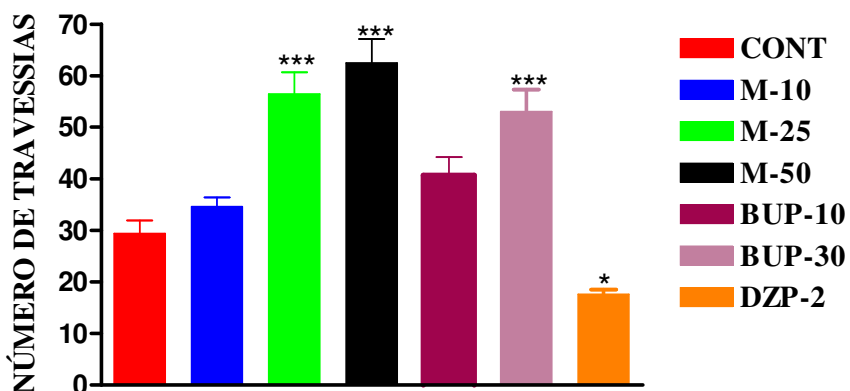


Figura 21 – Efeito do mentol, bupropiona e diazepam, via intraperitoneal, sobre o número de travessias no teste campo aberto em camundongos.

Nota: Controle, mentol (M-25: 25 mg/Kg e M-50: 50 mg/Kg), bupropiona (BUP-10: 10 mg/kg e BUP-30: 30 mg/kg) e diazepam (DZP: 2 mg/Kg) foram administrados 30 minutos antes do experimento. Os valores da Figura representam a média \pm EPM do número de travessias durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ vs controle.

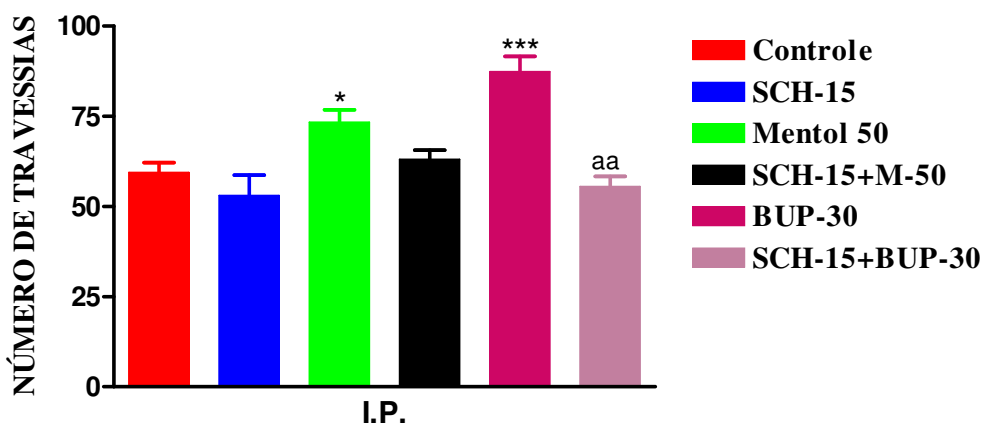


Figura 22 – Efeito do mentol (50 mg/Kg) e bupropiona (30 mg/Kg), via intraperitoneal, sozinho ou associado com SCH 23390 (15 μ /Kg), antagonista dos receptores dopaminérgicos D₁ sobre o número de travessias no teste campo aberto.

Nota: Controle, mentol (M-50: 50 mg/Kg) e bupropiona (BUP-30: 30 mg/Kg) foram administrados 30 minutos antes do experimento; ou quando associados foram administrados 30 minutos após administração de SCH 23390 (SCH-15: 2,5 mg/Kg) e então, 60 minutos depois foram submetidos ao experimento. Os valores da Figura representam a média \pm EPM do número de travessias durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ vs controle; ^{aa} $p < 0,001$ vs bupropiona 30 mg/Kg

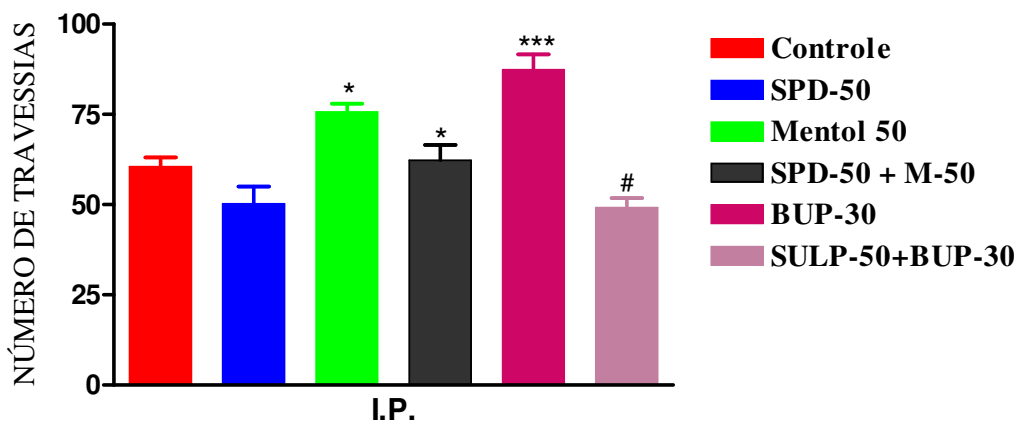


Figura 23 – Efeito do mentol (50 mg/Kg) e da bupropiona (30 mg/Kg), via intraperitoneal, sozinho ou associado com sulpirida (50 mg/Kg), antagonista dos receptores dopaminérgicos D₂ sobre o número de travessias no teste campo aberto.

Nota: Controle, mentol (M-50: 50 mg/Kg) e da bupropiona (BUP-30: 30 mg/Kg) foram administrados 30 minutos antes do experimento; ou quando associados foram administrados 30 minutos após administração de sulpirida (SPD-50: 50 mg/Kg) e então, 60 minutos depois foram submetidos ao experimento. Os valores da Figura representam a média ±EPM do tempo de imobilidade (s) durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ vs controle; # $p < 0,001$ vs BUP-30.

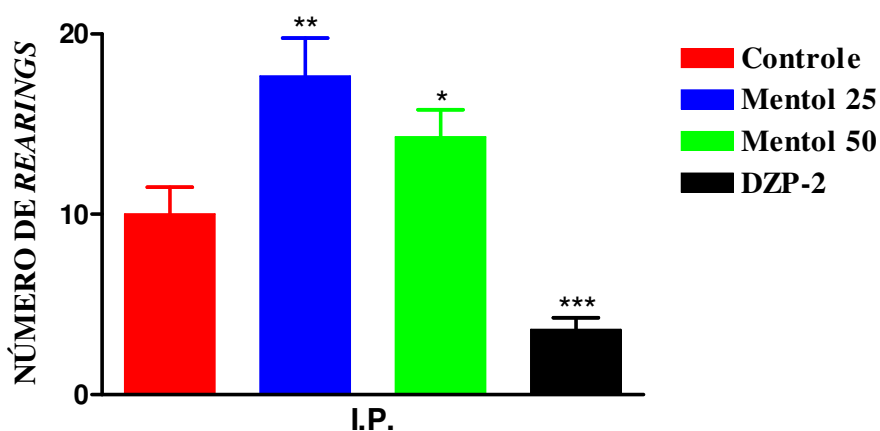


Figura 24 – Efeito do mentol (25 e 50 mg/Kg) e diazepam (2 mg/Kg), via intraperitoneal, sobre o número de *rearings* no teste campo aberto em camundongos.

Nota: Controle, mentol (25 mg/Kg e 50 mg/Kg) e diazepam (DZP: 2 mg/Kg) foram administrados 30 minutos antes do experimento. Os valores da Figura representam a média \pm EPM do número de *rearings* durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs controle.

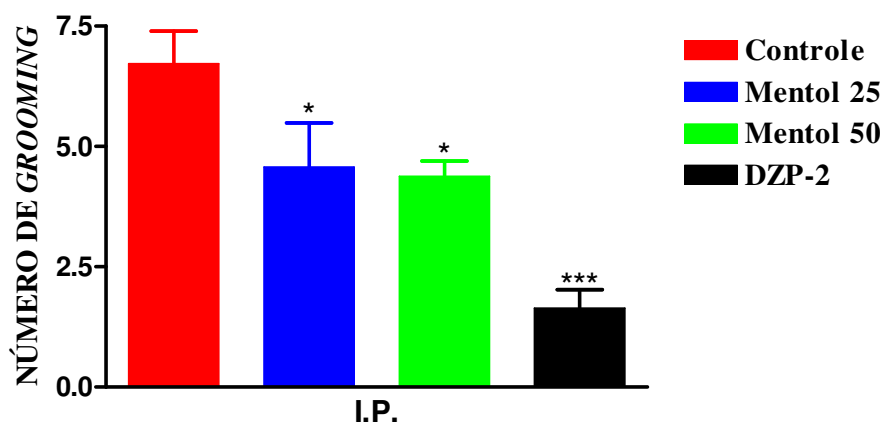


Figura 25 – Efeito do mentol e diazepam, via intraperitoneal, sobre o número de *grooming* no teste campo aberto em camundongos.

Nota: Controle, mentol (25 mg/kg e 50 mg/kg) e diazepam (DZP: 2 mg/kg) foram administrados 30 minutos antes do experimento. Os valores da Figura representam a média \pm EPM do número de *groomings* durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs controle.

5.2.2 Teste do Rota Rod

No teste Rota Rod, como demonstrado na Tabela 1, não foram observadas alterações no tempo de permanência após o tratamento com mentol, i.p., nas doses de 25 mg/Kg [$60,00 \pm 0,0$ s (8)] e de mentol 50 mg/Kg [$60,00 \pm 0,0$ s (8)] comparado com o grupo controle [$59,20 \pm 0,50$ s (8); $p > 0,05$].

Enquanto que o diazepam, padrão positivo, na dose de 2 mg/kg promoveu diminuição no tempo de permanência (Tabela 1) [$34,10 \pm 2,10$ s (8)] (Tabela 3) [$0,25 \pm 0,16$ (8)] quando comparado com o controle, respectivamente [$59,20 \pm 0,5$ s (8); $0,0 \pm 0,0$ (8); $p > 0,05$].

Tabela 1 – Efeito da administração intraperitoneal do mentol e diazepam no tempo de permanência no teste *Roda Rod*.

Grupo	Dose (mg/Kg)	Tempo de permanência
Via intraperitoneal		
Controle	-	59,20 ± 0,50 s (8)
Mentol 25 mg/Kg	25	60,00 ± 0,00 s (8)
Mentol 50 mg/Kg	50	60,00 ± 0,00 s (8)
	2	34,10 ± 2,10 s(8) ***
Diazepam 2 mg/Kg		

Nota: Os valores da Figura representam a média ±EPM do tempo de permanência. O número de animais utilizados foi colocado em parênteses. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: ***p<0,001 vs controle.

5.2.3 Teste do labirinto em cruz elevada

Como observado na Figura 26, o mentol, em ambas as doses (25 mg/Kg e 50 mg/Kg), não alterou o número de entradas no braço aberto (NEBA) [NEBA: Ment-25: $4,5 \pm 0,5(8)$; Ment-50: $5,75 \pm 0,94(8)$] quando comparado com o controle [$5,00 \pm 0,50(8)$; $p > 0,05$]. Da mesma forma, também não houve alteração no tempo de permanência do braço aberto (TPBA) em nenhuma dose [TPBA: Ment-25: $70,17 \pm 12,22(6)$; Ment-50: $91,50 \pm 10,39(6)$] em relação ao controle [$56,17 \pm 5,49(14)$; $p > 0,05$] (Fig. 26).

Também não houve alteração no percentual de entrada no braço aberto (PEBA) nas doses estudadas [ment-25: $38,75 \pm 4,187(8)$; ment-50: $37,64 \pm 3,5(8)$] comparado ao controle [$45,75 \pm 4,45(8)$; $p > 0,05$].

Também não houve alteração no percentual de tempo em braço aberto (PTBA) na dose de mentol 25 mg/kg [$36,63 \pm 5,9(8)$] e na dose de 50 mg/kg [$33,63 \pm 5,01$] em relação ao controle [$59,26 \pm 3,8(8)$; $p > 0,05$].

Diazepam, 1 mg/kg, aumentou todos os parâmetros: NEBA [$9,0 \pm 0,6(16)$; $p < 0,001$], TPBA [$125,7 \pm 13,31(16)$; $p < 0,001$], PEBA [$52,64 \pm 3,01(16)$; $p < 0,05$] e PTBA [$59,26 \pm 3,8(16)$; $p < 0,01$] em relação aos respectivos controles.

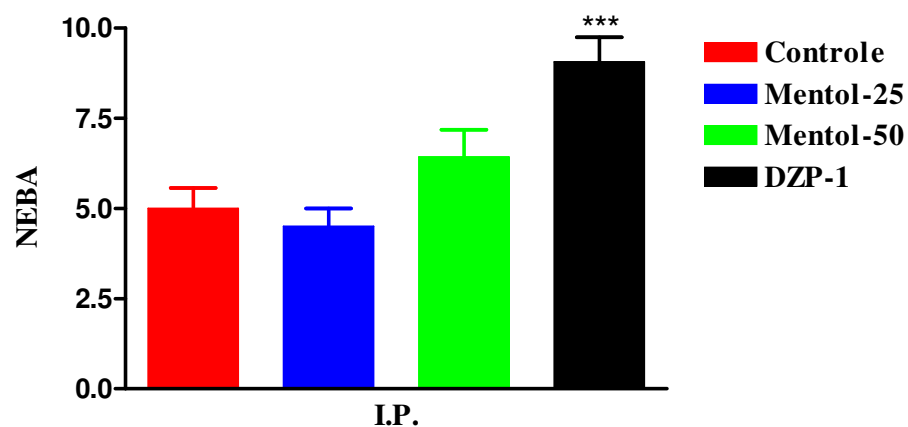


Figura 26 – Efeito do mentol (25 mg/Kg e 50 mg/Kg) e diazepam (DZP: 2 mg/Kg), via intraperitoneal, sobre o número de entradas no braço aberto no teste labirinto de cruz elevada em camundongos.

Nota: Controle, mentol (MENT: 25 mg/kg e 50 mg/Kg) e diazepam (DZP: 1 mg/Kg) foram administrados 30 minutos antes do experimento. Os valores da Figura representam a média \pm EPM do número de entradas nos braços abertos durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos:*** $p < 0,001$ vs controle.

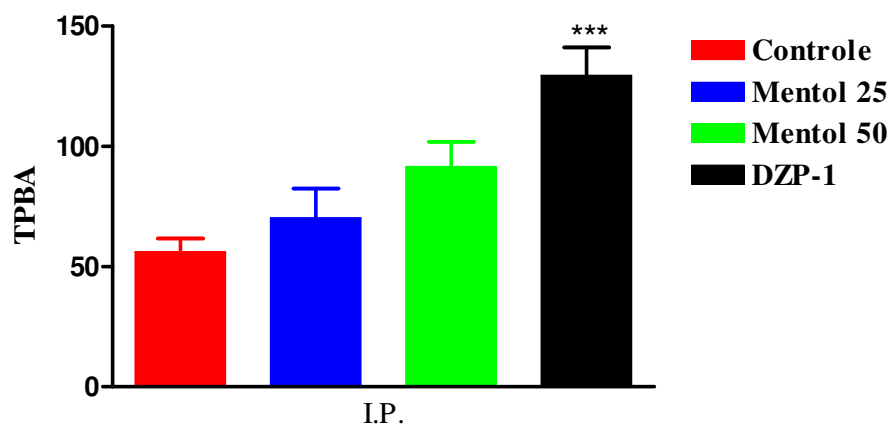


Figura 27 – Efeito do mentol (25 mg/Kg e 50 mg/Kg) e diazepam, via intraperitoneal, sobre o tempo de permanência no braço aberto no teste labirinto de cruz elevada em camundongos.

Nota: Controle, mentol (MENT: 25 mg/Kg e 50 mg/Kg) e diazepam (DZP: 1 mg/Kg) foram administrados 30 minutos antes do experimento. Os valores da Figura representam a média \pm EPM do tempo de permanência nos braços abertos durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: *** $p < 0,001$ vs controle.

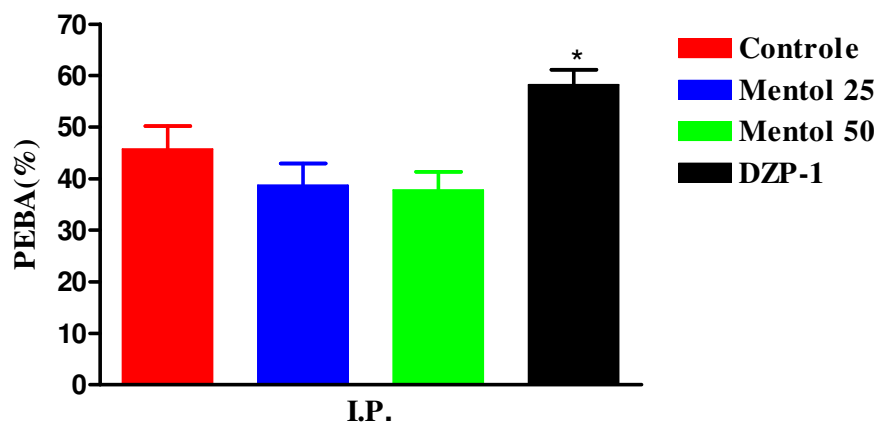


Figura 28 – Efeito do mentol (25 mg/Kg e 50 mg/Kg) e diazepam, via intraperitoneal, sobre a porcentagem de entradas no braço aberto no teste labirinto de cruz elevada em camundongos.

Nota: Controle, mentol (MENT: 25 mg/kg e 50 mg/Kg) e diazepam (DZP: 1 mg/Kg) foram administrados 30 minutos antes do experimento. Os valores da Figura representam a média \pm EPM da porcentagem de entradas nos braços abertos durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: * $p < 0,05$ vs controle.

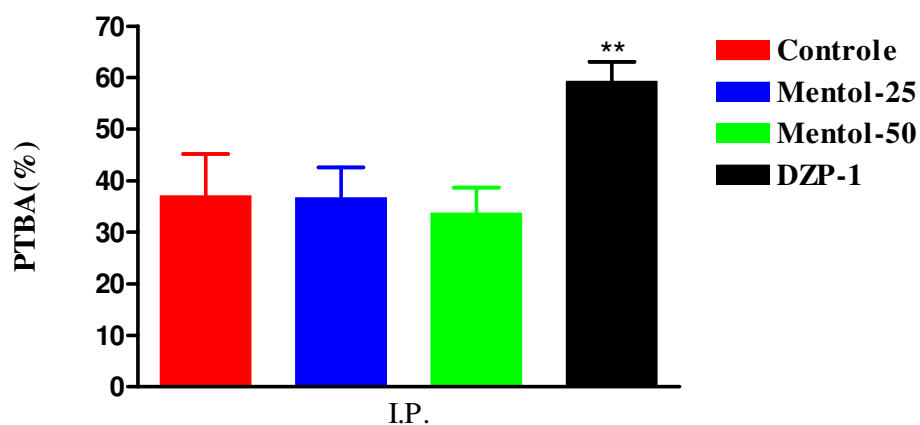


Figura 29 – Efeito do mentol e diazepam, via intraperitoneal, sobre a porcentagem de entradas no braço aberto no teste labirinto de cruz elevada em camundongos.

Nota: Controle, mentol (MENT: 25 mg/kg e 50 mg/kg) e diazepam (DZP: 1 mg/kg) foram administrados 30 minutos antes do experimento. Os valores da Figura representam a média \pm EPM de porcentagem do tempo de permanência nos braços abertos durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0,01$ vs controle.

5.3 Avaliação da Atividade Sedativa/Hipnótica e Anticonvulsivante

5.3.1 Teste do tempo de sono induzido por pentobarbital

Os parâmetros analisados foram: a latência de sono (LS), em segundos, e a duração de sono (DS), também em segundos. Os valores absolutos mostram que os animais tratados com mentol na dose de 25 mg/kg [$224,0 \pm 12,0$ s (8)], assim como na dose de 50 mg/kg [$237,4 \pm 13,04$ s (8)], não alteraram a latência de sono quando comparados com o grupo controle [$239,8 \pm 14,79$ s (6); $p > 0,05$] (Fig. 30).

Já nos resultados correspondentes a duração do sono (Fig. 31), houve redução na dose de 25 mg/kg [$1448 \pm 94,98$ s (6); $p < 0,01$]. Assim como também ocorreu na dose de 50 mg/kg [$1821,0 \pm 124,1$ s (8); $p < 0,05$], comparado com o grupo controle [$2267,0 \pm 180,7$ s (10)].

O diazepam, na dose de 1 mg/kg, como esperado, reduziu a latência de sono [$177,7 \pm 4,04$ s (10); $p < 0,01$] e aumentou a duração de sono [$43334,0 \pm 155,6$ s (8)] em relação ao grupo controle [$2267,0 \pm 180,7$ s (10); $p < 0,001$].

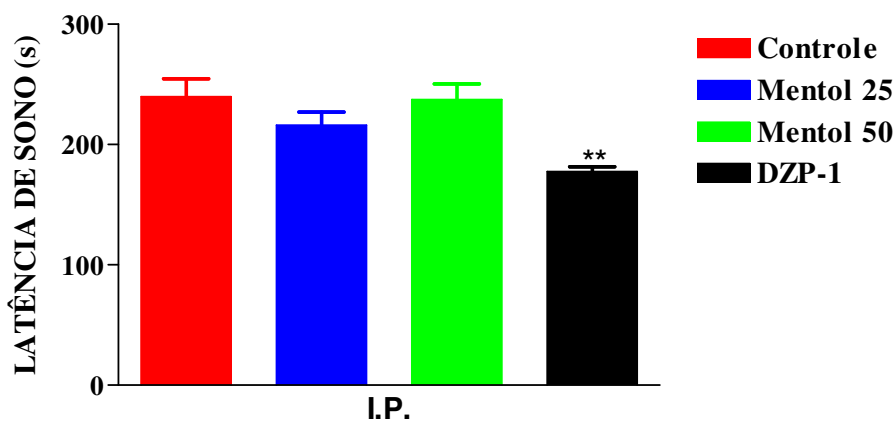


Figura 30 – Efeito do mentol e diazepam, via intraperitoneal, sobre a latência do sono, em segundos, no teste tempo de sono induzido por pentobarbital em camundongos.

Nota: Controle, mentol (MENT: 25 mg/Kg e 50 mg/Kg) e diazepam (DZP: 1 mg/Kg) foram administrados 30 minutos antes do experimento. Os valores da Figura representam a média \pm EPM do tempo de imobilidade (s) durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0,01$ vs controle.

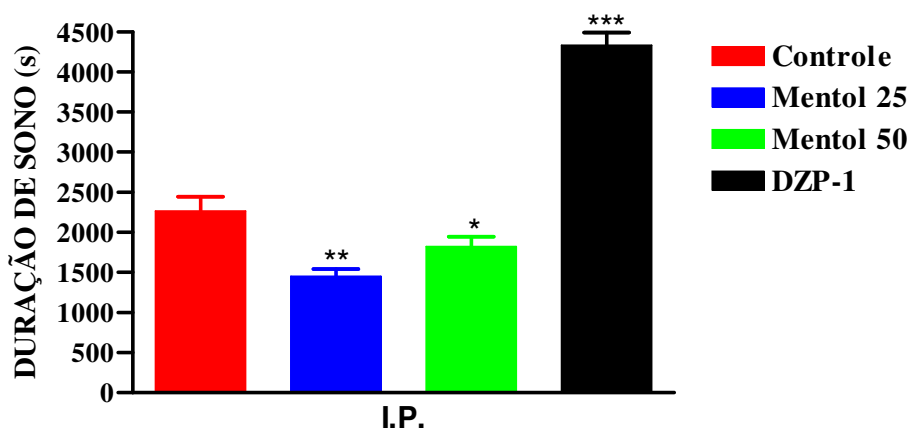


Figura 31 – Efeito do mentol e diazepam, via intraperitoneal, sobre a duração de sono, em segundos, no teste tempo de sono induzido por pentobarbital em camundongos.

Nota: Controle, mentol (MENT: 25 mg/kg e 50 mg/kg) e diazepam (DZP: 1 mg/kg) foram administrados 30 minutos antes do experimento. Os valores da Figura representam a média \pm EPM do tempo de imobilidade (s) durante 5 minutos. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs controle.

5.4 Teste da convulsão induzida por pentilenotetrazol

Os parâmetros avaliados nesse teste foram latência de convulsão (LS), em segundos, e a latência de morte, em segundos (LM). O tratamento agudo em animais com mentol nas doses de 25 mg/kg e 50 mg/kg, por via i.p., aumentaram a latência de convulsão [ment-25: $96,43 \pm 12,07$ (7); $p > 0,05$; ment-50: $176,5 \pm 18,76$ (6); $p < 0,01$] quando comparado ao controle [$85,86 \pm 16,77$ (7)].

Na latência de morte na dose de 25 mg/kg [$197,6 \pm 34,92$ (7); $p > 0,05$] não houve alteração quando comparado ao controle [$223,4 \pm 33,03$ (7)]. Diferentemente do que ocorreu na dose de 50 mg/kg [$485,8 \pm 97,46$ (6); $p > 0,01$] houve aumento na latência de morte em relação ao controle [$223,4 \pm 33,03$ (7)].

O diazepam, 1 mg/kg, aumentou a latência da convulsão [DZP-1: $156,1 \pm 14,40$ (7)] e todos os animais sobreviveram.

Tabela 2 – Efeito da administração intraperitoneal do mentol e diazepam na latência de convulsão e na latência de morte

Grupo (mg/kg)	Latência de convulsão (s)	Latência de morte (s)	Sobrevivência (%)
Via intraperitoneal			
Controle	$85,86 \pm 16,77$ (7)	$223,4 \pm 33,03$ (7)	85
Mentol 25 mg/kg	$96,43 \pm 12,07$ (7)	$197,6 \pm 34,92$ (7)	90
Mentol 50 mg/kg	$176,5 \pm 18,76$ (6)**	$485,8 \pm 97,46$ (6)**	95
DZP – 1	$156,1 \pm 14,40$ (7)***	-	100

Nota: Os valores da Figura representam a média \pm EPM do número da latência de convulsão e da latência de morte. O número de animais utilizado foi colocado em parênteses. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ vs controle.

5.5 Atividade Antiulcerogênica

5.5.1 Avaliação do efeito do (-)- mentol nas lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos

A administração de etanol absoluto aos animais que foram previamente tratados apenas com veículo (Tween 80,3% em água destilada, v.o.), produziu grande porcentagem de área ulcerada [$37,73 \pm 2,43$ % (7)]. A área ulcerada pelo etanol foi significativamente diminuída com a administração prévia de (-)-mentol nas doses de 100 mg/kg [$20,53 \pm 1,82$ % (7); $p < 0,001$] e de 200 mg/kg [$6,51 \pm 1,16$ % (7); $p < 0,001$] reduziram significativamente o percentual de área ulcerada quando comparado com o controle [$37,73 \pm 2,43$ % (7)]. Assim como também com a ciproeptadina 10 mg/kg, v.o., um antagonista H_1 e 5-HT, usada como droga de referência, reduziu significativamente o percentual de área ulcerada [$4,01 \pm 0,69$ (7); $p < 0,001$] quando comparado com o controle [$37,73 \pm 2,43$ % (7)].

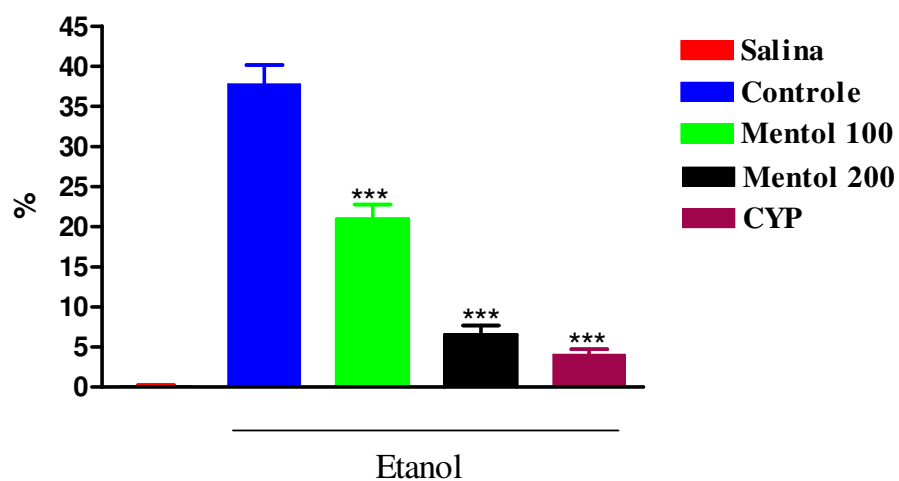


Figura 32 - Efeito do (-)-mentol sobre a área ulcerada associada a lesão gástrica por etanol

Nota: Os valores representam a média \pm E.P.M. da porcentagem de área gástrica ulcerada. A área ulcerada foi medida 30 minutos após a administração de etanol absoluto (0,02 ml/animal). veículo (Tween 80,3 % em água destilada, v.o.), (-)-mentol 100 mg/kg e 200 mg/kg, v.o. e ciproptadina (CYP), 10 mg/kg, v.o., foram administrados 1h antes dos animais receberem etanol absoluto. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: *** $p < 0,001$ vs controle.

5.5.2 Avaliação do efeito do (-)-mentol nas lesões gástricas induzidas por Indometacina em camundongos

A administração de indometacina 20 mg/kg, v.o., aos animais previamente tratados apenas com veículo evidenciou grandes escores de lesão gástrica [$11,0 \pm 0,42$ (8)]. A administração prévia de (-)-mentol 100 mg/kg e de 200 mg/kg, via oral, foram capazes de diminuir significativamente os escores de lesão gástrica [Ment-100: $5,37 \pm 0,37$ (8); $p < 0,001$; Ment-200: $3,75 \pm 0,45$ (8); $p < 0,001$] respectivamente em relação aos animais apenas tratados com veículo (Tween 80,3% em água destilada, v.o.).

A ranitidina (25 mg/kg), v.o., uma droga antagonista dos receptores H_2 , usada como padrão positivo, reduziu significativamente ($p < 0,001$) a média de escores de área ulcerada [$6,62 \pm 0,46$ (8); $p < 0,001$] quando comparada com o grupo controle [$11,0 \pm 0,42$ (8)] (Fig.33).

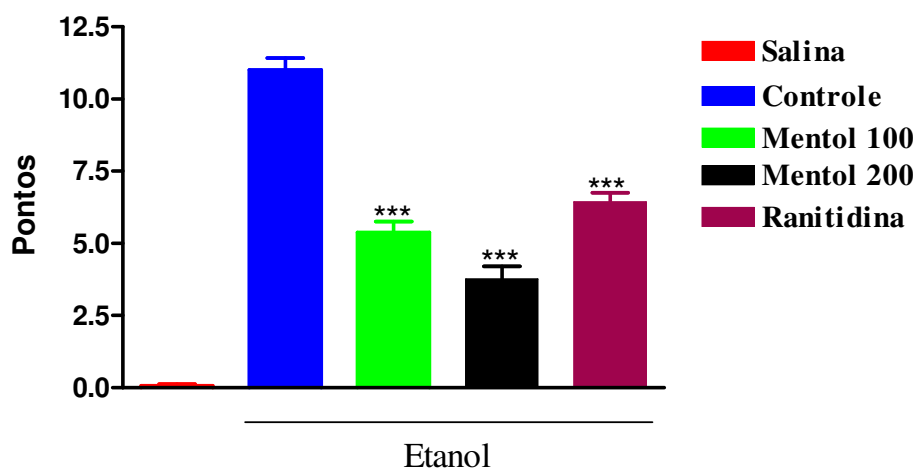


Figura 33 – Efeito do (-)-mentol sobre a área ulcerada associada a lesão gástrica por Indometacina

Nota: Os valores representam a média \pm E.P.M. ao índice de área gástrica ulcerada proposto por SZABO *et al.* (1985). Os animais receberam por via oral: veículo (Tween 80,3 % em água destilada, v.o.), (-)-mentol 100 mg/kg e 200 mg/kg, v.o. ou ranitidina 25 mg/kg, v.o., 1h antes da indução das lesões gástricas pela administração de indometacina. Oito horas depois, os animais foram sacrificados, tiveram seus estômagos retirados e abertos para a determinação dos escores. ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: *** $p < 0,001$ vs controle.

5.5.3 Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor do (-)-mentol em modelo das lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos

A administração de etanol absoluto aos animais que foram previamente tratados apenas com veículo (Tween 80,3% em água destilada, v.o.) produziu grande porcentagem de área gástrica ulcerada [$19,85 \pm 1,25$ (6); $p < 0,001$]. A área gástrica ulcerada pelo etanol foi significativamente diminuída com a administração prévia de (-)-mentol 200 mg/kg, v.o., [$6,31 \pm 0,85$ % (8); $p < 0,001$] quando comparado ao controle [$19,85 \pm 1,25$ (6); $p < 0,001$]. Os animais tratados com L-NAME 10 mg/kg, i.p., um inibidor não seletivo das isoformas da NOS (Óxido Nítrico Sintetase), apresentou aumento da área ulcerada [$45,39 \pm 2,35$ (7); $p < 0,001$] quando comparado ao grupo controle. O efeito gastroprotetor do mentol 200 mg/kg [$9,89 \pm 1,12$ (8); $p > 0,05$] não foi revertido pela administração prévia de L-NAME 10 mg/kg. Os resultados obtidos, nesse modelo, poderão ser verificados na Figura 34.

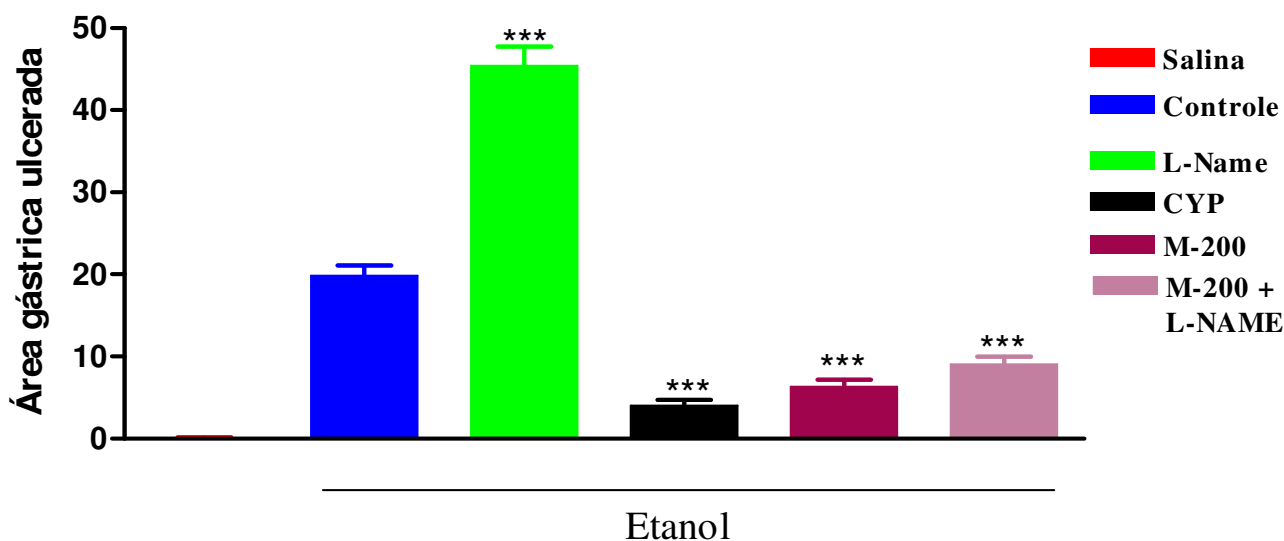


Figura 34 —Envolvimento do Óxido Nítrico (NO) no efeito gastroprotetor do (-)-mentol em modelo de úlcera induzida por etanol absoluto em camundongos

Nota: Os valores no gráfico representam a média \pm E.P.M. ao índice de área gástrica ulcerada. Os animais foram tratados previamente, 60 min, v.o., com veículo (Tween 80,3 % em água destilada, v.o.) ou (-)-mentol 200 mg/kg, v.o. L-NAME foi administrado 15 min antes nos animais tratados com (-)-mentol 200 mg/kg. Os animais foram sacrificados 30 min após a indução de úlcera. ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: *** $p < 0,001$ vs controle.

5.5.4 Papel dos canais de potássio ATP-dependentes (K_{ATP}) no efeito gastroprotetor (-)-mentol em modelo das lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos

A administração de etanol absoluto aos animais que foram previamente tratados apenas com veículo (Tween 80,3% em água destilada, v.o.), produziu grande porcentagem de área gástrica ulcerada [$28,74 \pm 0,49$ % (8)]. A área ulcerada pelo etanol significativamente diminuída com a administração prévia de (-)-mentol 200 mg/kg [$6,75 \pm 1,41$ % (8); $p < 0,001$] em relação ao grupo controle [$28,74 \pm 0,49$ % (8)].

O efeito gastroprotetor do mentol foi revertido [$16,22 \pm 1,43$ (7)] quando administrado previamente glibenclamida (5 mg/kg, i.p.) e em seguida (-)-mentol 200 mg/kg [$17,11 \pm 1,291$ % (7); $p < 0,001$].

Quando os animais foram tratados com diazóxido 3 mg/kg [$6,73 \pm 0,80$ (8)], um vasodilatador que abre os canais K^+_{ATP} , houve alteração em relação ao controle [$28,74 \pm 0,49$ (8); $p < 0,001$]. O efeito gastroprotetor do diazóxido sozinho foi revertido pelo pré-tratamento com glibenclamida 10 mg/kg [$28,69 \pm 0,91$ (8), $p < 0,001$] (Fig. 35).

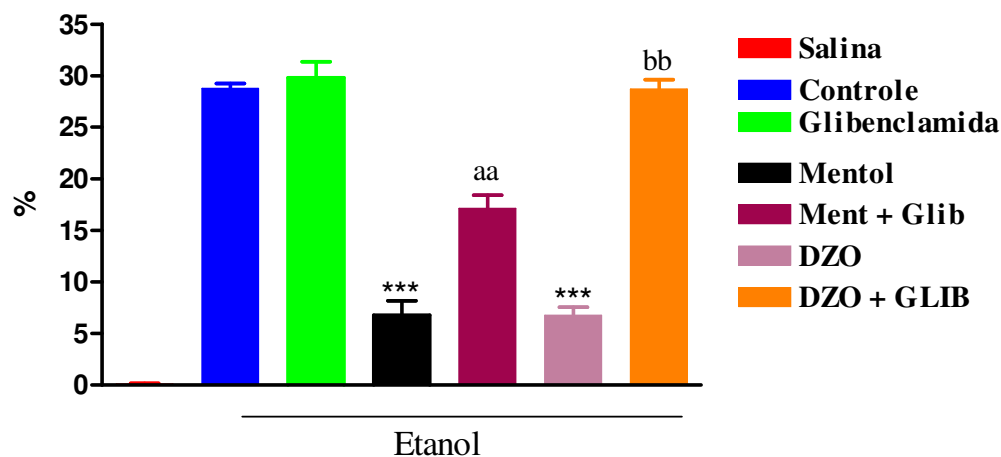


Figura 35 – Envolvimento dos canais de K^+ _{ATP} - dependentes na gastroproteção induzida por (-)-mentol no modelo de úlcera induzida por etanol absoluto em camundongos

Nota: Os valores representam a média \pm E.P.M. da porcentagem de área gástrica ulcerada. Os animais foram tratados previamente, 60 min, v.o., com veículo (Tween 80,3 % em água destilada, v.o.) ou (-)-mentol 200 mg/kg, v.o. Diazóxido 3 mg/kg, i.p., foi administrado 30min antes dos animais receberem etanol. Glibenclamida 10 mg/kg, i.p., foi administrado 15 min antes da administração de (-)-mentol (MENT + GLIB) ou DZO (DZO + GLIB). Os animais foram sacrificados 30 min após a indução da úlcera. Para análise estatística foi utilizada ANOVA seguido por Student Newman Keuls como test *post hoc*. Valores significativos: ***p<0,001 vs controle; ^{aa} p<0,001 vs mentol e ^{bb} p<0,001 vs DZO.

5.5.5 Papel de Glutathiona Reduzida (GSH) no efeito gastroprotetor do (-)-mentol em modelo das lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos

A administração de etanol absoluto aos animais que foram previamente tratados apenas com veículo (Tween 80,3% em água destilada, v.o.), produziu grande porcentagem de área gástrica ulcerada [$61,62 \pm 7,60$ (7) $\mu\text{g/g}$ proteína ; $p < 0,001$]. O pré-tratamento com (-)-mentol 200 mg/kg foi capaz de atenuar essa diminuição no conteúdo gástrico de GSH [$113,10 \pm 17,15$ (7) $\mu\text{g/g}$ proteína; $p < 0,05$]

Os animais tratados com N-acetilcisteína [$120,50 \pm 20,19$ $\mu\text{g/g}$ proteína (6); $p < 0,05$], assim como ocorreu com (-)-mentol, houve aumento das concentrações de GSH quando comparado ao grupo controle [$61,62 \pm 7,80$ (7)]. Os resultados obtidos, nesse modelo, poderão ser verificados na Figura 36.

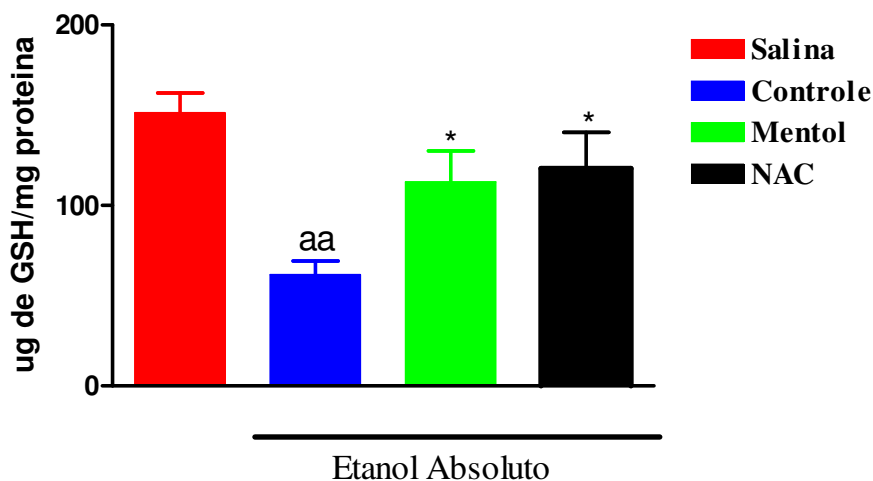


Figura 36 - Efeito do (-)- mentol e NAC no conteúdo de GSH em estômagos de camundongos

Nota: Os valores representam a média \pm E.P.M. para os níveis gástricos de GSH nos animais que receberam etanol absoluto. Foram dosados os níveis de GSH trinta min após administração de etanol absoluto. Veículo (Tween 80,3 % em água destilada, v.o.), (-)-mentol 200 mg/kg, v.o. e N-acetilcisteína (NAC, 750 mg/kg, v.o.) foram administrados 1h antes de receberem etanol. ANOVA e Student Newman Keuls como teste *post hoc*. * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle; ^{aa} $p < 0,001$ vs salina.

6 DISCUSSÃO

I - Estudo das Ações Centrais do (-)- Mentol

O uso de produtos medicinais a base de plantas é prática comum na terapêutica, desde os tempos mais remotos. Nas últimas décadas, sua utilização apresentou um crescimento marcante, como tratamento alternativo aos medicamentos da medicina tradicional (CARVALHO, 2006).

As plantas medicinais são utilizadas como fonte natural de fármacos e é através delas que há a possibilidade de obter-se uma molécula protótipo. Isso se deve à diversidade de constituintes químicos presentes nestas (KINGHORN, 2001).

Dentre as plantas amplamente utilizadas na medicina tradicional, encontra-se a *Mentha piperita*, popularmente conhecida como “hortelã” e entre os componentes presentes nesta, o (-) - mentol está em maior concentração (UMEZU; SAKATA; ITO, 2001).

É relatado que o mentol é útil no tratamento de desordens digestivas (MATOS, 2007; VAN HELLEMONT *et al.*, 1985) e no tratamento de distúrbios do sistema nervoso, sugerindo-se que ele poderia exercer ação psicoativa. No entanto, são necessários mais estudos para apoiar esta hipótese (UMEZU; SAKATA; ITO, 2001).

Com base nestas considerações, no presente trabalho, foi realizado um *screening* dos efeitos do mentol no SNC, utilizando-se diversos modelos animais de comportamento, como LCE, campo aberto, *rota rod*, nado forçado, suspensão da cauda, tempo de sono induzido por pentobarbital e convulsão induzida por pentilenotetrazol. Estes testes são modelos clássicos para avaliar ansiedade, alterações psicomotoras, atividade miorelaxante, depressão e ação anticonvulsivante.

Os transtornos de ansiedade são condições psiquiátricas prevalentes que determinam importante prejuízo funcional, piora na qualidade de vida do indivíduo e um enorme custo social. Embora diversas medicações eficazes para os transtornos de ansiedade encontrem-se disponíveis, um número significativo de pacientes não responde adequadamente ao tratamento e muitos permanecem com sintomas residuais clinicamente significativos (MENEZES *et al.*, 2007).

Alguns modelos animais de ansiedade evocam, pela simples exposição do animal a um novo ambiente ou estímulo, comportamentos de medo ou defensivos, análogos a manifestações ansiosas em indivíduos com transtornos de ansiedade. Portanto, para se avaliar, os efeitos do (-)-mentol sobre a ansiedade, foi utilizado o teste do labirinto em cruz elevado (LCE), um teste baseado na aversão natural que os roedores têm a alturas e a espaços abertos. Neste teste os animais tendem a permanecer nos braços fechados, evitando os abertos (WESOLOWSKA *et al.*, 2007). O LCE é considerado um dos testes para a realização de ensaios pré-clínicos destinados à descoberta de novos agentes ansiolíticos, sobretudo do tipo benzodiazepínicos (PELLOW *et al.*, 1985; RODGERS *et al.*, 1997).

No presente estudo, a administração de (-)-mentol 25 e 50 mg/Kg, não foi capaz de produzir qualquer alteração significativa nos parâmetros avaliados, diferente do diazepam, um benzodiazepínico clássico usado em uma dose padrão ansiolítica (1 mg/kg), que alterou todos os parâmetros analisados, validando desta maneira o teste. Desta forma, os resultados apresentados no teste do LCE sugerem que o (-)-mentol, pelo menos nas doses utilizadas, é, provavelmente, desprovido de ação ansiolítica.

O teste do nado forçado (TNF) e suspensão da cauda (TSC) também foram realizados. Esses modelos comportamentais animais são clássicos para detectar potenciais drogas antidepressivas. Sabe-se que a depressão é considerada uma das desordens mentais mais comuns no mundo, afetando aproximadamente 21% da população mundial (TANAKA; TELEGDY, 2008). Estimativas sugerem que esta doença será a segunda maior causa de incapacidade em 2020 (MURRAY *et al.*, 1997). Considerando isto, nos últimos cinquenta anos, houve um progresso significativo no desenvolvimento de drogas para serem utilizadas na depressão e para isto muitos modelos comportamentais em animais têm sido propostos (KULKARNI, 2007).

Estes testes comportamentais baseiam-se na associação clínica entre episódios de depressão e em eventos como o estresse. De fato, o estresse está tipicamente relacionado à depressão, seja na etiologia das desordens depressivas ou como uma consequência delas (ANISMAN; ZACHARKO, 1982; BROWN, 1993; LLOYD, 1980; SHERRILL *et al.*, 1997; TURNER; LLOYD, 1999). TNF e TSC, portanto, são modelos comportamentais que induzem estresse nos animais. Ambos são clássicos para detectar potenciais drogas antidepressivas (ROSA *et al.*, 2003), sendo sensíveis para a maioria destes fármacos, incluindo, tricíclicos,

inibidores seletivos para recaptação de serotonina, inibidores da monoamina oxidase e atípicos (PORSOLT, 1977; STERU, 1985).

Quando camundongos são forçados a nadar no TNF ou são suspensos em um espaço restrito no TSC, onde não há possibilidade de escapar, eventualmente cessam a luta e rendem-se a situação estressante. Este estado de imobilidade é, portanto, considerado como um desespero comportamental, o qual pode ser traduzido como comportamento depressivo (PORSOLT *et al.*, 1977, 1978). Desta forma, diversos estudos sugerem que drogas que diminuem o tempo de imobilidade no TNF e TSC podem sugerir possível ação antidepressiva (MELO, 2006 *et al.*; SILVA, 2007; KULKARNI; DIRH, 2007).

No presente trabalho, mostrou-se que o (-)-mentol (25 e 50 mg/kg), de forma dose-dependente, foi capaz de reduzir significativamente o tempo de imobilidade dos animais, de forma semelhante a imipramina 10 mg/Kg, uma droga antidepressiva tricíclica, utilizada como controle positivo para a validação do teste. Esses resultados sugerem que o (-)-mentol parece apresentar uma atividade antidepressiva.

Para corroborar ou não os resultados obtidos no TNF, o teste da suspensão da cauda foi também realizado (KULKARNI; DHIR, 2007). De forma semelhante ao observado no TNF, o (-)-mentol (25 mg/kg e 50 mg/kg) também reduziu o tempo de imobilidade dos camundongos no TSC, semelhantemente à imipramina (30 mg/kg), corroborando o efeito antidepressivo observado no TNF.

No entanto, os modelos do nado forçado e suspensão da cauda são testes baseados na resposta motora do animal e, portanto, drogas que aumentam a atividade motora podem fornecer resultados falso-positivos nestes testes (BORSINI; MELI, 1998). De fato, é mostrado na literatura que drogas estimulantes como a cafeína ou anfetaminas, reduzem a duração da imobilidade nos referidos testes (VIEIRA *et al.*, 2008). Levando em conta estas considerações, também se investigou os efeitos de (-)-mentol no teste do campo aberto (CA), um modelo animal clássico utilizado para avaliar efeitos das drogas e atividade autonômica dos animais (NOVAS *et al.*, 1988).

O comportamento dos roedores é determinado pelo conflito entre explorar áreas desconhecidas e o instinto de evitar perigos potenciais. A ansiedade inibe o comportamento

exploratório (atividade locomotora, *rearing* e manipulação de objetos) do animal (BARNETT, 1975). Um aumento ou diminuição deste comportamento pode ser, indiretamente, uma medida do nível de ansiedade (CRAWLEY, 1980; PELLOW, 1985).

Os parâmetros comportamentais mais usados no campo aberto para descrever influências dos eventos da vida ou da administração de drogas são locomoção, *rearing* e *grooming* (MONTGOMERY, 1958; ARAKAWA; IKEDA, 1991; REX *et al.*, 1996). Na realidade, o teste do campo aberto (TCA), freqüentemente, serve tanto para estudar drogas que aumentam ou diminuem a atividade motora. Os resultados do presente trabalho mostraram que o (-)-mentol, nas doses de 25 e 50 mg/kg, foi capaz de promover a deambulação em camundongos.

Outros parâmetros analisados foram o *rearing* e o *grooming*. Observou-se também o aumento de *rearing*, mas contrariamente ocorreu uma diminuição de *grooming* após administração de (-)- mentol nas doses de 25 e 50 mg/kg.

A atividade de *rearing* em roedores é descrita como um comportamento estereotipado complexo (DANDIYA *et al.*, 1969). Alguns autores sugerem que este comportamento parece estar relacionado com a hiperatividade dopaminérgica. Em alguns estudos o *rearing* tem sido também focalizado como um aspecto de comportamento exploratório (JOHANSSON; AHLENIUS, 1989), enquanto outros sugerem que agentes ansiolíticos diminuem o número de *rearing* (HUGHES, 1972; STOUT, 1994).

No presente trabalho, o mentol aumentou o número de *rearing* nas doses de 25 e 50 mg/kg, enquanto que o diazepam (2 mg/kg) diminuiu este parametro. Os resultados observados do aumento de *rearing*, induzido pelo mentol, pode estar relacionado a hiperatividade dopaminérgica, visto que drogas que aumentam a atividade dopaminérgica induzem um maior comportamento de *rearing* (SWANSON *et al.*, 1997).

De acordo com MacFarland e Reeder (1974), quase todos os animais gastam uma significativa parte do tempo no comportamento de *grooming*. Embora vários transmissores possam modular a expressão deste comportamento (MOODY *et al.*, 1988; TRABER *et al. apud* SERAFIM; FELICIO, 2001), a dopamina está particularmente envolvida (COOLS; SPRUIJT; ELLENBROEK *apud* SERAFIM; FELICIO, 2001; DRAGO *et al.*, 2000).

Neste estudo, o *grooming* foi reduzido pelo mentol no campo aberto. O diazepam, na dose de 2 mg/kg também diminuiu o *grooming*. Na literatura, é referido que o aumento de *grooming* é observado em roedores apreensivos (ARCHER, 1973), e em um grande número de estudos, pesquisadores observaram que drogas ansiolíticas reduzem o *grooming* no campo aberto (BARROS *et al.*, 1994; DUNN *et al.*, 1981; MOODY *et al.*, 1993). Alguns autores afirmam também que o *rearing* e o *grooming* (comportamentos estereotipados) estão envolvidos com os receptores dopaminérgicos do tipo D₂ (USHIJIMA *et al.*, 1995) e assim, mas uma vez neste parâmetro não podemos descartar a participação do sistema dopaminérgico.

Desta forma, parece que o efeito anti-imobilidade do mentol nos testes do nado forçado e suspensão da cauda nas doses de 25 e 50 mg/kg estão associados à atividade locomotora, uma vez que o mentol aumentou a atividade locomotora espontânea no campo aberto. Portanto, para avaliar os mecanismos envolvidos no efeito anti-imobilidade do mentol no TNF e aumento da atividade locomotora no TCA investigou-se a participação de receptores dopaminérgicos em ambos os testes.

Para isto, diferentes grupos foram pré-tratados com SCH23390 (antagonista dos receptores dopaminérgicos do tipo D₁) ou com sulpirida (antagonista dos receptores dopaminérgicos do tipo D₂) e posteriormente tratados com mentol. Os resultados mostraram que os efeitos de antiimobilidade no TNF e aumento da atividade locomotora no TCA do mentol 50 mg/kg foram revertidos pela sulpirida, mas não foram pelo SCH23390, sugerindo que o mentol apresenta efeito antiimobilidade, e, este efeito parece estar envolvido com os receptores dopaminérgicos do tipo D₂, mas não D₁. Esses resultados estão de acordo com os dados de outros pesquisadores que demonstraram que os efeitos de agonistas dopaminérgicos indiretos no teste de desespero comportamental depende da estimulação de receptores dopaminérgicos do tipo D₂, mas não do D₁ (VAUGEOIS *et al.*, 1996).

Considerando que o efeito anti-imobilidade do mentol no TNF foi revertido pela sulpirida, antagonista dopaminérgico D₂, sugerindo envolvimento do sistema dopaminérgico, resolveu-se investigar outra droga que agisse no sistema dopaminérgico, no caso, a bupropiona, um conhecido inibidor de recaptção de dopamina. Os resultados mostraram que a bupropiona 30 mg/kg causou uma diminuição da imobilidade e que este efeito foi revertido por ambos antagonistas, D₁ (SCH23390) e D₂ (sulpirida). Está bem documentado que existe uma interação funcional sinérgica entre os receptores D₁ e D₂ em vários tipos de comportamento (MENON *et al.*,

1988), mas no presente trabalho uma possível explicação para o efeito antidepressivo do mentol seria a sua capacidade de interagir com o receptor dopaminérgico do tipo D₂.

Visto que a bupropiona 30 mg/kg, semelhante ao mentol, causou diminuição da imobilidade no TNF, resolvemos também avaliar seus efeitos nesta dose sobre a atividade locomotora. Os resultados mostraram que, semelhante ao mentol, a bupropiona aumentou esta atividade. Outros trabalhos também mostram que a bupropiona na dose de 30 mg/kg também foi capaz de aumentar a atividade locomotora de camundongos (YAMADA; SUGIMOTO; YAMADA, 2004; MARTIN *et al.*, 1990; ASCHER *et al.*, 1995)

Considerando que o mentol e a bupropiona nas doses que causaram efeito antidepressivo no TNF também aumentaram a atividade locomotora no TCA, decidiu-se avaliar os efeitos destas drogas em doses menores (mentol 10 mg/kg e bupropiona 10 mg/kg) em ambos os testes. Observou-se que mentol e bupropiona, na dose de 10 mg/kg, causaram redução da imobilidade no nado forçado e nenhuma alteração na atividade locomotora no campo aberto, sugerindo que o efeito antidepressivo do mentol e da bupropiona é independente da atividade locomotora.

De fato, trabalhos anteriores usando a bupropiona em doses menores (10 mg/kg) mostraram que esta droga reduz o tempo de imobilidade no nado forçado e não altera a atividade locomotora do campo aberto, corroborando sua atividade antidepressiva (YAMADA; SUGIMOTO; YAMADA, 2004; MARTIN *et al.*, 1990; ASCHER *et al.*, 1995). Com relação ao mentol, corroborando nossos dados com Umezu *et al.* (2001) demonstraram que em doses bem maiores (80 – 800 mg/kg) foi capaz de promover a deambulação em camundongos.

Então, nossos resultados mostram que aos efeitos do mentol no TNF e TCA estão relacionados aos receptores D₂. Sabe-se que estes receptores podem estar localizados em ambos os terminais pré e pós-sináptico (CALLEY; WEBER, 1995). Alguns trabalhos sugerem que os receptores D₂ pós-sinápticos apresentam efeito sedativo (DRAGO *et al.*, 2000) e, assim, considerando que o mentol, em doses baixas não alterou e em doses mais altas aumentou a atividade locomotora, pode-se especular que o seu efeito antiimobilidade no TNF possa envolver receptores D₂ pré-sinápticos. Corroborando com nossos resultados que mostraram efeito antidepressivo-símile do mentol, podemos citar a teoria dopaminérgica da depressão, segundo a qual, drogas que preferencialmente bloqueiam os autoreceptores dopaminérgicos e

aumentam a liberação de dopamina podem ser eficazes como antidepressivos. Neste mesmo sentido, pesquisas também mostram que neurolépticos atípicos como a sulpirida em baixas doses, podem ser efetivos em pacientes com depressão, inclusive distímia (GESSA, 1996).

De fato, parece que benzamidas, como a sulpirida, assim como outros neurolépticos, podem atuar preferencialmente como antidepressivos antagonistas dopaminérgicos pré-sinápticos, somente em baixas doses, promovendo o aumento do *turnover* de dopamina. A evidência bioquímica para esta ação pode ser vista pelo aumento dos níveis de DOPAC e HVA, ambos metabólitos da dopamina, após a administração de pequenas doses de sulpirida (SCATTON *et al.*, 1977; TISSARI *et al.*, 1979). Outros estudos realizados (dados não mostrados), também apresentaram um aumento significativo desses metabólitos, após administração de (-)-mentol na dose de 50 mg/kg.

Apesar de especular-se no presente trabalho, que os efeitos do mentol no TNF e TCA sejam devidos a sua ação antagonista D₂, os efeitos de agonistas e antagonistas dopaminérgicos na depressão são diversos. Curiosamente, alguns estudos demonstram que a imobilidade vista no TNF pode ser revertida por antidepressivos agonistas de D₂/ D₃, tais como bromocriptina e piribedil, agonistas dopaminérgicos utilizados na Doença de Parkinson (BORSINI; MELI, 1990). Outros trabalhos mostram que em certas circunstâncias, antagonistas dos receptores dopaminérgicos também apresentam atividade antidepressiva (DRAGO *et al.*, 2000).

Como o mentol (25 e 50 mg/kg) aumentou a atividade locomotora, não se pode descartar uma ação estimulante. Entretanto, vale salientar que a literatura relata que drogas psicoestimulantes, como cocaína e anfetaminas, induzem movimentos estereotipados (WELLMAN *et al.*, 2009) e estes movimentos não foram observados após o tratamento agudo com mentol em nenhum dos testes realizados.

Depois de investigar o envolvimento do sistema dopaminérgico nos efeitos do mentol no TNF, resolveu-se avaliar a participação do sistema noradrenérgico. É bem esclarecido que, além do sistema dopaminérgico, o sistema noradrenérgico está envolvido na fisiopatologia e tratamento da depressão (POSSER *et al.*, 2009). A teoria original da depressão foi baseada na observação de que muitos antidepressivos eram inibidores de transporte de 5-HT e NA na porção final pré-sináptica, aumentando a neurotransmissão monoaminérgica (GLOWINSKI; AXELROD, 1964; ROSS; RENYI, 1969).

As bases biológicas dos transtornos depressivos têm sido explicadas por meio da hipótese monoaminérgica da depressão. Essa teoria propõe que a depressão seja consequência de uma menor disponibilidade de aminas biogênicas cerebrais, em particular de serotonina, noradrenalina e/ou dopamina. Tal proposição é reforçada pelo conhecimento do mecanismo de ação dos antidepressivos, que se baseia, principalmente, no aumento da disponibilidade desses neurotransmissores na fenda sináptica, seja pela inibição (seletiva ou não) de suas recaptações, seja pela inibição da enzima responsável por suas degradações (inibidores da monoaminoxidase) (VISMARI *et al.*, 2008).

O papel da noradrenalina na depressão tem sido amplamente estudado. A depressão tem sido associada com a hipofuncionalidade do sistema noradrenérgico (CARDOSO *et al.*, 2008). Acredita-se ainda que os processos neuroquímicos envolvidos com a depressão estejam envolvidos com neurotransmissores noradrenérgicos e concomitante a isso com a diminuição da concentração extracelular de noradrenalina e serotonina.

Diante disso, investigou-se o envolvimento do sistema noradrenérgico no efeito antidepressivo do mentol no TNF. Em nosso estudo, prazosina, uma droga antagonista adrenérgica alfa-1, foi capaz de reverter o efeito anti-imobilidade, indicando a possível participação dos receptores adrenérgicos alfa-1. A ioimbina, que é um antagonista alfa-2 adrenérgico, também foi utilizada, mas não causou nenhuma alteração nos efeitos do mentol, descartando o envolvimento destes receptores no efeito anti-imobilidade do mentol neste teste.

Portanto, de acordo com nossos resultados, o possível efeito antidepressivo do (-)-mentol foi significativamente revertido no tratamento de animais com prazosina (um antagonista α_1 -adrenoreceptor) e sulpirida (um antagonista D_2 -dopaminérgico) quando testado no TNF. Isto sugere que o (-)-mentol pode produzir efeito antidepressivo-símile por interação com receptores α_1 - adrenérgico e D_2 dopaminérgico, assim, aumentando os níveis de noradrenalina e dopamina, respectivamente, no cérebro de camundongos. Observou-se ainda no TCA que mentol na dose 50 mg/kg provocou aumento na atividade locomotora e que sulpirida, antagonista seletivo dos receptores D_2 -símile, antagonizou completamente os efeitos do (-) - mentol no TCA. Isto também sugere a participação dos receptores dopaminérgicos D_2 nas ações do (-)-mentol.

Dando continuidade ao screening dos efeitos do mentol, além do teste de avaliação da atividade locomotora, foi utilizado também o teste de *rota rod*. Este teste é usado para medir o

desempenho da coordenação motora nos animais (SEDELIS *et al.*, 2001). É um modelo que também serve para detectar déficits neurológicos em ratos e camundongos (DUNHAM; MIYA, 1957). O mentol, 25 e 50 mg/kg, não alterou o tempo de permanência no teste do *rota rod*, diferentemente do diazepam que diminuiu este parâmetro, sugerindo um efeito relaxante muscular. Esses resultados indicam que o mentol, provavelmente, não causa bloqueio neuromuscular central (ADZU *et al.*, 2002; PEREZ *et al.*, 1998; AMOS *et al.*, 2001).

Uma outra ferramenta útil para analisar efeitos estimulantes ou inibitórios das drogas que atuam no SNC é o teste do tempo de sono induzido por pentobarbital em camundongos. Muitos hipnóticos, ansiolíticos e antiepilépticos podem aumentar o tempo de sono induzido por pentobarbital (SILVA *et al.*, 2007), enquanto drogas estimulantes, como cocaína e anfetaminas, diminuem a duração do sono (HASCOET; BOURIN, 1998; PAINE *et al.*, 2002). Em nossos experimentos, (-)-mentol, nas doses que aumentaram a atividade locomotora no TCA, foi capaz de reduzir a duração do sono no teste de sono induzido por pentobarbital, sem alteração na latência. Estes resultados podem ser sugestivos de provável ação estimulante o que corrobora os efeitos na ALE observados nestas doses no campo aberto.

No entanto, é relevante destacar que este teste não é específico, visto que compostos que interferem na biotransformação do pentobarbital pelo complexo citocromo P450 podem mostrar os mesmos efeitos de drogas depressoras do sistema nervoso central (GOLOUBKOVA *et al.*, 1998). Além disso, em um estudo realizado por Grigoleit (2004) utilizando ratos, foi observado que a administração repetida de (-)-mentol 800 mg / kg durante 3 dias resultou em aumento da quantidade do citocromo mitocondrial hepático P-450 e da atividade do NADPH-citocromo C redutase em quase 80%. Entretanto, em nosso protocolo, usamos doses bem mais baixas e o tratamento foi agudo, mas não podemos descartar a possível interferência do mentol na biotransformação do pentobarbital. Desta forma, investigações posteriores podem ser realizadas para esclarecer o efeito do (-)-mentol neste ensaio.

Recentemente vários monoterpenos estruturalmente relacionados presentes em muitos óleos essenciais, entre eles, (-) - neomenthol, um isômero do (-)-mentol, e isopulegol, um intermediário na preparação de (-)-mentol, foram avaliados em camundongos quanto ao seu potencial sedativo (DE SOUSA *et al.*, 2007). Os autores observaram diferentes efeitos no tempo de sono induzido por pentobarbital entre as substâncias testadas. Em estudo realizado neste laboratório, Silva *et al.* (2007) também demonstraram que o isopulegol, cuja estrutura química

difere do mentol apenas por uma dupla ligação na cadeia alifática, foi capaz de aumentar o tempo de sono induzido por pentobarbital em camundongos nas doses de 25 e 50 mg/kg, enquanto no presente estudo, o (-)-mentol induziu efeito oposto. Os autores dos estudos citados sugerem, portanto, que tais diferenças nas ações dos monoterpenos estudados estão, possivelmente, relacionadas às estruturas químicas desses compostos.

Hall *et al.* (2004) observaram que o isômero (+)-mentol é um potente modulador de receptores de GABA_A, de forma semelhante a vários monoterpenos, tais como o isomentol (WATT *et al.*, 2008) e borneol (GRANGER *et al.*, 2005). Os receptores GABA_A são os principais receptores ionotrópicos responsáveis pela neurotransmissão inibitória em seres humanos (ALMEIDA *et al.*, 2008) e, conseqüentemente, consiste em um alvo para as pesquisas sobre a fisiopatogenia e terapêutica da epilepsia (GROVES *et al.*, 2006). Drogas como os benzodiazepínicos e alguns barbitúricos parecem atuar potencializando a inibição sináptica mediada por GABA, reduzindo a excitabilidade neuronal e aumentando o limiar convulsivante (VELLUCCI; WEBSTER, 1984; CRAWLEY *et al.*, 1986; WIELAND *et al.*, 1995; BRITTON *et al.*, 1991).

Nesse contexto, é largamente reconhecido que o PTZ leva a convulsões tônico-clônicas por suprimir os efeitos inibitórios da transmissão GABAérgica (FRADLEY *et al.*, 2007) e, portanto, tem sido largamente utilizado para induzir convulsões experimentalmente e investigar o potencial anticonvulsivante de substâncias. Assim, considerando que o isômero (+)-mentol foi descrito como modulador GABAérgico e que muitas substâncias que atuam modulando este sistema apresenta atividade anticonvulsivante, no presente estudo a possível atividade anticonvulsivante do (-)-mentol através do modelo animal clássico das convulsões induzidas pelo PTZ foi também investigada.

O diazepam, utilizado como padrão positivo nos experimentos, aumentou a latência da convulsão e ocorreu 100% de sobrevivência dos animais. O mentol na dose de 50 mg/kg aumentou a latência da convulsão e a latência de morte. Esses resultados poderiam indicar que o mentol apresenta um possível efeito anticonvulsivante. Este efeito poderia estar relacionado com o sistema gabaérgico, visto que outros estudos demonstraram a interação de seu isômero (+)-mentol com o receptor GABA_A/Benzodiazepínico (HALL, 2004; WATT, 2008).

Sabe-se que a dopamina estimula a liberação de GABA no sistema gabaérgico no córtex pré-frontal. Ainda não está bem claro como os subtipos de receptores dopaminérgicos ativam essa liberação de GABA. Mas, já se sabe que os receptores D₂ podem promover essa liberação (WILSON *et al.*, 1997). Segundo Nakazato *et al.* (1998), a administração aguda de antagonista D₂ inibe a liberação de acetilcolina e de serotonina, promovendo aumento da liberação de GABA. Este dado torna-se interessante por que estudos anteriores relatam que o mentol apresentou efeito sobre o sistema dopaminérgico e gabaérgico (HALL *et al.*, 2004). Neste trabalho, observou-se que os receptores dopaminérgicos D₂ estão envolvidos nos efeitos do mentol.

Segundo trabalhos realizados por este grupo, a pimozida 20 mg/Kg, um antagonista D₂, diminuiu a latência para primeira convulsão induzida por cocaína. Estudos prévios têm mostrado que agonistas dopaminérgicos D₂, como a bromocriptina, inibe as convulsões induzidas por cocaína e este efeito foi revertido por antagonistas D₂, como o haloperidol (MÂCEDO *et al.*, 2004). Portanto, faz-se necessário maior aprofundamento da participação do (-)-mentol, já que há envolvimento direto dele com receptores D₂.

II - Estudo da Ação Gastroprotetora do (-)-Mentol

Além do uso popular para fadiga mental, o chá de hortelã é comumente utilizado nos distúrbios gastrintestinais desde tempos remotos (WATT *et al.*, 2008). Desta forma, no presente estudo, além de avaliar a atividade no SNC, investigou-se também, se o (-)-mentol seria capaz de promover, em camundongos, gastroproteção comparáveis aos apresentados pela hortelã na medicina popular brasileira.

Vários são os mecanismos relacionados com a produção de úlcera gástrica, e desta forma não é possível sugerir um único mecanismo para explicá-la. Neste contexto, a fim de investigar o efeito gastroprotetor do (-)-mentol, diferentes ferramentas farmacológicas foram utilizadas neste trabalho.

Com base nisto, para avaliar a capacidade do mentol em proteger a mucosa gástrica foram utilizados os modelos de lesão aguda induzidos por etanol e indometacina. Etanol é conhecido por ser capaz de reduzir o fluxo de massa da mucosa gástrica, assim como também, na redução da produção de muco e na diminuição dos níveis de glutathione e prostaglandinas (GUPTA *et al.*, 2005). É ainda capaz de produzir lesões necróticas na mucosa gástrica, gerando a redução de secreção de bicarbonato, além de modificar sua composição de glicoproteínas (MARHUENDA *et al.*, 1993).

A indução da lesão gástrica pelo etanol ocorre devido a redução do fluxo sangüíneo na mucosa gástrica, seguida de estase sangüínea, que contribui para o desenvolvimento de hemorragias e necrose de tecidos (GUTH, 1984). A presença de ácido clorídrico somente acelera e agrava este processo (MIZUI; DOTEUCHI, 1983).

No modelo utilizando o etanol como indutor de úlcera, mostrou-se que, quando comparado aos controles, a administração oral de (-)-mentol, em doses maiores que aquelas utilizadas para o screening do SNC, (100 e 200 mg/kg, v.o.) foi capaz de reduzir significativamente a percentagem de área gástrica ulcerada induzida por etanol, similarmente à ciproptadina, usada como controle positivo neste teste. Estas doses são consideradas seguras já que o mentol apresenta baixa toxicidade. Em estudos anteriores, o mentol apresentou toxicidade oral aguda de 3.180 mg/kg em ratas (FISPQ, 2007).

Outro fator que leva ao desequilíbrio dos fatores protetores da mucosa gástrica são os AINES. Sua ação anti-inflamatória através da inibição da enzima COX (cicloxigenase) e, conseqüente, redução da produção de PG, é responsável pelas lesões gástricas, haja visto que as prostaglandinas são essenciais para a manutenção da integridade da mucosa gástrica envolvendo mais de um mecanismo de ação (ODABASOGLU *et al.*, 2006). Os AINES provocam lesões na mucosa gástrica por mais de uma via, como por exemplo, ao inibirem COX-1 reduzem o fluxo sanguíneo, ao inibirem COX-2 aumentam a aderência de leucócitos no endotélio vascular e por uma ação tópica direta causam irritação da mucosa (WALLACE, 2006). As prostaglandinas também participam da regulação da secreção de bicarbonato e do reparo de células da mucosa (HAYLLAR; BJARNASON, 1995). O envolvimento das prostaglandinas na proteção da mucosa gástrica exercida pelo mentol foi verificado através do modelo de lesão induzida por indometacina.

No presente estudo, os animais pré-tratados com (-)-mentol apresentaram redução significativa da lesão tecidual causado pela administração de indometacina. Estes resultados sugerem o possível envolvimento de prostaglandinas e / ou muco no efeito antiulcera de (-)-mentol. Como esperado, a ranitidina, um reconhecido antagonista de receptores H_2 (ADEYEMI *et al.*, 2005), utilizado como controle positivo neste teste, produziu a diminuição das lesões gástricas por ação anti-secretória.

Eguchi *et al.* (2007), demonstraram que as prostaglandinas endógenas agem como ativadores de canais de potássio e este mecanismo, pelo menos em parte, é responsável por gastroproteção.

A capacidade da glibenclamida, droga antidiabética da classe das sulfoniluréias que fecham os canais de potássio dependente de ATP (K^+_{ATP}), e do diazóxido um vasodilatador que abre os canais K^+_{ATP} , de alterar os efeitos gastroprotetores de algumas drogas tem sido aceita como evidência para sugerir o envolvimento desses canais na fisiologia das funções gástricas (SAKAI *et al.*, 1999). Dessa forma, se decidiu investigar o envolvimento dos canais de potássio através do tratamento prévio com glibenclamida, um potente antagonista que permite o fechamento destes canais (AKAR *et al.*, 1999) para avaliar sua influência sobre a ação gastroprotetora do (-)-mentol.

Verificou-se que o mentol (200 mg/kg) reduziu a lesão gástrica induzida por etanol e este efeito gastroprotetor foi revertido pela glibenclamida (5 mg/kg, i.p.), sugerindo, assim, que o efeito do (-)-mentol pode está relacionado à abertura dos canais de potássio.

É também conhecido que o óxido nítrico (NO) desempenha um papel importante na defesa do hospedeiro e resposta inflamatória. Na mucosa gástrica, desempenha um mecanismo de proteção contra as lesões induzidas por pressão, etanol, estresse e endotoxinas (PAN *et al.*, 2005). NO, principal fator relaxante derivado do endotélio (EDRF), realiza o relaxamento de células musculares lisas por estimulação da guanilato ciclase. O acúmulo de GMP cíclico promove alterações em alguns processos biológicos, incluindo a ativação dos canais de potássio através da proteína quinase dependente de GMPc (BOLOTINA *et al.*, 1994).

Foi demonstrado que L-NAME, um inibidor específico da NO sintase, induz de forma dose-dependente lesões agudas da mucosa e este efeito foi inibido pela administração concomitante de L-arginina, precursor de NO (SAMINI *et al.*, 2002). No presente estudo, o pré-tratamento com L-NAME, não foi capaz de reverter a gastroproteção promovida pelo (-)-mentol, sugerindo que seu efeito provavelmente não é mediado pelo precursor de NO.

Sabe-se também que espécies reativas derivadas de oxigênio (ERO) desempenham um papel importante na patogênese da lesão de vários tecidos, incluindo o sistema digestivo. De fato, o envolvimento de espécies reativas, como o ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila têm sido bem estabelecido na patogênese da lesão isquêmica da mucosa gastrointestinal nos modelos induzidas por lesões causadas por antiinflamatórios não-esteróides, por etanol, restrição alimentar, estresse e *H. pylori* (DEMIR *et al.*, 2003). O GSH age como antioxidante e é importante para a manutenção da integridade da mucosa do estômago (PONGPIRIYADACHA *et al.*, 2003), servindo como um doador de elétrons para determinadas enzimas antioxidantes, como, por exemplo, glutatona peroxidase (DENGIZ *et al.*, 2007).

Portanto, avaliou-se o envolvimento do efeito gastroprotetor do (-)-mentol sobre o conteúdo de GSH. Os resultados deste trabalho mostraram que a concentração de GSH na mucosa gástrica foi diminuída após a administração de etanol e o (-)-mentol foi capaz de inibir esta alteração. N-acetil cisteína (NAC), um reconhecido aminoácido essencial na formação de GSH, como esperado, preveniu a redução na concentração de GSH induzida pelo etanol. Estes

resultados sugerem que a ação gastroprotera induzida pelo (-)-mentol pode estar, pelo menos em parte, relacionada à propriedades antioxidantes dependentes de GSH.

O mentol mostrou-se bastante promissor nos modelos animais de depressão. Apresentou efeitos antidepressivos e, estes parecem estar envolvidos com o sistema dopaminérgico, com a participação do receptor dopaminérgico do tipo D₂ e dos receptores noradrenérgicos do tipo α 1. Os efeitos antidepressivos foram visto em doses menores. Enquanto que em doses maiores apresentou um efeito psicoestimulante. O (-)-mentol parece ser desprovido de efeito ansiolítico, considerando que esta droga não causou alteração no teste labirinto em cruz elevada e também nenhum efeito no rota rod, descartando qualquer ação relaxante muscular. Apresentou ainda efeito anticonvulsivante. Em conjunto, estes resultados obtidos no testes nado forçado, suspensão da cauda campo aberto e tempo de sono induzido por pentobarbital forneceram um apoio adicional para a utilização do mentol na fadiga mental.

Conclui-se ainda que o efeito gastroprotetor do (-)-mentol é possivelmente mediado, em parte, por prostaglandinas endógenas, por abertura dos canais de potássio dependente de ATP e pelas suas propriedades antioxidantes. Os achados corroboram com o uso tradicional do mentol e justificam seu uso como ferramenta útil na gastroproteção natural.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo dos efeitos centrais do (-)-mentol, em vários modelos comportamentais, permitiu as seguintes considerações:

- ✓ Nos testes do labirinto em cruz elevado, (-)-mentol, em nenhuma das doses estudadas, causou alteração em nenhum dos parâmetros estudados.
- ✓ No teste nado forçado e suspensão da cauda, o (-)-mentol apresentou efeito antidepressivo em todas as doses analisadas.
- ✓ No teste do campo aberto, a atividade locomotora foi aumentada nas doses 25 e 50 mg/kg. Enquanto que nas doses de 10 mg/kg não houve alteração deste parâmetro. (-)-mentol aumentou o número de *rearing*, nas doses 25 e 50 mg/kg, sugerindo um possível efeito estimulante, sendo desprovida de efeito sedativo, pois não alterou a atividade locomotora espontânea dos animais. Houve diminuição do *grooming* em ambas as doses.
- ✓ Nos testes do labirinto em cruz elevado, (-)-mentol não causou alteração em nenhum parâmetro.
- ✓ No teste do *rota rod*, a coordenação motora dos animais não foi alterada, mostrando que os efeitos desta substância não estão relacionados com o bloqueio neuromuscular periférico, mas sim, ocasionados centralmente.
- ✓ No teste do tempo de sono induzido por pentobarbital, (-)-mentol, em ambas as doses, não causou alteração no parâmetro latência de sono, mas na duração de sono, houve redução em ambas as doses.
- ✓ No teste da convulsão induzida por pentilenotetrazol, (-)-mentol, na dose de 50 mg/kg, alterou a latência de convulsão e de morte, sugerindo assim um possível efeito anticonvulsivante, que pode estar relacionado com o sistema gabaérgico devido a sua interação com o receptor GABA_A/Benzodiazepínico, como visualizado em estudos anteriores.

- ✓ O mecanismo de ação anti-imobilidade do mentol, analisado no teste do nado forçado, parece estar envolvido com os sistemas dopaminérgico e noradrenérgico, sugerindo uma possível ativação dos receptores dopaminérgicos do tipo D₂, assim como também visto no teste campo aberto, e noradrenérgico, especificamente com ativação dos receptores adrenérgicos do tipo α_1 .
- ✓ Este trabalho permitiu concluir que mentol apresenta efeito antidepressivo, em doses menores, 10 mg/kg, e efeitos psicoestimulantes na dose de 25 e 50 mg/kg, sendo seu efeito antiimobilidade relacionado com receptores dopaminérgicos e noradrenérgicos.
- ✓ No que se refere ao efeito gastroprotetor, (-)-mentol parece possuir uma ação gastroprotetora nos modelos induzidos por etanol e indometacina.
- ✓ A ação gastroprotetora do (-)-mentol se deve possivelmente pela participação dos canais de potássio dependentes de ATP. e a ação antioxidante, por proporcionar o aumento de GSH.

REFERÊNCIAS

- ABDELGALEIL, S. A. M. *et al.* Fumigant and Contact Toxicities of Monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their Inhibitory Effects on Acetylcholinesterase Activity. **J. Chem. Ecol.**, v. 35, p. 518-525, 2009.
- ADEYEMI E. O. *et al.* Mechanisms of action of leptin in preventing gastric ulcer. **World J. Gastroenterol.**, v. 11, n. 27, p. 4154-4160, 2005.
- ADZU, B.; AMOS, S.; DZARMA, S.; WAMBEBE, C.; GAMANIEL, K. Effect of *Zizyphus spina-christi* Willd aqueous extract on the central nervous system in mice. **J. Ethnopharmacol.**, v. 79, p. 13-16, 2002.
- AFIFI, F. U. *et al.* Evaluation of the gastroprotective effect of *Laurus nobilis* seeds on ethanol induced gastric ulcer in rats. **J. Ethnopharmacol.**, v. 58, p. 9-14, 1997.
- AKAR, F. *et al.* Protective effect of cromakalim and diazoxide, and proulcerogenic effect of glibenclamide on indomethacin-induced gastric injury. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 374, p. 461-470, 1999.
- ALIBABA GROUP. Cristais naturais do mentol. http://img.mercadolivre.com.br/jm/img?s=MLB&f=81499347_6962.jpg&v=E . Acesso em 20 de junho de 2009.
- ALICAN, I.; KUBES, P. A critical role for nitric oxide in intestinal barrier function and dysfunction. **Am. J. Physiol.**, v.270, p. 225-237, 1996.
- AL-SHABANAH, O. A. *et al.* Effect of ninhydrin on biochemical and histopathological changes induced by ethanol in gastric mucosa of rats. **Life Sci.**, v. 67, n.5, p. 559-566, 2000.
- AL-QARAWI, A. A. The ameliorative effect of dates (*Phoenix dactylifera* L.) on ethanol-induced gastric ulcer in rats. **J. Ethnopharmacol.**, v. 98, p. 313-317, 2005.
- ALMEIDA R. N.; NAVARRO, D. S.; BARBOSA-FILHO, J. M. Plants with central analgesic activity. **Phytomedicine**, v. 8, p. 310-322, 2001.
- ALMEIDA, R. N.; MOTTA, S. C.; LEITE, J. R. Óleos essenciais com propriedades anticonvulsivantes. **Bol. Latinoam. Caribe Plantas Méd. Aromat.**, v. 2, p. 3-6, 2003.
- AMARAL, J. F. *et al.* Antinociceptive Effect of the Monoterpene R-(+)-Limonene in Mice. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 30, p. 1217-1220, 2007.
- AMOS, S.; ADZU, B.; BINDA, L.; WAMBEBE, C.; GAMANIEL, K. Neuropharmacological effect of the aqueous extract of *Sphaeranthus senegalensis* in mice. **J. Ethnopharmacol.**, v. 78, p. 33-37, 2001.
- ANDRADE, S.F. *et al.* Evaluation of the antiulcerogenic activity of *Maytenus robusta* (Celastraceae) in different experimental ulcer models. **J. Ethnopharmacol.**, v. 113, p. 252-257, 2007.

ANDREATINI, R. *et al.* Tratamento farmacológico do transtorno de ansiedade generalizada: perspectivas futuras. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v.4, p.233-242, 2001.

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

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

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

ASCHER, J.A.; COLE, J.O.; COLIN, J.N.; FEIGHNER, J.P.; FERRIS, R.M.; FIBIGER, H.C.; GOLDEN, R.N.; MARTIN, P.; POTTER, W.Z.; RICHELSON, E.; SULSER, F. Bupropion: a review of its mechanism of antidepressant activity. **J. Clin. Psychiatry**, v. 56, p. 395-401, 1995.

BAHLS, S.C. Depressão: uma breve revisão dos fundamentos biológicos e cognitivos. Curitiba, **Interação**, v. 3, p. 49-60, jan/dez. 1999.

BARNETT, S.A. **The rat**: a study in behavior. Chicago: University of Chicago Press, 1975.

BARROS, H. M.; TANNHAUSER, S. L.; TANNHAUSER, A. L.; TANNHAUSER, M. The effects of GABAergic drugs on grooming behavior in the open field. **Pharmacol. Toxicol.**, v. 74, p. 339-344, 1994.

BEEJAY, U.; WOLFE, M. M. Acute gastrointestinal bleeding in the intensive care unit. The gastroenterologist's perspective. **Gastroenterol. Clin. N. Am.**, v.29, n.2, p.309-336, 2000.

BELAICHE, J. *et al.* Study Group of NSAID-GI complications. Observational survey of NSAID-related upper gastro-intestinal adverse events in Belgium. **Acta Gastroenterol. Belgium**, v. 65, p. 65–73, 2002.

BHARGAVA, K. P.; GUPTA, M. B.; TANGRI, K. K. Mechanism of ulcerogenic activity of indomethacin and oxyphenbutazone. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 22, n. 2, p. 191-195, 1973.

BOLOTINA, V.M. *et al.* Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. **Nature**, v. 368, p. 850-853, 1994.

BOOTHE, D. M. Gastrointestinal Pharmacology. **Vet. Clin. N. Am. Small Anim. Practice**, v. 29, n. 2, p. 343-376, 1999.

BORSINI, F.; MELI, A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? **Psychopharmacology**, v. 94, p. 147-160, 1998.

BORSINI, F.; MELI, A. The forced swimming test: its contribution to the understanding of the mechanism of action of antidepressant. In: GESSA, G. L.; SERRA, G. (Ed.). Dopamine and Mental Depression: Pergamon, Nova Iorque, pp. 139-146, 1990.

BOYD, E. M.; SHEPPARD, E. P. A bronchomucotropic action in rabbits from inhaled menthol and thymol. **Arch. Int. Pharmacodyn.**, v. 182, n. 1, p. 206–214, 1969.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 17, de 24 de fevereiro de 2000. Aprova o regulamento técnico visando normatizar o registro de medicamentos fitoterápicos junto ao sistema de vigilância sanitária. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 25 fev. 2000.

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] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 3 de maio, 2006. n. 84, seção 1.

BRASILEIRO, B. G. *et al.* Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no "Programa de Saúde da Família", Governador Valadares, MG, Brasil. **Rev. Bras. Cienc. Farm. São Paulo**, v. 44, n. 4, out./dez. 2008.

BRITTON, K.T.; PAGE, M.; BALDWIN, H.; KOOB, G. F. Anxiolytic activity of steroid anesthetic alphaxalone. **Pharmacol. Exp. Therap.**, v. 258, p. 124-129, 1991.

BROCARD, P. S. *et al.* Folic acid administration produces an antidepressant-like effect in mice: evidence for the involvement of the serotonergic and noradrenergic systems. **Neuropharmacology**, v. 54, p. 464-475, 2008.

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

BURKHART, C.G.; BURKHART, H.R. Contact irritant dermatitis and anti-pruritic agents: the need to address the itch. **J. Drugs Dermatol.**, v. 2, p. 143-146, Apr. 2003.

BYLUND, D. B. *et al.* IV International Union of Pharmacology Nomenclature of Adrenoreceptors. **Pharmacol. Rev.**, v. 46, 1994.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Braz. J. Biol. Res.**, v. 33, p. 179-189, 2000.

CALLEY, C. F.; WEBER, S. S. Sulpiride: an antipsychotic with selective dopaminergic antagonist properties. **Ann. Pharmacother.**, v. 29, p. 152-160, 1995.

CARDOSO, C. C. *et al.* Evidence for the involvement of the monoaminergic system in the antidepressant-like effect of magnesium. **Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 33, n.2, p. 235-242, 2008.

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

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

CARVALHO, A. *et al.* Avaliação do potencial patogénico dos genes *sabA* e *hopZ* de estirpes de *helicobacter pylori* isoladas numa população portuguesa. **J. Port. Gastroenterol.**, v. 13, p. 258-266, 2006.

CASTRO, F.G. Physiological, psychological, social, and cultural influences on the use of menthol cigarettes among Blacks and Hispanics. **Nicotine Tob. Res.**, v. 6, p. 29–41, 2004.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Quím. Nova**, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.

CHANDRANATH, S.I.; BASTAKI, S.M.A.; SINGH, J.A. Comparative study on the activity of lansoprazole, omeprazole and PD-136450 on acidified ethanol- and indomethacin-induced gastric lesions in the rat. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v. 29, n. 3, p. 173-180, 2002.

CHIYOTANI, A.; TAMAOKI, J. Effect of menthol on peak expiratory flow in patients with bronchial asthma. **Jpn. J. Chest. Dis.**, v. 53, n. 11, p. 949–953, 1994.

COHEN, M. M. Role of endogenous prostaglandins in gastric secretion and mucosal defense. **Clin. Invest. Med.**, v. 10, n. 3, p. 226–231, 1987.

CORRÊA, A. D.; BATISTA, R. S.; QUINTAS, L. E. M. **Plantas medicinais, do cultivo à terapêutica**. 6. ed. Petrópolis, RJ: Vozes, 2003.

CRAWLEY, L.N.; GOODWIN, F.K. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v.13, p.167-170, 1980.

CRUZ, A.P.M. *et al.* Modelos Animais de Ansiedade: Implicações Para a Seleção de Drogas Ansiolíticas. **Psicol. Teoria Pesqui.**, v. 13, n. 3, p. 269-278, set./dez. 1997.

CUMMINGS, K.M. *et al.* Cigarette advertising and black–white differences in brand preference. **Public Health Rep.**, v. 102, p. 698–701, 1987.

D'ACAMPORA, A.L. *et al.* Perfil epidemiológico dos pacientes portadores de úlcera péptica perforada atendidos no centro cirúrgico do Hospital Florianópolis. **Med. Res.**, v. 10, n. 4, p. 141-146, 2008

D'AQUILA, P. S. *et al.* The role of dopamine in the mechanism of action of antidepressant drugs. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 405, p. 365–373, 2000.

DANDIYA, P. C.; GUPTA, B. D.; GUPTA, M. L.; PATNI, S. K. Effects of LSD on open field performance I rats. **Psychopharmacologia**, v. 15, p. 333-340, 1969.

DAS, D. *et al.* Hydroxyl radical is the major causative factor in stress-induced gastric ulceration. **Free Rad. Biol. Med.**, v. 23, p. 8-18, 1997.

DAWN, A.; YOSIPOVITCH, G. Treating itch in psoriasis. **Dermatol. Nurs.**, v. 18, p. 227-233, 2006.

DEL PORTO, J.A. **Depressão: conceito e diagnóstico**. São Paulo: Casa do Psicólogo, 2002. (Atualização em Psiquiatria 1).

DEMIR, S. *et al.* Role of free radicals in peptic ulcer and gastritis. **Turk. J. Gastroenterol.**, v. 14, n. 1, p. 39–43, 2003.

DENGIZ, G. O. *et al.* Gastroprotective and Antioxidant Effects of Montelukast on Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Rats. **J. Pharmacol. Sci.**, v. 105, p. 94 – 102, 2007.

DORMAN, H. J. *et al.* Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties and cultivars. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, n. 16, p. 4563-4569, 2003.

DRAGO, F.; AREZZI, A.; VIRZI, A. Effects of acute or chronic administration of substituted benzoamide in experimental models of depression in rats. **Eur. Neuropsychopharmacol.**, v. 10, p. 437-422, 2000.

DUNHAM, N.W.; MIYA, T.S. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficits in rats and mice. **J. Am. Pharm. Assoc.**, v. 46, p. 208, 1957.

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

ECCLES, R.; JONES, A. S. The effect of menthol on nasal resistance to airflow. **J. Laryngol. Otol.**, v. 97, n. 8, p. 705–709, 1983.

ECCLES, R. Menthol and related cooling compounds. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 46, p. 18-630, 1994.

EGUCHI, S. *et al.* Effects of prostaglandin E1 on vascular ATP-Sensitive potassium channels. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**, v. 50, n. 6, p. 686-691, 2007.

FAGUNDES, A. O. N. **Efeito da administração de metilfenidato sobre a cadeia respiratória mitocondrial em cérebro de ratos jovens**. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2007.

FEBRAFARMA 2007. Fitoterápico atrai investimentos. Disponível em: <<http://www.febrafarma.org.br/areas.php?area=pu&secao=38&modulo=materias>>. Acesso em: 2 fev. 2009.

FERRAZ, J. G.; TIGLEY, A.W.; APPELEYARD, C. B.; WALLACE, J. L. TNF-alpha contributes to the pathogenesis of ethanol-induced gastric damage in cirrhotic rats. **Am. J. Physiol.**, v. 272, n. 4, Pt. 1, p. G809-G814, 1997.

FERREIRA, S. H. *et al.* **Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1998.

FISPQ – FICHA DE INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA DE PRODUTO QUÍMICO nº 074. Mentol Cristalizado. **Quimedrol.**, nov. 2007.

FOGLIO, M. A. *et al.* Plantas Medicinais como Fonte de Recursos Terapêuticos: Um Modelo Multidisciplinar. **Multiciência**, v. 7, out. 2006.

FRADLEY, R. L. *et al.*, Differential contribution of GABA_A receptor subtypes to the anticonvulsant efficacy of benzodiazepine site ligands. **J. Psychopharmacol.**, v. 21, n. 4, p. 384-391, 2007.

GALEOTTI, N. *et al.* Menthol: a natural analgesic compound. **Neurosci. Lett.**, v. 322, p. 145-148, 2002.

GALVÃO, B. Neurociência e Clínica: Medo e Ansiedade. <http://www.uff.br/sbqrio/novidades/Novidades2009/imagens/Parkinson3.gif>. Acesso em 10 de julho de 2009.

GALVÃO, B. Neurociência e Clínica: Medo e Ansiedade. <http://fotolog.terra.com.br/neuroclinica:31>. Acesso em 10 de julho de 2009.

GARCIA, L. S. B *et al.* Acute administration of Ketamine induces antidepressant-like effects in the forced swimming test and increase BDNF levels in the rat hippocampus. **Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 32, p. 140-144, 2008.

GARTEN, S.; FALKNER, V. Continual smoking of mentholated cigarettes may mask the early warning symptoms of respiratory disease. **Prevent. Med.**, v. 37, p. 291–296, 2003.

GARLET, T.M.B.; SANTOS, O.S. Solução nutritiva e composição mineral de três espécies de menta cultivadas no sistema hidropônico. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 5, ago. 2008.

GERSHENZON, J.; CROTEAU, R. Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites. **Academic**, v. 1, p. 452, 1991.

GESSA, G.L. Dysthymia and depressive disorders: dopamine hypothesis. **Eur. Psychiatry**, v. 11, p.123-127, 1996.

GIBALDI, J. Helicobacter pylori and gastrointestinal disease. **Clin. Pharmacol.**, v. 35, p. 647-654, 1995.

GLOWINSKI, J.; AXELROD, J. Drug-induced Release of ³H-\$Norepinephrine and ³H-Serotonin from Brain Slices. **Nature**, v. 204, 1964.

GOEL, R. K.; BHATTACHARYA, S.K. Gastroduodenal mucosal defense and mucosal protective agents. **Indian J. Exp. Biol.**, v. 29, n. 8, p.701-714, 1991.

GOLOUBKOVA, T. D. *et al.* Inhibition of cytochrome P450-dependent monooxygenases by an alkaloid fraction from *Helietta apiculata* markedly potentiate the hypnotic action of pentobarbital. **J. Ethnopharmacol.**, v. 60, p. 141– 148, 1998.

GRAEFF, F. G.; BRANDÃO, M. L. **Neurobiologia das doenças mentais**. São Paulo: Lemos Editorial, 1993.

GRANGER, R.E.; CAMPBELL, E.L.; JOHNSON, G. A. R. (+)- and (-)-borneol: efficacious positive modulators of GABA action at human recombinant $\alpha 1\beta 2\gamma 2L$ GABAA receptors. **Biochem. Pharmacol.**, v. 69, p. 1101–1111, 2005.

GRIGOLEIT, H.G.; GRIGOLEIT, P. Pharmacology and preclinical pharmacokinetics of peppermint oil. **Phytomedicine**, v. 12, p. 612-616, 2004.

GROVES, J. O.; GUSCOTT, M. R.; HALLETT, D. J.; ROSAHL, T. W.; PIKE, A.; DAVIES, A.; WAFFORD, K. A.; REYNOLDS, D. S. The role of GABAA [beta]2 subunit-containing receptors in mediating the anticonvulsant and sedative effects of loreclezole. **Eur. J. Neurosci.**, v.24, p.167-174, 2006.

G.S.B. Antianxiety effects of Riparin I from *Aniba riparia* (Nees) Mez (Lauraceae) in mice. **Phytother. Res.**, v. 19, p.1005-1008, 2005.

GUPTA, M. *et al.* Anti-ulcer activity of ethanol extract of *Terminalia pallida* Brandis.in Swiss albino rats. **J. Ethnopharmacol.**, v. 97, p. 405-408, 2005.

GUPTA, R. A.; DUBOIS, R. N. Combination therapies involving inhibitors of the epidermal growth factor and cyclooxygenase signaling prevent colorectal adenomas in mice. This synergistic effect may be due to the convergence of these two signaling pathways. **Nat. Med.**, v. 6, n. 9, p. 1024-1028, 2000.

GÜRBÜZ, V. *et al.* Role of nitric oxide in indomethacin-induced gastric mucosal dysfunction in the rat. **Exp. Physiol.**, v. 84, n. 2, p.319-332, 1999.

GUTH P. H.; PAULSEN G.; NAGATA H. Histologic and microcirculatory changes in alcohol-induced gastric lesions in the rat: effect of prostaglandin cytoprotection. **Gastroenterology**, v. 87, p. 1083-1090, 1984.

HALICI, M. *et al.* Effects of water extract of *Usnea longissima* on antioxidant enzyme activity and mucosal damage caused by indomethacin in rats. **Phytomedicine**, v.12, n.9, p.656-662, 2005.

HALL, A. C. *et al.* Modulation of human GABA_A and glycine receptor currents by menthol and related monoterpenoids. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 506, n. 1, p. 9-16, 2004.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.; CROSS, C. E. Free radicals , antioxidants and human disease: where are we now? **J. Lab. Clin. Med.**, v. 119, p.659-671, 1992.

HARBONE, J. B. Recent advances in the ecological chemistry of plant terpenoids. In: HARBONE, J. B.; TOMAS-BARBERAN, F. A. (Ed.). **Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids**. New York: Oxford Science Publications, 1991. p. 399-426.

HASCOET, M.; BOURINI, M. A new approach to the light/dark test procedure in mice. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 60, p. 645-653, 1998.

HAYLLAR, J.; BJARNASON, I. NSAIDs, Cox-2 inhibitors, and the gut. **Lancet**, v. 346, p. 521–522, 1995.

HEDGE, I. C. A global survey of the biogeography of the Labiatae. In: HARLEY, R. M.; REYNOLDS, T. (Ed.). **Advance in labiatae science**. London: Royal Botanic Gardens, 1992. p. 7-17.

HOGG, S. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 54, p. 21-30, 1966.

HOOGERWERF, W.A.; PASRICHA, P. J. *et al.* Pain: the overlooked symptom in gastroparesis. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 94, p. 1029 – 1033, 2004.

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

IWATA, F.; KOO, A.; ITOH, M.; KOO, A.; ITOH, M.; LAM, K.; LEUNG, J.W.; LEUNG, F.W. Functional evidence linking potassium channels and afferent nerve-mediated mucosal protection in rat stomach. **Life Sci.**, v. 61, n. 17, p.1713-1720, 1997.

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

JUERGENS, U.R.; STÖBER M.; VETTER, H. Antiinflammatory effects of euclyptol (1.8-cineole) in bronchial asthma: inhibition of arachidonic acid metabolism in human blood monocytes ex vivo. **Eur. J. Med. Res.**, v. 3, p. 407-412, 1998.

KAWASHIMA, K. *et al.* Localization of calcitonin gene-related peptide receptors in rat gastric mucosa. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 955–966, 2002.

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

KODAIRA, M. S.; ESCOBAR, A. M. U.; GRISI, S. Aspectos epidemiológicos do *Helicobacter pylori* na infância e adolescência. **Rev. Saúde Pública**, v. 36, n. 3, p. 356-369, 2002.

KORTING, G.W.; WEIGAND, U.A. New case of reticular hyperplasia connected with volatile oils. **Hautarzt**, v. 27, p. 352–356, 1975.

KOTHARI, R. The Indian essential oil industry. **Perfumer Flavorist**, v. 30, p. 46-50, 2005.

KRUPPA, P.C.; RUSSOMANNO, O.M.R. Ocorrência de fungos em sementes de plantas medicinais, aromáticas e condimentares da família Lamiaceae. **Trop. Plant Pathol.**, v. 33, n.1, p. 72-75, 2008

KULKARNI, S. K.; DHIR, A. Effect of various classes of antidepressants in behavioral paradigms of despair. **Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 31, p. 1248-1254, 2007.

LA CASA, C. *et al.* Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. **J. Ethnopharmacol.**, v.71, n.1/2, p. 45-53, 2000.

LANZA, L.L. *et al.* Peptic ulcer and gastrointestinal hemorrhage associated with nonsteroidal anti-inflammatory drug use in patients younger than 65 years. large health maintenance organization cohort study. **Arch. Int. Med.**, v. 155, n. 13, p. 1371-1377, 1995.

LAUDE, E. A.; MORICE, A. H.; GRATTEN, T. J. The antitussive effects of menthol, camphor and cineole in conscious guinea pigs. **Pulm. Pharmacol.**, v. 7, n. 3, p. 179-184, 1994.

LEITE, C. P. **Avaliação dos Efeitos Farmacológicos de (O-Metil)-N-2-hidroxi-benzoil tiramina (Riparina II) de *Aniba Riparia* (Nees) Mez (Lauraceae) em Modelos Comportamentais de Ansiedade e Depressão em Camundongos.** Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

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

LLOYD, C. Life events and depressive disorders reviewed. 2 Events as precipitating factors. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 37, p. 541-548, 1980.

LORENZO, D. *et al.* Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v. 45, n. 4, p. 519-524, 2002.

LOWRY, H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurements with the follin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, v. 193, p. 265-275, 1951.

MA, L.; WALLACE, J. L. Endothelial nitric oxide synthase modulates gastric ulcer healing in rats. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 279, p. 341-346, 2000.

MACÊDO, D. S. *et al.* Effect of anxiolity, antidepressant, and antipsychotic drugs on cocaine-induced seizures and mortality. **Epilepsy Behav.**, v. 5, p. 852-856, 2004.

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

MACHADO-VIEIRA, R. *et al.* Aspectos epidemiológicos. **Rev. Saúde Pública**, v. 36, n. 3, 2006.

MAIA, N. B. Efeito da nutrição mineral na qualidade do óleo essencial da menta (*Mentha arvensis* L.) cultivada em solução nutritiva. In: MING, L.C. (Coord.). **Plantas medicinais**

aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica. Botucatu: Unesp, 1998. v. 2, p. 81-95.

MARHUENDA, E.; MARTÍN, M. J.; ALARCÓN, C. Antiulcerogenic activity of aescine in different experimental models. **Phytother. Res.**, v. 7, p.13-16, 1993.

MARTINS E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa: Editora UFV, 1998.

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

MARTINEZ, R.; GARCIA, A.M.B.; MORATO, S. Papel da luminosidade do biotério no comportamento do rato no labirinto em cruz elevado. **Est. Psicol.**, v. 10, n. 2, p. 239-245, 2005.

MASSADA, Y. Analysis of essential oils by gas chromatography and mass spectrometry. [S.l]: Hirokawa Publishing, 1975.

MASUDA, E. *et al.* Endogenous nitric oxide modulates ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. **Gastroenterology**, v.108, p.58-64, 1995.

MATOS, F. J. A. **Plantas de medicina popular do Nordeste:** propriedades atribuídas e confirmadas. Fortaleza: Edições UFC, 2007.

MATTEI, R.; DIAS, R.F.; ESPÍNOLA, E.B.; CARLINI, E.A.; BARROS, S.B.M. Guaraná (*Paulinea cupana*): toxic behavioral effects in laboratory animals and antioxidant activity in vitro. **J. Ethnopharmacol.**, v. 60, p. 111-116, 1998.

MATTOS, J. P.; MATTOS, V. M. B. C. Novos Agonistas Dopaminérgicos. **Arq. Neuro-Psiquiatr.**, v.57, n. 2, 1999.

McKAY, D. L.; BLUMBERG, J. B. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). **Phytother. Res.**, v. 20, p. 619 – 633, 2006.

MILLER, T. Protective effects of prostaglandins against gastric mucosal damage: current knowledge and proposed mechanism. **Am. J. Physiol.**, v.235, p. 601–623, 1993.

MELO, C.T.V. *et al.* Anxiolytic-Like Effects of (O-Methyl)-N-2,6-dihydroxybenzoyl-tyramine (Riparin III) from *Aniba riparia* (NEES) MEZ (Lauraceae) in mice. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 29, p. 451-454, 2006.

MELO, C.T.V.; MONTEIRO, A.P.; LEITE, C.P.; ARAÚJO, F.L.O.; LIMA, V.T.M.; BARBOSA-FILHO, J.M.; FONTELES, M.M.F.; VASCONCELOS, S.M.M.; VIANA, G.S.B.; SOUSA, F.C.F. Anxiolytic-like effects of (O-methyl)-N-benzoyl-tyramine (riparin III) from *Aniba riparia* (Nees) Mez (Lauraceae) in mice. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 29, n. 3, p. 451-454, 2006.

MENEZES, G. B.; FONTENELLE, L. F.; MULULO, S.; VERSIANI, M. Treatment-resistant anxiety disorders: social phobia, generalized anxiety disorder and panic disorder. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 29, suppl. 2, p. S55-S60, 2007.

MENON, M.K.; GORDON, L.I.; KODAMA, C.K.; FITTEN, J. Influence of D₁ receptor system on the D₂ receptor-mediated hypothermic response in mice. **Life Sci.**, v. 43, p. 871-881, 1988.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Saúde da Família**. Brasília, DF, 2007. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/dab/atencaobasica.php>>. Acesso em: 23 jan. 2007.

MIZUI, T.; DOTEUCHI, M. Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesions in rats. **Jpn. J. Pharmacol.**, v. 33, p. 939-945, 1983.

MISSOURI BOTANICAL GARDEN. *Mentha x piperita*.
.http://www.indigenousremedies.com/files/Peppermint.jpg .Acesso em 10 de julho de 2009.

MOCHIZUCKI, D. Serotonin and noradrenaline reuptake inhibitors in animal models of pain. **Hum. Psychopharmacol.**, v. 19, p. 15-19, 2004.

MOLINA, V.; CARBAJAL, D.; ARRUZAZABALA, L.; MÁZ, R. Therapeutic Effect of D-002 (Abexol) on Gastric Ulcer Induced Experimentally in Rats. **J. Med. Food**, v. 8, n. 1, p. 59-62, 2005.

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

MOODY, T.W.; MERALI, Z.; CRAWLEY, J.N. The effects of anxiolytics and other agents on rat grooming behavior. In: COLBERT, D. L.; GISPEN, W. H. (Ed.). Neural mechanisms and biological significance of grooming behavior. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 525, p. 281-290, 1988.

MOODY, T.W.; MERALI, Z.; CRAWLEY, J.N. The effects of anxiolytics and other agents on rat grooming behavior. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 90, p. 281-290, 1993.

MOREIRA, F.A.; GUIMARÃES, F.S. Mecanismo de ação dos Antipsicóticos: hipóteses dopaminérgicas. Ribeirão Preto, **Medicina**, v. 40, n.1, p. 63-71, jan/mar. 2007.

MORICE, A. H. *et al.* Effect of inhaled menthol on citric acid induced cough in normal subjects. **Thorax**, v. 49, n. 10, p. 1024-1026, 1994.

MORINI, G. *et al.* Rapid onset of (R)- α -methylhistamine protection in response to ethanol-induced histologic damage in rat gastric mucosa. **Life Sci**, v. 62, p. 13-18, 1998.

MURRAY, C.; LOPEZ, A. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. **Lancet**, v. 349, p. 1498-1504, 1997.

MUTOH, H. *et al.* Role of oxygen radicals in ethanol-induced damage to cultured gastric mucosal cells. **Am. J. Physiol.**, v. 258, p. 603-609, 1990.

- NAGATA, H. *et al.* Adenosine A₂- receptor mediates ethanol-induced arteriolar dilation in rat stomach. **Am. J. Physiol.**, v. 271, p. 1028-1033, 1996.
- NAKAZATO, T. *et al.* The dopamine d₂ receptor antagonist sulpiride causes long lasting serotonin release. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 363, p. 29-34, 1998.
- NASCIMENTO, E.M. *et al.* Efeito anti-helmíntico do hidrolato de *Mentha villosa* Huds. (Lamiaceae) em nematóides gastrintestinais de bovinos. **Cienc. Rural**, v. 39, n. 3, 2009.
- NEVES, G. *et al.* Agentes dopaminérgicos e o tratamento da disfunção erétil. **Quim. Nova**, v. 27, n. 6, p. 949-957, 2004.
- NOUMI, E.; HOUNGUE, F.; LONTSI, D. Traditional medicines in primary health care: plants used for the treatment of hypertension in Bafia, Cameroon. **Fitoterapia**, v. 70, p. 134-139, 1999.
- NOVAS, M.L. *et al.* Proconvulsant and anxiogenic effects of n-butyl-h-carboline-3-carboxylate, on endogenous benzodiazepine binding inhibitor from brain. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 30, p. 331-336, 1988.
- OATES, P. J.; HAKKINEN, J. P. Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. **Gastroenterology**, v. 94, p. 10-21, 1988.
- ODABASOGLU, F. *et al.* Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. **J. Ethnopharmacol.**, v. 103, p. 59-65, 2006.
- OHTAU, Y.; KOBAYASHI, T.; ISHIGURO, I. Role of endogenous serotonin and histamine in the pathogenesis of gastric mucosal lesions in unanaesthetised rats with a single treatment of compound 48/80, a mast cell degranulator. **Pharmacol. Res.**, v. 39, p.261-267, 1999.
- 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, DF: Ministério da Saúde, 1979.
- PAINE, T.A.; JACKMAN, S.L.; OLMSTEAD, M.C. Cocaine-induced anxiety: alleviation by diazepam, but not buspirone, dimenhydrinate or diphenhydramine. **Behav. Pharmacol.**, v. 13, p 511-523, 2002.
- PAN, L. *et al.* Roles of nitric oxide in protective effect of berberine in ethanol-induced gastric ulcer mice. **Acta Pharmacol. Sinica**, v. 26, n. 11, p. 1334-1338, Nov. 2005.
- PAULA, A.C. *et al.* The gastroprotective effect of the essential oil of *Croton cajucara* is different in normal rats than in malnourished rats. **Br. J. Nutr.**, v. 96, n. 2, p. 310-315, 2006.
- PEDREANEZ, A *et al.* Forced swimming test increase superoxide anion positive cells and angiotensin II positive cells in the cerebreum and cerebellum of the rat. **Brain Res. Bull.**, v. 71, p. 18-22, 2006.

PEIER, A. M.; MOQRICH, A.; HERGARDEN, A.C.; REEVE, A.J.; ANDERSSON, D.A.; STORY, G.M.; EARLEY, T.J.; DRAGONI, L.; MCINTYRE, P.; BEVAN, S.; PATAPOUTIAN, A. A TRP channel that senses cold stimuli and menthol. **Cell**, v. 108, p. 705-715, 2002.

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

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

PESKAR, B.M.; EHRLICH, K.; PESKAR, B.A. Role of ATP-sensitive potassium channels in prostaglandin-mediated gastroprotection in the rat. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 301, p. 969-974, 2002.

PICKWORTH, W. B. *et al.* Sensory and physiologic effects of menthol and nonmenthol cigarettes with differing nicotine delivery. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 71, p. 55-61, 2002.

PIHAN, G.; REGILLO, C.; SZABO, S. Free radicals and lipid peroxidation in ethanol- or aspirin-induced gastric mucosa injury. **Dig. Dis. Sci.**, v. 32, p.1395-1401, 1987.

PIHAN, G.; ROGERS, C.; SZABO, S. Vascular injury in acute gastric mucosal damage. Mediator role of leukotrienes. **Dig. Dis. Sci.**, v.33, p. 625-632, 1988.

POHLE, T.; BRZOZOWSKI, T.; BECKER, J.C.; VAN DER VOORT, I.R.; MARKMAN, A.; KONTUREK, S. J. *et al.* Role of reactive oxygen metabolites in aspirin-induced gastric damage in humans: gastroprotection by vitamin C. **Aliment Pharmacol. Ther.**, v. 15, p. 677-687, 2001.

PINEL, P. **Traité médico-philosophique sur l' aliénation mentale.** Paris: Les empêcheurs de penser en rond/Seuil, 2005. Trabalho original publicado em 1809.

PONGPIRIYADACHA, Y. *et al.* Protective Effects of Polygodial on Gastric Mucosal Lesions Induced by Necrotizing Agents in Rats and the Possible Mechanisms of Action. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 26, n. 5, p. 651-657, 2003.

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

POSSER, T. *et al.* Antidepressant-like effect of the organoselenium compound ebselen in mice: evidence for the involvement of the monoaminergic systems. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 602, p. 85-91, 2009.

RAHGOZAR, M. *et al.* Diazoxide, a K_{ATP} channel opener, prevented ethanol-induced gastric ulceration in rats. **IJPT**, v. 1, p. 5-7, 2002.

RANDRUP, A.; MUNKVAD, I.; FOG, R.; GERIACH, J.; MOLANDER, R.; KJEIIBERG, B.; SCHEEL-KRUGER, J. Mania, depression and brain dopamine. In: ESSMAN, W. B.; VALZELLI, S. (Ed.). **Currents developments in psychopharmacology.** [S.l.: s.n.], 1975. v. 2, p. 206-248.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; MOORE, P. K. **Farmacologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

RATES, S.M.K Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, p. 603-613, 2001.

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

ROBBINS, S.L.; COTRAN, R.S.; KUMAR, V. **Pathologic basics of disease**. 6th ed. New York: W.B. Saunders Company, 1998.

ROBERT, A. *et al.* Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl, and thermal injury. **Gastroenterology**, v. 77, n. 3, p. 433-443, 1979.

RODGERS, R. J.; CAO, B. J.; DALVI, A.; HOLMES, A. Animal models of anxiety on ethological perspective. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 30, p. 289-304, 1997.

RODRIGUES, R. V.; CORVELO, T. C.; FERRER, M. T. Soroprevalência da infecção por *Helicobacter pylori* em crianças de diferentes níveis sócio-econômicos em Porto Velho, Estado de Rondônia. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 40, n. 5, p. 550-554, out. 2007.

ROLLAND, A. *et al.* Behavioural effects of the American traditional plant *Eschscholzia californica*: sedative and anxiolytic properties. **Planta Med.**, v. 57, p. 212-216, 1991.

ROSA, A. O *et al.* Involvement of NMDA receptors and L-arginine –nitric oxide pathway in the antidepressant-like effects of zinc in mice. **Behav. Brain Res.**, v. 144, p.87-93, 2003.

ROSS, S. B.; RENYI, A. L. Inhibition of the uptake of tritiated. 5-hydroxytryptamine in brain tissue. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 7, p. 270-277, 1969.

RUPPERT, E. E.; BARNES, R. D. **Zoologia dos invertebrados**. 6. ed. São Paulo: Roca, 1994.

SAIRAM, K. *et al.* Antiulceratogenic effect of methanolic extract of *Embllica officinalis*: an experimental study. **J. Ethnopharmacol.**, v. 82, n.1, p.1-9, 2002.

SAKAI, K.; AKIMA, M.; KATSUYAMA, I. Effects of Nicorandil on Experimentally Induced Gastric Ulcers in Rats: A possibly role o K_{ATP} Channels. **Jpn. J. Pharmacol.**, v. 79, p. 51-57, 1999.

SALIM, A.S. Removing oxygen derived free radicals stimulates healing of ethanol induced erosive gastritis in the rat. **Digestion**, v. 47, p. 24–28, 1990.

SAMINI, M. *et al.* Evidences for involvement of nitric oxide in the gastroprotective effect of bromocriptine and cyclosporine A on water immersion stress-induced gastric lesions. **Pharmacol. Res.**, v. 46, n. 6, p. 545-50, 2002.

SANT SANGANERIA. Vibrant India. Opportunities for the flavor and fragrance industry. **Perfumer Flavorist**, v. 30, p. 24-34, 2005.

SANTOS, C.L.; SOUZA, M.H, GOMES, A.S.; LEMOS, H.P.; SANTOS, A.A.; CUNHA, F.Q.; SAUL, C. *et al.* Redução da prevalência de úlcera duodenal: um estudo brasileiro (análise retrospectiva na última década: 1996-2005). **Arq. Gastroenterol.**, v. 44, n. 4, p. 320-324, 2007.

SCATTON, B *et al.*, Regional effects of neuroleptics on dopamine metabolism and dopamine-sensitive adenylate ciclase activity. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 44, p. 287-292, 1977.

SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Ed.) **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5. ed. rev. ampl. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2003. cap. 15, p. 371 – 400.

SEDELIS, M.; SCHWARTING R. K.; HUSTON, J. P. Behavioral phenotyping of the MPTP mouse model of Parkinson's disease. **Behav. Brain Res.**, v. 125, p. 109-125, 2001.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Anal. Biochem.**, v. 25, n. 1, p. 192-205, 1968.

SEIGLER, D. S. **Plant secondary metabolism**. Boston: Kluwer Academic, 1998.

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

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Rev. Nutr.**, v. 17, n. 4, p. 397-409, 2004.

SHERRILL, J. T.; ANDERSON, B.; FRANK, E.; REYNOLDS, C.F.; TU, X.M.; PATTERSON, D.; RITENOUR, A.; KUPFER, D. J. Is life stress more likely to provoke depressive disorders in women than in man? **Depress Anxiety**, v. 6, n. 3, p. 95-105, 1997.

SHIRIN, H.; PINTO, J. T.; LIU, L. U.; MERZIANU, M.; SORDILLO, E.M.; MOSS, S.F. Helicobacter pylori decreases gastric mucosal glutathione. **Cancer Lett.**, v. 26, n. 2, p. 127-133, 2001.

SHU, Y.-Z. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. **J. Nat. Prod.**, v. 61, p. 1053-1071, 1998.

SILVA, M. I. G. *et al.* Central nervous system activity of acute administration of isopulegol in mice. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 88, p. 141-147, 2007.

SIMÕES, C. *et al.* Medicinal potential from in vivo and acclimatized plants of *Cleome rosea*. **Fitoterapia**, v. 77, p. 94-99, 2006.

SIQUEIRA, G. R. S. *et al.* Análise da sintomatologia depressiva nos moradores do Abrigo Cristo Redentor através da aplicação da Escala de Depressão Geriátrica (EDG). **Ciênc. Saúde Coletiva**, v. 14, n. 1, p. 253-259, jan./feb. 2009.

SOUSA, F. C. F.; MONTEIRO, A. P.; MELO, C. T. V.; OLIVEIRA, G. R.; VASCONCELOS, S. M. M.; FONTELES, M. M. F.; GUTIERREZ, S. J. C.; BARBOSA-FILHO, J. M.; VIANA,

G. S. B. Antianxiety effects of Riparin I from *Aniba riparia* (Nees) Mez (Lauraceae) in mice. **Phytother. Res.**, v. 19, p. 1005-1008, 2005.

SOUSA, F. C. F. *et al.* Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 18, n. 4, p. 642-654, 2008.

SOUSA, D. P. *et al.* Sedative effect of monoterpene alcohols in mice: a preliminary. **Z. Naturforsch.**, v. 62, p. 563-566, 2007.

STAHL, S. M. **Psicofarmacologia: bases neurocientíficas e aplicações clínicas.** Rio de Janeiro: MEDSI – Editora Médica e Científica, 1998.

STERU, L. *et al.* Tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v. 85, p. 367-370, 1985.

STORY, G. M.; PEIER, A. M.; REEVE, A. J.; EID, S. R.; MOSBACHER, J.; HRICIK, T. R.; EARLEY, T. J.; HERGARDEN, A. C.; ANDERSSON, D. A.; HWANG, S. W.; MCINTYRE, P.; JEGLA, T.; BEVAN, S.; PATAPOUTIAN, A. ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures. **Cell**, v. 112, p. 819-829, 2003.

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

SUTTON, C. D.; ROBINSON, R. G. The marketing of menthol cigarettes in the United States: populations, messages, and channels. **Nicotine Tobacco Res.**, v. 6, p. 83-91, 2004.

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

SZABO, S. *et al.* A quantitative method for assessing the extent of experimental gastric erosions and ulcers. **J. Pharmacol. Methods**, v. 13, n. 1, p. 59-66, 1985.

SZABO, S. *et al.* Vascular approach to gastroduodenal ulceration. New studies with endothelins and VEGF. **Dig. Dis. Sci.**, v. 43, p. 40S-45S, 1998.

SZELENVI, I.; BRUNE, K. Possible role of oxygen free radicals in ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. **Dig. Dis. Sci.**, v. 33, n. 7, p. 865-871, 1988.

TAKEUCHI, K. *et al.* Effects of nitric oxide synthase inhibitor NG-nitro-L-arginine methyl ester on duodenal alkaline secretory and ulcerogenic responses induced by mepirizole in rats. **Dig. Dis. Sci.**, v. 40, p. 670-677, 1995.

TAMAOKI, J. *et al.* Effect of menthol vapor on airway hyperresponsiveness in patients with mild asthma. **Resp. Med.**, v. 89, p. 503-504, 1995.

TANAKA, M.; TELEGDY, G. Involvement of adrenergic and serotonergic receptors in antidepressant-like effect of urocortin 3 in a modified forced swimming test in mice. **Brain Res. Bull.**, v. 77, p. 301-305, 2008.

TAVARES, J. F. *et al.* Composition and molluscicidal properties of essential oils from leaves of *Xylopiia langsdorffiana* A. St. Hil. & Tul. (Annonaceae). **J. Essent. Oil Res.**, v. 19, p. 282-284, 2007.

TEIXEIRA, M.A.R. Melancolia e depressão: um resgate histórico e conceitual na psicanálise e na psiquiatria. **Rev. Psicol. UNESP**, v. 4, n.1, p. 41, 2005.

TISSUARI, H. A. Stimulation of dopamine sinteses and activation of tyrosine hydroxylase by (-) - sulphiride, sultopride and tiapride. **Italian Brain Res.**, p. 3-9, 1979.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêuta. **Texto Contexto Enferm.**, v. 15, n.1, p. 115-121, 2006.

TSUZUKI, K. *et al.* Menthol-induced Ca²⁺ release from presynaptic Ca²⁺ stores potentiates sensory synaptic transmission. **J. Neurosci.**, v. 24, p. 762-771, 2004.

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

TWARDOWSCHY, A. **Vias envolvidas no mecanismo de ação do efeito gastroprotetor das cascas de *Tabebuia avellanae* Lorentz ex Griseb (Bignoniaceae).** Dissertação (Mestrado)- Pós-Graduação em Farmacologia, Departamento de Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

UMEZU, T. *et al.* Ambulation-promoting effect of peppermint oil and identification of its active constituents. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 69, p. 383-390, 2001.

UMEZU, T.; MORITA, M. Evidence for the involvement of dopamine in ambulation promoted by menthol in mice. **J. Pharmacol. Sci.**, v. 91, p. 125-135, 2003.

USHIJIMA, I.; CARINO, M.A.; HORITA, A. Involvement of D₁ and D₂ dopamine System in the behavioral effects of cocaine in rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 52, p. 737-741, 1995.

VANE, J. R.; BOTTING, R. M. Mechanism of action of anti-inflammatory drugs. **Int. J. Tissue React.**, v.20, p. 3-15, 1998.

VAUGEOIS, J. M.; POUHE, D.; ZUCCARO, F.; COSTENTIN, J. Indirect dopamine agonists effects on despair test – dissociation from hyperactivity. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 54, n. 1, p. 235-239, 1996.

VAN HELLEMONT, J. **Mentha piperita, Compendium de Phytotherapie.** Brussels: Association Pharmaceutique Belge, 1985.

VEIGA-JUNIOR, V. F *et al.* Plantas medicinais: cura segura?. **Quím. Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VELLUCCI, S. V.; WEBSTER, R. A. The role of GABA in the anticonflict action of sodium valproate and chlordiazepoxide. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 21, p.845-851, 1984.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Quím. Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

VIEIRA, C. *et al.* Frequency of climbing behavior as a predictor of altered motor activity in rat forced swimming test. **Neurosci. Lett.**, v. 445, p. 170–173, 2008.

VISMARI, L.; ALVES, G. J.; PALERMO NETO, J. Depressão, antidepressivos e sistema imune: um novo olhar sobre um velho problema. São Paulo. **Rev. Psiquiatr. Clín.**, v. 35, n. 5, p.196-204, 2008.

WALLACE, J. L.; GRANGER, D. N. The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. **FASEB J.**, v. 10, p. 731-740, 1996.

WALLACE, J. L. Pathogenesis of NSAID-induced gastroduodenal mucosal injury. **Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.**, v. 15, p. 691–703, 2001.

WALLACE, J. L. Sildenafil prevents indomethacin-induced gastropathy in rats: role of leukocyte adherence and gastric blood flow. **Br. J. Pharmacol.**, v. 146, n. 4, p.481-486, 2005.

WAMBEBE, C. Influence of some agents that affect 5-hydroxy-tryptamine metabolism and receptors on nitrazepam-induced sleep in mice. **Br. J. Pharmacol.**, v. 84, p. 185–191, 1985.

WATT, E.E. *et al.* Menthol shares general anesthetic activity and sites of action on the GABA_A receptor with the intravenous agent, propofol. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 590, p.120-126, 2008.

WELLMAN, P. J. *et al.* Changes in feeding and locomotion induced by amphetamine analogs in rats. **Drug Alcohol Depend.**, v. 100, n. 3, p. 234-239, marzo 2009.

WESOLOWSKA, A.; NIKIFORUK, A. Effects of the brain-penetrant and selective 5-HT₆ receptor antagonist SB-399885 in animal models of anxiety and depression. **Neuropharmacology**, v. 52, p. 1274-1283, 2007.

WHITTLE, B. J. Gastrointestinal effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Fundam. Clin. Pharmacol.**, v. 17, p. 301–313, 2003.

WIELAND, S.; LAN, N. C.; BELLUZZI, B. D.; STEIN, L. Comparative behavioral characterization of the neuroactive steroids 3 α -OH,5 α -pregnan-20-one and 3 α -OH,5 β -pregnan-20-one in rodents. **Psychopharmacology**, v.18, n. 118, pp. 65–71, 1995.

WILLNER, P. Animal models of depression: an overview. **Pharmacol. Therap.**, v. 45, p. 425-455, 1990.

WILSON, D. M. *et al.* The interaction of dopamine, cocaine, and cocaethylene with ethanol on central nervous depression in mice. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 57, n.1/2, p.73-78, 1997.

XIMENES NETO, F. R. *et al.* Concepções, conhecimentos e práticas dos enfermeiros ao cuidar de sujeitos com diagnóstico de depressão: um olhar para o território da atenção primária à saúde. **Enfermería Global**, v.16, p. 1, jun.2009.

YAMADA, J.; SUGIMOTO, Y; YAMADA, S. Involvement of dopamine receptors in the anti-immobility effects of dopamine re-uptake inhibitors in the forced swimming test. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 504, p. 207-211, 2004.

YONEI, Y.; GUTH, P. H. Ethanol induced gastric injury, role of sub-mucosal venoconstriction and leukotrienes. **Dig. Dis. Sci.**, v. 36, p. 601-608, 1991.

YOSHIKAWA, T.; NAITO, Y.; KISHI, A.; TOMII, T.; KANEKO, T.; IINUMA, S. *et al.* Role of active oxygen, lipid peroxidation and antioxidants in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by indomethacin in rats. **Gut**, v. 34, p. 732–737, 1993.

ZHANG, L.; BARRITT, G. J. TRPM8 in prostate cancer cells: a potential diagnostic and prognostic marker with a secretory function? **Endocr. Relat. Cancer.**, v. 13, p. 27-38, mar. 2006.

ZIMMERMAN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**, v. 16, p. 109-110, 1983.

ZITTEL, T. T.; JEHL, E. C.; BECKER, H. D. Surgical management of peptic ulcer disease today – indication, technique and outcome. **Langenbeck's Arch. Surg.**, v. 385, p. 84-96, 2000.