



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

IRIS CRISTINA MAIA OLIVEIRA

**RIPARINA-I NA REVERSÃO DOS EFEITOS CENTRAIS INDUZIDOS POR
CORTICOSTERONA EM CAMUNDONGOS: POSSÍVEL ENVOLVIMENTO DO
ESTRESSE OXIDATIVO E DA VIA NITRÉRGICA**

FORTALEZA-CE

2017

IRIS CRISTINA MAIA OLIVEIRA

**RIPARINA-I NA REVERSÃO DOS EFEITOS CENTRAIS INDUZIDOS POR
CORTICOSTERONA EM CAMUNDONGOS: POSSÍVEL ENVOLVIMENTO DO
ESTRESSE OXIDATIVO E DA VIA NITRÉRGICA**

Tese apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Francisca Cléa
Florenço de Sousa

FORTALEZA-CE

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- O47r Oliveira, Iris Cristina Maia Oliveira.
RIPARINA-I NA REVERSÃO DOS EFEITOS CENTRAIS INDUZIDOS POR CORTICOSTERONA EM CAMUNDONGOS: POSSÍVEL ENVOLVIMENTO DO ESTRESSE OXIDATIVO E DA VIA NITRÉRGICA / Iris Cristina Maia Oliveira Oliveira. – 2017.
101 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2017.
Orientação: Prof. Francisca Cléa Florenço de Sousa.
1. Corticosterona. 2. Depressão. 3. Estresse oxidativo. 4. BDNF. I. Título.

CDD 615.1

IRIS CRISTINA MAIA OLIVEIRA

**RIPARINA-I NA REVERSÃO DOS EFEITOS CENTRAIS INDUZIDOS POR
CORTICOSTERONA EM CAMUNDONGOS: POSSÍVEL ENVOLVIMENTO DO
ESTRESSE OXIDATIVO E DA VIA NITRÉRGICA**

Tese Apresentada à Coordenação do Programa
de Pós-Graduação em Farmacologia, como
requisito parcial para a obtenção do grau de
Doutor em Farmacologia.

Aprovada em: 23/ 11/ 2017.

BANCA EXAMINADORA

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

Profa. Dra. Patrícia Freire de Vasconcelos
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

Profa. Dra. Edna Maria Camelo Chaves
Universidade Estadual do Ceará

Profa. Dra. Nirla Rodrigues Romero
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Marta Maria de Franca Fonteles
Universidade Federal do Ceará

AGRADECIMENTOS

À Deus por estar sempre presente na minha vida, me iluminando e ajudando a tornar possível os meus sonhos.

À Nossa Senhora de Fátima por interceder por mim junto a Jesus em diversas situações.

Aos meus pais, Cláudio e Ozilene, e meu irmão Davi, pelo amor, apoio incondicional, força, incentivo, generosidade e amizade sem igual. Aos meus avós Josué e Eunice, sempre tão amorosos e positivos, me fazem muito bem.

À minha orientadora Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa que me acolheu com imenso carinho no laboratório de Neurofarmacologia, sempre atenciosa e acessível. Agradeço pelo encorajamento, pela disponibilidade e por suas sugestões que foram importantes para a concretização deste projeto e para o meu aprendizado.

À todos os professores do Laboratório de Neurofarmacologia e do Departamento de Fisiologia e Farmacologia por ajudarem na minha formação. Aos professores doutores que participaram da banca, aos quais tenho profunda admiração científica, por estarem à disposição para participar desse dia especial.

Agradeço aos amigos que fiz durante a pós-graduação Auriana e Adelvane. Agradeço por sempre ter encontrado nesses amigos tranquilidade, leveza, sorriso, generosidade, disponibilidade e parceria. Sempre lembrarei com muito carinho das palavras de incentivo, dos momentos de troca de ideias e do enorme apoio em vários experimentos. Amigos que conquistei para a vida toda.

À todos os amigos do laboratório de Neurofarmacologia Mariana Fernandes, Raquell, Natália, Victor, Iardja, Leonardo, Edith, Giuliana, Camila, Fernanda, Gersilene, Mariana, Cacá, Luciana, Caren, Isabelle, Bruna, Vlândia, Camila, Eduardo e outros, pela companhia e cooperação. Aos amigos Thiciane, Fernando, Nayrton, Emiliano, Alyne, cujo apoio foi muito importante no início da minha caminhada no Laboratório de Neurofarmacologia.

Ao Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba, nas pessoas do Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho e Prof. Stanley Juan Chávez Gutierrez, que nos cederam a substância isolada e colaboraram com esta pesquisa.

Aos Professores Dr. Edson Luiz Oliveira e Dr. Leonardo Freire da Faculdade Mauricio De Nassau pelo disponibilidade e generosidade em partilhar o conhecimento sobre modelagem molecular.

Aos estudantes de iniciação científica do Laboratório de Neurofarmacologia Laura, Iardja, Lara e Gabriel pela disponibilidade, dedicação e seriedade na execução dos experimentos.

Aos técnicos do Laboratório de Neurofarmacologia, Vilani, Lena, Arnaldo e Nágira pelo suporte técnico e companhia constante e animadora no laboratório.

À CAPES e CNPq pelo apoio financeiro no desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço a todos que fizeram parte deste caminho de crescimento pessoal e profissional.

Muito obrigada!

RESUMO

A terapia farmacológica atual apresenta limitações que impulsionam a busca por novos fármacos. Substâncias com ação antioxidante e neuroprotetora são potenciais agentes antidepressivos. Neste contexto, os produtos naturais surgem como uma potencial fonte de novos fármacos. Estudos prévios com a riparina-I, uma alcanida isolada da planta *Aniba riparia*, apresentaram resultados promissores. Foi verificado que a riparina-I, apresenta efeitos anti-inflamatório e tipo antidepressivo e ansiolítico em roedores. Os dois últimos efeitos tendo sido verificados em modelo de estresse agudo aplicado para triagem primária de substâncias com efeito central. Diante do exposto e, considerando estudos prévios que demonstraram a segurança da rip-I em testes de toxicidade *in vivo* e *in vitro*, e o potencial antioxidante das alcanidas, o objetivo principal do presente estudo é avaliar o efeito tipo antidepressivo da rip-I, em um modelo animal de depressão resistente ao tratamento, bem como, investigar o possível envolvimento de vias antioxidantes e nitrérgica na geração desse efeito. Para tanto, camundogos *swiss* fêmeas foram expostos ao modelo de depressão induzida por corticosterona e aplicado protocolo de reversão. A eficácia do tratamento foi verificada através de testes comportamentais preditivos de atividade antidepressiva, ansiolítica, antipsicótica e efeito cognitivo, bem como, testes neuroquímicos - dosagem de parâmetros do estresse oxidativo e Fator Neurotrófico Derivado de Cérebro (BDNF). O perfil de efeitos da rip-I, nos fez avaliar a interação da substância com o receptor pluripotente sigma-1. A administração de rip-I reverteu os efeitos desencadeados pela corticosterona sobre o tempo de imobilidade nos testes do nado forçado e suspensão da cauda, o que é preditivo de efeito antidepressivo, e sobre o número de rearing e porcentagem de inibição pré-pulso, o que é preditivo de atividade antipsicótica, além de regular parâmetros do estresse oxidativo em áreas cerebrais relacionadas a depressão. O estudo de modelagem molecular também revelou a potencial interação entre a rip-I e o receptor sigma-1, mas estudo posterior com antagonista farmacológico do receptor será útil para avaliar a influencia dessa interação nos efeitos centrais desencadeados pela rip-I. Este estudo fornece dados experimentais e abre perspectivas para novos estudos que podem culminar em um futuro uso terapêutico de rip-I no tratamento de condições associadas a níveis elevados de glicocorticóide, como a Depressão Maior Psicótica.

Palavras-chave: Corticosterona. Depressão. Estresse oxidativo. BDNF.

ABSTRACT

Riparin-I in the reversion of central effects induced by corticosterone in mice: possible involvement of antioxidant and nitrenergic pathways

Current pharmacological therapy has presented limitations that drive the search for new drugs. Substances with antioxidant and neuroprotective action are potential antidepressant agents. In this context, natural products emerge as a potential source of new drugs. Previous studies with riparin-I, an isolated alkaloid of the *Aniba riparia* plant, presented promising results. It has been found that riparin-I has anti-inflammatory and antidepressant and anxiolytic effects in rodents. The last two effects were verified in an acute stress model applied for primary screening of substances with central effect. Considering previous studies that demonstrated the safety of rip-I in toxicity tests and the antioxidant potential of alkaloids, the main objective of the present study is to evaluate the anti-depressant effect of rip-I, in an animal model of treatment-resistant depression, as well as investigating the possible involvement of antioxidant and nitrenergic pathways in the generation of this effect. For this, mice were exposed to the corticosterone-induced depression model and applied the reversal protocol. The efficacy of the treatment was verified by predictive behavioral tests of antidepressant, anxiolytic, antipsychotic and cognitive-type effects, as well as, neurochemical tests - dosage of parameters of oxidative stress and Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF). The rip-I effects profile led us to evaluate the interaction of the substance with the sigma-1 pluripotent receptor. The administration of rip-I reversed the effects of corticosterone on the time of immobility in the forced swim and tail suspension tests, which is predictive of antidepressant effect, and on the number of rearing and percentage of pre-pulse inhibition, the which is predictive of antipsychotic activity, besides regulating parameters of oxidative stress in brain areas related to depression. The molecular modeling study also revealed the potential interaction between rip-I and the sigma-1 receptor, but further study with receptor pharmacological antagonist will be useful to evaluate the influence of this interaction on rip-I triggered central effects. This study provides unprecedented experimental data and opens perspectives for further studies that may culminate in a future therapeutic use of rip-I in the treatment of conditions associated with elevated glucocorticoid levels, such as Major Psychotic Depression.

Keywords: Corticosterone. Depression. Oxidative stress. BDNF.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Eixo Hipotalâmico-Hipofisário-Adrenal para o controle da secreção de cortisol.	18
Figura 2. Sistema de defesa contra o estresse oxidativo do reticulo endoplasmático (RE) .	20
Figura 3. Representação esquemática da alteração neurogênica no hipocampo de adultos.	21
Figura 4. Aniba riparia (Nees) Mez	26
Figura 5. Diagrama esquemático do desenho experimental	34
Figura 6. Arena do campo aberto	35
Figura 7. Nado Forçado	36
Figura 8. Suspensão da Cauda	36
Figura 9. Aparelho de Interação Social	37
Figura 10. Teste de preferência à Solução de Sacarose	38
Figura 11. Labirinto em Cruz Elevada	39
Figura 12. Câmara acústica	41
Figura 13. Labirinto em Y	42
Figura 14 Aparelho da Esquiva Passiva	43
Figura 15. Loca de Interação entre a riparina-I e o receptor sigma-1	56

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1. Efeito tempo-dependente da administração de corticosterona no teste do nado forçado (A). Efeito da administração de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina no Teste do Nado Forçado (B). 47
- Gráfico 2. Efeito da administração de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina no Teste da Preferência pela Solução de Sacarose 48
- Gráfico 3. Efeito da administração de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina no Teste da Interação social 49
- Gráfico 4. Efeito da administração de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina no Teste da Inibição Pré-pulso 50
- Gráfico 5. Efeito da administração da riparina-I (50 mg / kg) ou da fluvoxamina (50 mg / kg) sobre as memórias recente (A) e tardia (B) no Teste da Esquiva Passiva em camundongos. 51
- Gráfico 6. Efeito da administração de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina no teste do Y-maze em camundongos 52
- Gráfico 7. Efeito da administração de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina sobre os níveis de BDNF no hipocampo de camundongos. 53

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Efeito das administrações de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina 46
em camundongos no teste do campo aberto.
- Tabela 2 Efeito das administrações de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina 48
em camundongos no Teste da Suspensão da Cauda.
- Tabela 3. Efeito das administrações de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina 50
no teste do plus maze em camundongos.
- Tabela 4. Parâmetros do Estresse Oxidativo e níveis de nitrito em áreas cerebrais 54
de animais submetidos ao tratamento de reversão.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Aspectos gerais da depressão	14
1.2 Fisiopatologia da Depressão	16
<i>1.2.1 Estresse e Depressão</i>	16
1.2.1.1 Hiperativação do Eixo Hipotálamo-Hipófisário-Adrenal (HHA) e receptores de glicocorticoides	22
1.2.1.2 Hiperativação do Eixo Hipotálamo-Hipófisário-Adrenal (HHA) e receptores sigma-1	22
<i>1.2.2 Hipótese neurotrófica da Depressão</i>	23
<i>1.2.3 Hipótese do estresse oxidativo da Depressão</i>	32
<i>1.2.3.1 O estresse oxidativo</i>	23
1.3 Plantas Medicinais	24
1.4 Família Lauraceae e a espécie <i>Aniba riparia</i>	25
1.5 Modelagem Molecular	27
2. RELAVÂNCIA E JUSTIFICATIVA	29
3 OBJETIVOS	31
3.1 Geral	31
3.2 Específicos	31
4 MATERIAL E MÉTODOS	32

4.1 Material Botânico	32
4.2 Animais	32
4.3 Drogas	32
4.4 Desenho do Experimento	33
4.5 Testes comportamentais	34
4.5.1 <i>Teste do Campo Aberto</i>	34
4.5.2 <i>Teste do Nado Forçado (TNF)</i>	34
4.5.3 <i>Teste da Suspensão da Cauda (TNF)</i>	35
4.5.4 <i>Interação Social (IS)</i>	35
4.5.5 <i>Preferência pela solução de sacarose</i>	35
4.5.6 <i>Teste do Labirinto em Cruz Elevado (Plus maze)</i>	36
4.5.7 <i>Inibição Pré-pulso (IPP)</i>	37
4.5.8 <i>Teste do labirinto em Y</i>	37
4.5.9 <i>Teste da Esquiva Passiva</i>	39
4.6 Modelagem molecular	40
4.7 Testes Neuroquímicos	40
4.8 Análise estatística	42
5 RESULTADOS	42
6 DISCUSSÃO	53
7 CONCLUSÕES	67

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

68

REFERÊNCIAS

69

1 INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos gerais da depressão

A depressão é o transtorno do humor mais comum na prática clínica. Acomete cerca de 322 milhões de pessoas no mundo, ou seja, 4,4% da população geral. A doença, de curso crônico e recorrente, incapacitante, acomete ambos os gêneros, todas as idades e classes sociais, sendo mais prevalente em mulheres, pessoas com baixa escolaridade e economicamente desfavorecidas (WHO, 2015).

A depressão possui elevada prevalência e a literatura relacionada indica tendência de crescimento (COMPTON *et al.*, 2006). Em 2003, um inquérito realizado em 10 países (Brasil, Canadá, Chile, República Checa, Alemanha, Japão, México, Holanda, Turquia e Estados Unidos), que recrutou 37.710 adultos, relatou a prevalência de 3% no Japão e 16,9% nos Estados Unidos (ANDRADE *et al.*, 2003). Na amostra brasileira, recrutada na cidade de São Paulo, esta foi estimada em 12,6%. Em um estudo representativo da população de Porto Alegre, identificou-se prevalência de depressão maior de 12,4% (WIEHE *et al.*, 2006). Também dados preliminares de um inquérito realizado no Distrito Federal apontam a prevalência auto-referida de depressão na população adulta de 11,9% (SILVA, 2012).

A doença está associada a sérias dificuldades no funcionamento social, conjugal e ocupacional, bem como à grande angústia pessoal e interpessoal. A prevalência de suicídio entre pacientes depressivos é alta, acima de 15%. Além disso, eles estão mais sujeitos a complicações, como doenças cardiovasculares, que se desenvolvem a partir do estresse vivenciado. Há perspectivas de que a depressão seja a segunda causa de morte por volta de 2020 (KESLLER *et al.*, 2003; WHO, 2012).

Os sintomas depressivos podem incluir humor deprimido, apatia, alterações do apetite, distúrbios do sono, agitação ou retardo psicomotor, fadiga, culpa, baixa auto-estima, disfunção executiva e ideação suicida (STAHL, 2010). A delimitação dos sintomas dentro de um espaço de tempo e a etiologia presumida formam os critérios diagnósticos necessários para a classificação do transtorno depressivo em Desordem Depressiva Maior (DDM), Distímia, Transtorno Disruptivo da Desregulação do Humor e Depressão induzida por substância ou devida a uma condição clínica (APA, 2014).

A DDM é transtorno depressivo mais comum e mais prontamente reconhecido. A prevalência da vida estimada para a DDM gira em torno de 1.0% (República Checa) a 16.9%

(US), com ponto médio de 8.3% (Canada) (ANDRADE *et al.* 2003). O diagnóstico do transtorno depressivo maior é essencialmente clínico, e é dado quando cinco (ou mais) sintomas depressivos estão presentes durante o mesmo período de duas semanas e representam uma mudança em relação ao funcionamento anterior; sendo pelo menos um dos sintomas humor deprimido ou perda de interesse ou prazer. Quanto a gravidade/curso, a DDM ainda pode ser classificada em leve, moderada, grave, com características psicóticas, em remissão parcial, em remissão completa e não especificado (APA, 2014).

A depressão maior com características psicóticas ou Depressão Maior Psicótica (DMP) é marcada por delírios e /ou alucinações e, as características psicóticas podem ser congruentes ou incongruentes com o humor. Naquelas congruentes com o humor, estão presentes delírios e alucinações cujo conteúdo é coerente com os temas depressivos típicos de inadequação pessoal, culpa, doença, morte, niilismo ou punição merecida. Naquelas incongruentes com o humor, o conteúdo dos delírios ou alucinações não envolve temas depressivos típicos ou inadequação pessoal, culpa, doença, morte, niilismo ou punição merecida ou cujo conteúdo é uma mistura de temas incongruentes e congruentes com o humor (APA, 2014).

As características psicóticas ocorrem em quase 18,5% dos pacientes que são diagnosticados com DDM e a prevalência de DMP aumenta com a idade (OHAYON; SCHATZBERG, 2002). Pacientes com características psicóticas são mais propensos a ter uma depressão resistente ao tratamento em comparação com aqueles que não apresentaram sintomas psicóticos associados à depressão (KUPFER DJ, SPIKER, 1981; STROBER; CARLSON, 1982; WEISSMAN *et al.*, 1984; WEISSMAN *et al.*, 1988; KESSING, 2006; HAMODA; OSSER, 2008).

Comparado com pacientes que sofrem de depressão maior não psicótica, àqueles com depressão maior psicótica tendem a sofrer de maior comprometimento funcional geral e maiores taxas de recaída, hospitalizações mais frequentes e episódios mais longos (PRUSOFF *et al.*, 1984; SERRETTI *et al.*, 1999; THAKUR ET AL., 1999; OTHMER E, DESOUZA, 2007). Eles também são mais propensos a experimentar agitação psicomotora, culpa, retardo, perturbação cognitiva e sentimentos de inutilidade, e um risco particularmente alto de suicídio (HORI *et al.*, 1993; BASSO; BORNSTEIN, 1999; THAKUR *et al.*, 1999) Já foi demonstrado que pacientes com depressão maior psicótica têm uma taxa de mortalidade significativamente maior do que aqueles com depressão maior não psicótica, com 41% versus 20%, respectivamente, morrendo em 15 anos, em média (VYTHILINGAM *et al.*, 2003). O

diagnóstico e o tratamento corretos são, portanto, especialmente importantes para esses pacientes.

Além disso, os pacientes geriátricos com depressão psicótica têm uma atrofia cerebral mais pronunciada, maiores taxas de recaída e maior mortalidade em comparação com pacientes geriátricos sem delírios ou alucinações (BALDWIN, 1999), bem como uma função cognitiva significativamente prejudicada em comparação a pacientes depressivos não psicóticos e a indivíduos saudáveis (NELSON *et al.*, 1998).

1.2 Fisiopatologia da Depressão

Nos últimos anos, muito esforço foi direcionado para melhorar o entendimento sobre a fisiopatologia da depressão. Tem-se convicção da participação de fatores biológicos, psicológicos e sociais no desencadeamento da doença (ANSSEAU *et al.*, 2009). Devido à heterogeneidade clínica e etiológica dos transtornos depressivos, tem sido difícil elucidar por completo a fisiopatologia da depressão. As teorias disponíveis são baseadas na deficiência de monoaminas (NUTT, 2008), predisposição genética e influência de fatores ambientais (BONDY, 2004; LOHOFF; FERRARO, 2010), alterações na função do receptor e fator neurotrófico (PITTENGER; DUMAN, 2008), disfunção do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (CARROLL *et al.*, 2007), desregulação da via do óxido nítrico (MANTOVANI, 2003), neuroinflamação (MAES *et al.*, 2011) e estresse oxidativo (NG, 2008).

Considera-se que as teorias da depressão se aplicam aparentemente a apenas alguns tipos de pacientes deprimidos, mas não a outros, e, além disso, tem-se observado que a fisiopatologia depressiva pode variar consideravelmente em todo o curso da doença. Diante dessas evidências, defende-se que não há uma hipótese unificada que explique todos os casos de depressão. Como consequência, os tratamentos antidepressivos, incluindo abordagens psicológicas e biológicas, devem ser adaptados de acordo com o indivíduo e o estado de doença (HASLER, 2010).

1.2.1 Estresse e Depressão

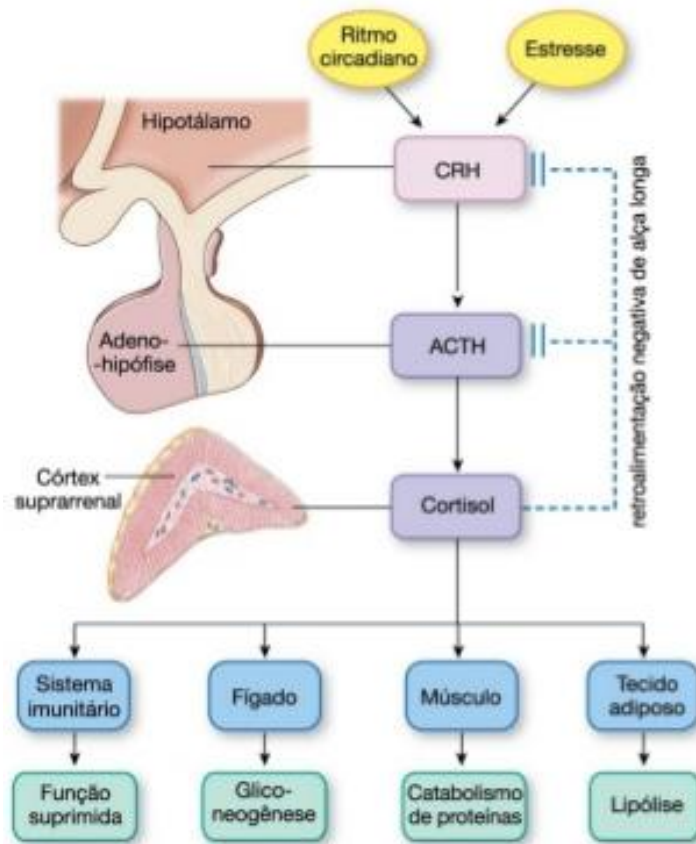
1.2.1.1 Hiperativação do Eixo Hipotálamo-Hipofisário-Adrenal (HHA) e receptores de glicocorticoides

A exposição ao estresse crônico ou mesmo experiências traumáticas severas e pontuais contribuem para a patogênese da depressão (CHECKLEY, 1996; VYAS *et al.*, 2002). Já foi demonstrado em estudo que em 60% dos casos da doença, os episódios depressivos foram precedidos por fatores estressantes, principalmente de origem psicossocial (JOCA; PADOVAN; GUIMARÃES, 2003). Outra pesquisa demonstrou ainda que 88,1% dos casos de depressão estavam relacionados com algum evento estressante e que apenas 11,9% pareciam ter etiologia endógena (KELLER *et al.*, 2007).

A secreção de altos níveis de glicocorticóides tem sido implicada como um dos mecanismos por trás das alterações do humor associadas ao estresse. Cerca de metade dos pacientes deprimidos apresentam hipercortisolemia e ritmicidade do cortisol interrompida (SACHAR ; BARON, 1979) que pode ser revertida pelo tratamento com antidepressivos (HOLSBOER, 2001). Estudos também mostraram que em pacientes com a síndrome de Cushing, desordem marcada pela hipercortisolemia sustentada, frequentemente apresentam altos índices de depressão (SONINO; FAVA, 2002).

Eventos estressantes podem causar a hiperatividade do eixo HHA e, assim, contribuir para a patogênese da depressão maior. A atividade do eixo HHA é governada pela secreção hipotalâmica de hormônio liberador de corticotropina (CRH) e vasopressina (AVP). Esses hormônios ativam a secreção hipofisária do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), que finalmente estimula a secreção de glicocorticóides pelo córtex adrenal (NEMEROFF, 1996). Os glicocorticóides, então, interagem com seus receptores em múltiplos tecidos-alvo, incluindo o eixo HHA, onde são responsáveis pela inibição, por feedback negativo, da secreção do ACTH pela adeno-hipófise e do HLC a partir do hipotálamo (PARIANTE; MILLER 2001) (**Figura 1**).

Figura 1. Eixo Hipotalâmico-Hipofisário-Adrenal para o controle da secreção de cortisol.



Fonte: SILVERTONE, 2010.

A deficiência do feedback negativo, relacionada à hipofunção de receptores glicocorticóides (RG), seguida da secreção aumentada de glicocorticóides têm sido associadas à alterações cerebrais/ comportamentais compatíveis com o fenótipo depressivo (JURUENA, 2014). Em excesso, os glicocorticóides podem reduzir a neurogênese hipocampal (KRISHNAN; NESTLER, 2008), causar apoptose de neurônios hipocampais (CROCHEMORE *et al.*, 2005), induzir a atrofia de estruturas do sistema límbico (amígdala e hipocampo), bem como, aumentar a vulnerabilidade dos neurônios a diversas toxinas, como as espécies reativas de oxigênio (EROs) (BEHL *et al.*, 1997). Alguns antidepressivos podem minimizar/prevenir os efeitos tóxicos dos glicocorticóides, provavelmente ao reverterem as alterações na função dos RGs. (JURUENA, 2014).

1.2.1.2 Hiperativação do Eixo Hipotalâmico-Hipofisário-Adrenal (HHA) e receptores sigma-1

O estresse psicológico causa estresse à nível celular. À princípio, o estresse psicológico gera uma resposta inflamatória e ativa o eixo HHA e eleva as citocinas circulantes, como o *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), IL-1 e IL-6. As citocinas e a ativação de

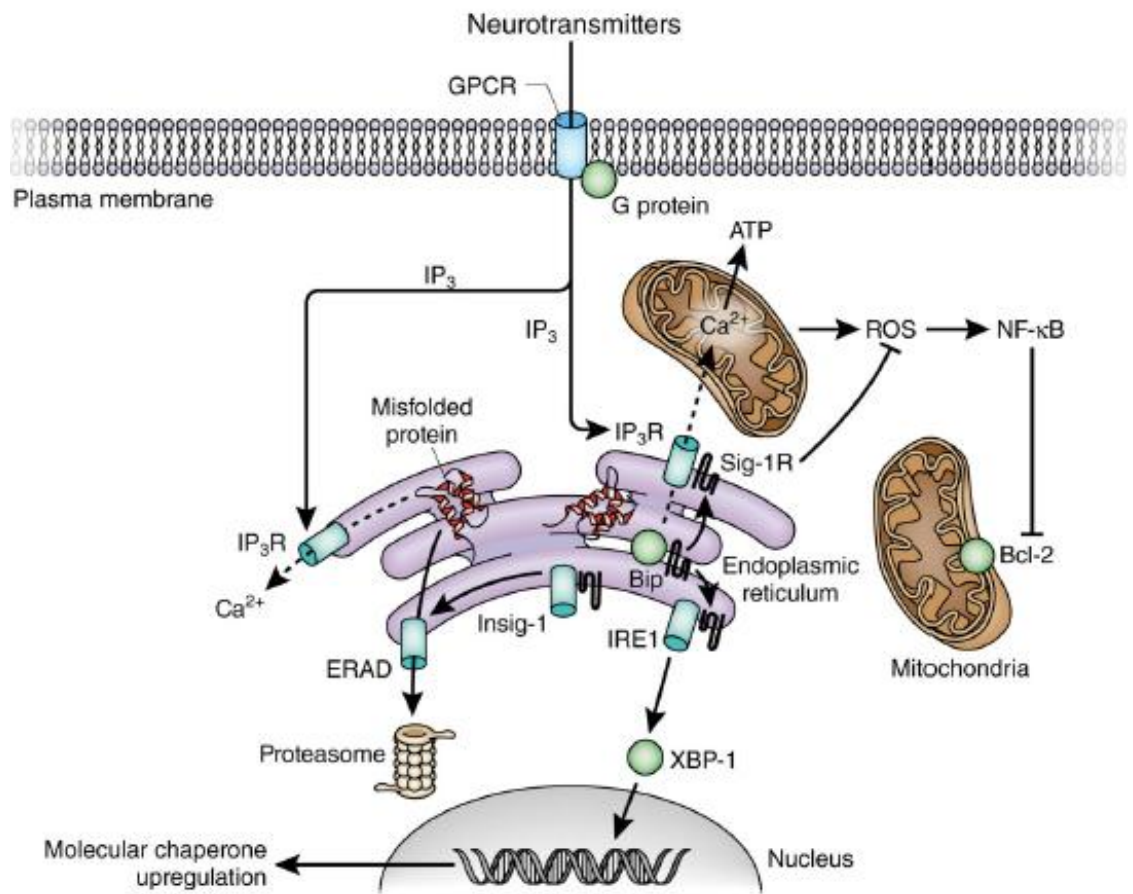
receptores glutamatérgicos aumentam os níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS), conduzindo a oxidação e o estresse no retículo endoplasmático. A célula, então, dispara uma resposta ao estresse. O acúmulo de proteínas disfuncionais, que é causado pelo estresse no retículo endoplasmático (RE), é detectado por sensores de estresse: proteína quinase do RE (PERK), ATF-6 e IRE1. Essas proteínas sensores colaboram para aumentar a quantidade de chaperonas moleculares (como o receptor sigma-1) e a supressão da síntese de proteínas para suprimir o acúmulo de proteínas disfuncionais no RE. Possivelmente a resposta celular ao estresse alterada no RE e / ou proteínas disfuncionais são alterados em certos distúrbios neuropsiquiátricos (HAYASHI, 2015; YOSHIDA *et al.*, 2001; SMITH *et al.*, 2011; BERNASCON *et al.*, 2011).

O receptor Sigma-1 é uma proteína abundante em neurônios e células da glia, tais como os astrócitos, e é particularmente abundante no córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado. Os receptores sigma1 estão presentes no reticuloendoplasmático e nas membranas plasmáticas e nucleares dos neurônios (SU; HAYASHI, 2003; HAYASHI ; SU , 2004).

O receptor Sigma-1 compreende um sistema de defesa contra o estresse oxidativo do reticulo endoplasmático (RE) (**Figura 2**). À nível de RE, o receptor sigma-1 está ligado à outra chaperona, a BiP. Após a ligação de agonistas dos receptores sigma-1 ou a diminuição do Ca²⁺ no RE , o receptor sigma-1 se dissocia de BiP e estabiliza os receptores IP3 ou o IRE1, como uma chaperona molecular ativa. A estabilização dos receptores IP3 pode contribuir para transferência de Ca²⁺ para a mitocôndria e síntese de trifosfato de adenosina, enquanto a estabilização do IRE1 promove a ativação duradoura da via IRE1-XBP-1 e melhora o estresse no RE (HAYASHI, 2015; YOSHIDA *et al.*, 2001; SMITH *et al.*, 2011; BERNASCON *et al.*, 2011).

O aumento de cálcio intracelular também favorece a expressão de BDNF e a neurogênese hipocampal (**Figura 3**). Embora o mecanismo molecular seja desconhecido, os receptores sigma-1 são conhecidos por melhorar o estresse oxidativo por regulação negativa da acumulação de espécies reativas de oxigênio (ROS). A ação resulta na supressão intrínseca de atividade do NF-κB e upregulation de proteínas anti-apoptóticas, como Bcl-2 (HAYASHI, 2015; YOSHIDA *et al.*, 2001; SMITH *et al.*, 2011; BERNASCON *et al.*, 2011).

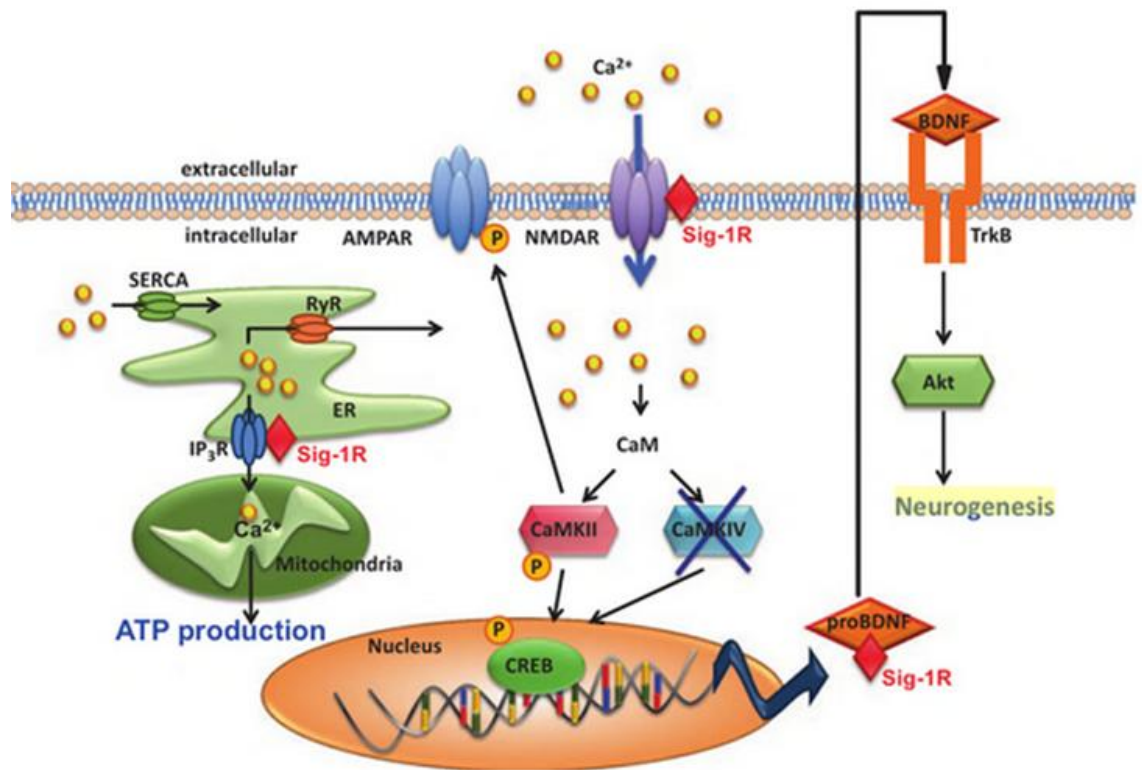
Figura 2. Sistema de defesa contra o estresse oxidativo do retículo endoplasmático (RE) .



ATP, adenosina trifosfato; ERAD, degradação associada ao ER; GPCR, receptor acoplado a proteína G; NF-κB, fator nuclear kappa-B.

Fonte: HAYASHI, 2015

Figura 3. Representação esquemática da alteração neurogênica no hipocampo de adultos.



ATP, adenosina trifosfato; ERAD, degradação associada ao ER; CaMKII, Kinase II dependente de cálcio-calmodulina; CREB, proteína ligada ao elemento responsivo à AMP cíclico; BDNF, fator neurotrófico derivado do cérebro; TrkB, receptor de BDNF.

Fonte: HAYASHI, 2015

Conforme demonstrado na **figura 3**, a estimulação de receptores sigma-1 aumenta a mobilização de cálcio intracelular através de receptores NMDA na membrana plasmática ou através da produção mitocondrial de ATP via retículo endoplasmático. O aumento intracelular de cálcio aumenta a autofosforilação de CaMKII (Kinase II dependente de cálcio-calmodulina) e promove a fosforilação da proteína ligada ao elemento responsivo ao AMP cíclico (CREB) e a expressão de BDNF que, por sua vez, aumenta a fosforilação de Akt e promove a neurogênese hipocampal. Esse mecanismo pode ser alterado pelo estresse. O comportamento tipo depressivo demonstrado em camundongos *null* para receptor sigma-1 estão associados com dificuldade na neurogênese hipocampal (CHEVALLIER; KELLER; MAURICE T, 2011; SABINO *et al.*, 2009).

Em modelo animal os efeitos da disfunção do eixo HHA induzida por estresse foram revertidos por substâncias que atuam nos receptores intracelulares sigma-1, evidenciando que

esse receptor pode mediar efeitos tipo antidepressivo. Os ligandos de receptores sigma (especialmente, os agonistas de receptor sigma-1, por exemplo, igmesina, SA4503, (+) - pentazocina, UMB23, UMB82) revelam potencial atividade antidepressiva em modelos animais de depressão, conforme evidenciado nos testes do nado forçado, suspensão da cauda e medo condicionado (MATSUNO *et al.*, 1996; PIWOWARSKA *et al.*, 2009; VILLARD *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2007).

1.2.2 Hipótese neurotrófica da Depressão

A hipótese neurotrófica constitui uma das principais teorias para a neurobiologia da depressão. Segundo essa hipótese, a depressão está associada a diminuição da expressão de BDNF (Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro) e atrofia de estruturas límbicas (YI *et al.*, 2014; YE *et al.*, 2011) relacionadas com humor e memória. Ainda de acordo com a hipótese neurotrófica, o estresse é um dos principais fatores associados à redução da atividade do BDNF (GROVES, 2007; DUMAN; MONTEGGIA, 2006).

Estudos utilizando amostras cerebrais *postmortem* mostraram redução significativa da proteína BDNF no hipocampo e córtex pré-frontal de pacientes depressivos que cometeram suicídio em comparação com os controles não-psiquiátricos (DWIVEDI *et al.*, 2003; KAREGE *et al.*, 2005). Evidências pré-clínicas sugerem que citocinas pro-inflamatórias podem influenciar, pelo menos em parte, a redução significativa da expressão gênica do BDNF e o aumento da expressão de mRNA do TrkB (receptor de BDNF) em animais com comportamento do tipo depressivo. Não há informações detalhadas sobre os mecanismos precisos subjacentes à modulação do BDNF pelo sistema imune e processos inflamatórios (ZHANG *et al.*, 2016). Por fim, sabe-se que a administração de fármacos antidepressivos aumenta a expressão do BDNF (NIBUYA 1995) e a infusão cerebral de BDNF produz efeito tipo antidepressivo em ratos (SIUCIAK, 1997; SHIRAYAMA, 2002).

1.2.3 Hipótese do estresse oxidativo da Depressão

De acordo com a hipótese do estresse oxidativo, a patogênese da depressão tem como fator precipitante o desequilíbrio entre a produção celular de espécies reativas de oxigênio e os mecanismos antioxidantes contrários contribui para a patogênese da depressão. As Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) podem desempenhar um papel ativo na fisiopatologia da depressão por vários mecanismos, como dano tecidual, inflamação

(FORLENZA; MILLER *et al.*, 2006), neurodegeneração (PERO *et al.*, 1990), mecanismos auto-imunes gerados pelo dano tecidual e apoptose (GIDRON *et al.*, 2006). Altos níveis de dano oxidativo também foram associados ao estresse psicológico (IRIE *et al.*, 2003; EPEL *et al.*, 2004; FORLENZA; MILLER *et al.*, 2006; GIDRON *et al.*, 2006).

O cérebro com sua ampla capacidade de consumir grandes quantidades de oxigênio e produzir radicais livres é considerado especialmente sensível ao dano oxidativo (HALLIWELL *et al.*, 2006; VALKO *et al.*, 2007). Portanto, não é surpreendente que o estresse oxidativo esteja implicado em vários distúrbios do cérebro, incluindo distúrbios neurodegenerativos, doenças psiquiátricas e ansiedade (REYNOLDS *et al.*, 2007; NG *et al.*, 2008; BOUAYED *et al.*, 2009)

1.2.3.1 O estresse oxidativo

A fosforilação oxidativa ocorre nas mitocôndrias e é uma importante fonte de ATP em organismos aeróbicos. Como subproduto, produz radicais livres, incluindo EROs e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), radicais centrados em carbono e centrados em enxofre (PERO *et al.*, 1990). Os radicais livres são átomos ou grupos de átomos com um número de elétrons não emparelhados, que são substâncias altamente reativas que podem resultar em reações em cadeia, com cada passo formando um radical livre. O processo de redução de oxigênio na água gera EROs como intermediários que podem causar danos. Quando a produção de EROs excede a capacidade antioxidante, a peroxidação lipídica tende a ocorrer (HALLIWELL, 2007; DAVIES, 1995).

Várias enzimas antioxidantes são responsáveis por inibir a formação de EROs ou por remover radicais livres. Estas enzimas antioxidantes incluem catalase [CAT], superóxido dismutase [SOD], glutatona peroxidase [GPx] e glutatona redutase [GSR]. SOD é considerada a primeira linha de defesa contra EROs e catalisa a dismutação do radical anion superóxido [O₂⁻] em H₂O₂, o qual pode ser reduzido a água e oxigênio molecular por CAT ou GPx (MCCORD; FRIDOVICH, 1988; CHELIKANI; FITA; LOEWEN, 2004).

Além de detoxificar o H₂O₂, a GPx também pode reduzir os hidro-peróxidos lipídicos e não lipídicos à custa da glutatona reduzida [GSH], que por sua vez é oxidada, formando glutatona dissulfeto [GSSG]. GSH é o antioxidante endógeno não enzimático mais importante e pode ser regenerado pela GSR com o consumo de fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida [NADPH]. Assim, pode-se concluir que o estresse oxidativo reflete o estado de desequilíbrio celular, no qual a produção de EROs excede os mecanismos de

resposta antioxidante que ajudam a neutralizar o dano oxidativo mediado pelas EROs ao DNA, RNA e lipídios, resultando em uma variedade de diferentes conseqüências fisiopatológicas (KROHNE-EHRICH *et al.*, 1977; FURUKAWA *et al.*, 2004; POULSEN *et al.*, 2012).

Diante desse cenário, os produtos naturais despontam como uma alternativa terapêutica no tratamento da depressão.

1.3 Plantas Medicinais

As plantas medicinais constituem uma fonte renovável de onde podem ser obtidos novos e eficazes medicamentos. A indicação de plantas medicinais aumenta a opção terapêutica, ofertando medicamentos equivalentes, e talvez com indicações terapêuticas complementares as medicações existentes sem substituir os medicamentos já comercializados e registrados (SIMÕES *et al.*, 1999; MAIOLI-AZEVEDO; FONSECA-KRUEL, 2007). As duas principais vias de identificação de produtos naturais são (i) o conhecimento das práticas tradicionais (ou etnofarmacologia), e (ii) a triagem aleatória de plantas, sendo a primeira mais vantajosa por permitir o planejamento da pesquisa de novos fármacos a partir do conhecimento empírico já existente (YUNES; CALIXTO, 2001).

A literatura mostra que medicamentos provenientes de substâncias naturais são capazes de tratar cerca de 80% das enfermidades humanas, possuindo efeitos antibacterianos, anticoagulantes, antiparasitárias, imunossupressores dentre outras (NEWMAN *et al.*, 2003). Isso torna-se possível graças a presença dos metabólitos secundários, que possuem diversas funções nos vegetais, como defesa contra predadores, proteção contra raios ultravioleta, atração de polinizadores, entre outros (PERES, 2003; SAKLANI e KUTTI, 2008).

Desta forma, tem-se evidenciado um crescente aumento no estudo de plantas preconizadas pela medicina popular para validar a sua utilização como fitoterápico seguro e eficaz. O emprego de técnicas modernas de farmacologia, biologia molecular, modelagem molecular, química farmacêutica e toxicologia renovaram o interesse na procura de novos medicamentos ou de protótipos de novos fármacos a partir de produtos naturais (CALIXTO *et al.*, 2000).

Dentre as técnicas de avaliação utilizadas, destaca-se o método de Lipinski que pontua as principais propriedades físico-químicas e estruturais para um fármaco ideal. A regra de Lipinski, também denominada de Regra dos 5, foi assim denominada devido aos quatro parâmetros analisados serem múltiplos de 5. O objetivo principal é estimar a solubilidade e

permeabilidade de fármacos administrados por via oral, predizendo a influência da estrutura química na absorção de um composto, uma vez que a previsão de processos farmacocinéticos, logo nos estágios iniciais é de extrema importância para o desenvolvimento de um candidato à fármaco. Segundo Lipinski, os critérios a serem analisados são: a Massa Molar a qual não deve exceder 500g/mol; o log P (lipofilicidade), cujo valor limite é 5; e os grupos doadores e aceptores de ligação de hidrogênio, cujas somatórias não deve ultrapassar a 5 e 10, respectivamente. Esses parâmetros estão associados a 90% dos fármacos orais em estudos clínicos fase II. A regra de Lipinski foi estendida, e os critérios adicionados incluem: o número de ligações rotacionais que deve ser menor ou igual a 10 e a área superficial polar cujo valor limite é menor ou igual a 140 \AA^2 (LIPINSKI *et al.*, 2001, 2004; NOGUEIRA *et al.*, 2008).

Após análise verificou-se que a riparina-I, produto natural isolada da planta *Aniba riparia*, não viola as regras originais nem as estendidas de Lipinski. Valores referentes à riparina-I: Massa Molar = 255,32; log P (lipofilicidade) = 2,99; grupos doadores de ligação de hidrogênio = 1; grupos aceptores de ligação de hidrogênio = 3; número de ligações rotacionais = 5; área superficial polar = $38,33 \text{ \AA}^2$. Portanto, a substância teste apresenta solubilidade e permeabilidade satisfatórias quando administrada por via oral.

1.4 Família Lauraceae e a espécie *Aniba riparia*

A família Lauraceae encontra-se amplamente distribuída nas regiões tropicais e subtropicais do planeta e possui cerca de 3000 espécies, muitas de alto rendimento, produtoras de óleos essenciais e também presentes na medicina tradicional e na culinária (ALCÂNTARA *et al.*, 2010; BROTTTO *et al.*, 2009). Os primeiros registros de sua utilização datam de 2800 a.C. na Grécia antiga, fato que influenciou os nomes de muitos dos gêneros existentes (LORENZI *et al.*, 2008). É uma família rica em metabólitos secundários pertencentes às classes das lignanas e neolignanas, alcaloides aporfínicos e benzilisoquinolínicos, flavonoides, sesquiterpenos, alcanidas e pironas (KANG *et al.*, 2009; NUNES *et al.*, 2013).

Das espécies que possuem efeito medicinal, uma que se destaca são as do gênero *Aniba*, onde diversos efeitos farmacológicos têm sido encontrados na literatura, como: efeito antiespasmódico da *A. canelila* (MAIA *et al.*, 2003), efeitos cardiovasculares do óleo essencial da *A. canelilla* (LAHLOU *et al.*, 2005), atividade larvicida da *A. duckei* (SOUZA *et al.*, 2007), antifúngica e sedativa da *A. roseodora* (ALMEIDA *et al.*, 2009; SIMIC *et al.*, 2004). A espécie *Aniba riparia* (Ness) Mez (que possui como sinônimo *Aydedron riparium*

Nees) é popularmente conhecida como louro e possui distribuição em diversos países como Brasil (Região Amazônica), Colômbia, Peru, Equador, Bolívia e Venezuela. Seus frutos contêm diversos constituintes químicos, como por exemplo, flavonóides, neolignan, stírilpironas e alcamidas (BARBOSA-FILHO *et al.*, 1987). Esta última classe de substância tem sido fonte de interesse de pesquisadores na busca de novas fontes vegetais com princípios farmacologicamente ativos (CASTELO-BRANCO, 2000) (**Figura 4**).

Figura 4. Aniba riparia (Nees) Mez



Fonte: <http://fm2.fieldmuseum.org/vrrc/max/LAUR-anib-ripa-ecu-2188224.jpg> (acesso: 05/17).

As alcamidas são metabólitos secundários que representam uma classe distinta de produtos naturais e são constituídas pela união de um ácido graxo (de 8-18 carbonos) unido a uma amina proveniente de algum aminoácido por descarboxilação no momento da condensação. Em algumas espécies estão relacionados com a proteção contra o ataque de patógenos (RAMIREZ-CHAVEZ *et al.*, 2004; KANG *et al.*, 2009). Do fruto verde não

maduro da *Aniba riparia* foram isoladas três alcaloides, popularmente chamadas de riparinas I, II e III (CASTELO-BRANCO, 1992) que apresentam diversas atividades biológicas, mostradas na tabela a seguir:

Quadro 1. Atividades biológicas das alcaloides isoladas da *Aniba riparia*

ALCALOIDE	ATIVIDADE BIOLÓGICA
Riparina I (O-metil-N-benzoil tiramina)	Anticonvulsivante (MONTEIRO <i>et al.</i> , 2005), Antimicrobiana (MARQUES, 2001), Miorrelaxante (MARQUES <i>et al.</i> , 2005), Hipotensor (SEIXAS, 1996), Antidepressiva, Ansiolítica (SOUSA <i>et al.</i> , 2005), Antinociceptivo (ARAUJO <i>et al.</i> , 2009)
Riparina II (O-metil-N-2 hidroxil benzoil tiramina)	Anticonvulsivante (LEITE <i>et al.</i> , 2006), Antimicrobiana (MARQUES, 2001), Relaxante de traqueia de cobaia (CASTELO BRANCO <i>et al.</i> , 2000), Hipotensor (SEIXAS, 1996), Antidepressivo (TEIXEIRA <i>et al.</i> , 2013), Ansiolítico (SOUSA <i>et al.</i> , 2007), Anti-inflamatório (CARVALHO <i>et al.</i> , 2013)
Riparina III (O-metil-N-2,6- dihidroxil benzoil tiramina)	Anticonvulsivante (MONTEIRO <i>et al.</i> , 2005), Espasmódico (THOMAS <i>et al.</i> , 1994); Miorrelaxante (MARQUES <i>et al.</i> , 2005), Antimicrobiana (MARQUES, 2001), Hipotensor (SEIXAS, 1996), Antinociceptivo e anti-inflamatório (VASCONCELOS, 2015), Antidepressivo (SOUSA <i>et al.</i> , 2004; MELO <i>et al.</i> , 2013; VASCONCELOS <i>et al.</i> , 2015), Ansiolítico (MELO <i>et al.</i> , 2006; SOUSA <i>et al.</i> , 2004)

Fonte: Carvalho (2016).

1.5 Modelagem Molecular

A compreensão dos mecanismos fisiológicos de diversos processos no corpo só é possível com o entendimento da interação entre macromoléculas ou entre uma macromolécula e um ligante que pode funcionar como agonista/antagonista ou substrato/inibidor. Para isso,

surge a modelagem molecular com o desenho racional de fármacos, cujo objetivo é direcionar as pesquisas para o desenvolvimento de moléculas com maior potencial ou para prever uma possível interação entre uma molécula e um receptor (MOBLEY e DILL, 2009; KITCHEN *et al.*, 2004).

Inicialmente, deve-se criar a estrutura tridimensional do ligante e também da macromolécula de interesse (receptor). A criação da macromolécula pode ser realizada através de métodos experimentais como: ressonância nuclear magnética, raios X ou cristalografia. Quando essa criação não for possível, pode-se realizar a modelagem por homologia como uma ferramenta alternativa para as previsões (RANGWALA; KARYPIS, 2011).

A modelagem por homologia é baseada na possibilidade de se determinar a estrutura de uma proteína por meio de sua sequência de aminoácidos. Inicia-se pela busca em um banco de dados como o *Protein Data Bank* (PDB) por proteínas da mesma família que tenham estruturas tridimensionais e coordenadas disponíveis. Um dos programas mais utilizados para realizar a busca por alinhamentos é o *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST), pois ele compara uma sequência desconhecida com aquelas depositadas em bancos de dados, de maneira rápida e confiável. Após este processo, realiza-se o alinhamento da sequência alvo com uma ou mais sequências moldes a fim de verificar a correspondência entre os aminoácidos e a partir daí gera-se a estrutura tridimensional inicial da macromolécula (MARTI-REMON *et al.*, 2009; MOUNT, 2004).

Após a criação do modelo, é necessário realizar uma análise de qualidade. Tal análise é realizada através da determinação de diversos fatores, como: comprimentos das ligações, planaridade das ligações peptídicas, ângulos de torções, quiralidade e energia. Programas como MolProbity e Procheck realizam estas análises e geram um gráfico de Ramachandran, que identifica os resíduos que se encontram fora das regiões energeticamente favoráveis, possibilitando uma melhora do modelo final. Caso após a análise da qualidade, o resultado não tenha sido satisfatório, deve-se realizar algumas estratégias de refinamento para a obtenção de um modelo mais próximo da realidade biológica (ALTMAN; DUGAN, 2005; LIPINSKI *et al.*, 2012)

Logo o modelo tendo sido criado e validado, garantindo a sua confiabilidade, deve-se realizar a técnica de atracamento molecular (*Docking Molecular*) para prever o modo e afinidade de ligação entre o ligante e um receptor (SCHWARZ; KAVRAKI, 2001). A visão mais recente do atracamento proteína-ligante, descreve uma proteína como um conjunto de estados conformacionais, com estruturas similares e energeticamente equivalentes. O ligante

ao interagir (através de ligações de hidrogênio, interações de van der Waals, interações iônicas, hidrofóbicas e/ou interações envolvendo anéis aromáticos e íons metálicos), seleciona uma conformação qualquer e desloca o equilíbrio para que essa conformação tenha sua proporção aumentada na população total (GUEDES *et al.*, 2013). Atualmente existem diversos programas de atracamento molecular, que auxiliam na identificação de sítios ativos e regiões farmacofóricas, diferenciando-se pelo método de busca e pela função de afinidade empregada. Podemos destacar, os programas AutoDock, AutoDock Vina e DockThor (TALELE *et al.*, 2010)

2. RELAVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

A depressão possui elevada prevalência e a literatura relacionada indica tendência de crescimento. Segundo relatório recente publicado pela WHO, em 2015, a doença se abatia sobre cerca de 322 milhões de pessoas no mundo, ou seja, sobre 4,4% da população global. O estudo também detectou o aumento da prevalência de casos mundiais em 18,4% entre os anos 2005 e 2015. No Brasil, sofria de depressão em 2015 cerca de 5,8% da população brasileira, um total de 11,5 milhões indivíduos. O índice é o maior na América Latina e o segundo maior nas Américas, atrás apenas dos Estados Unidos, onde foi registrado que 5,9% da população tinha o diagnóstico de depressão, um total de 17,4 milhões de casos. O levantamento mostrou que, além do Brasil e dos Estados Unidos, em países como Ucrânia, Austrália e Estônia também foram registrados altos índices de depressão em sua população – 6,3%, 5,9% e 5,9%, respectivamente (WHO, 2017).

A doença de alta prevalência mundial é também a principal causa de incapacidade laboral no planeta, sendo um dos principais contribuintes para a carga global de doenças (WHO, 2017). A depressão é um problema de saúde pública, relacionado à incapacidade funcional e à elevada morbi-mortalidade. Anualmente, a depressão acarreta gasto econômico estimado em US\$ 83 bilhões nos Estados Unidos (DONOHUE; PINCUS, 2007) e em 118 bilhões de euros na Europa. (SOBOCKI *et al.*, 2006). Os pacientes deprimidos apresentam limitação de suas atividades cotidianas e buscam com maior frequência os serviços de saúde (JOHNSON *et al.*, 1992).

A literatura científica indica claramente que os tratamentos efetivos para DDM ainda são muito necessários. Os medicamentos antidepressivos são atualmente o alicerce para o tratamento da doença, sendo eles, em sua maioria, moduladores das vias monoaminérgicas. No entanto, quase dois terços dos pacientes não conseguem alcançar a remissão dos sintomas

com seu plano de tratamento inicial (NELSON et al., 2008). Um terço dos pacientes com episódio depressivo com remissão inicial recaí no primeiro ano. Os índices de recaída são estimados em 20% a 24% nos primeiros 2 meses, 28% a 44% aos 4 meses, 27% a 50% aos 6 meses e 37% a 54% aos 12 meses (FLECK *et al.*, 2001). Além disso, pacientes deprimidos com o subtipo psicótico, têm um curso de doença mais pobre e maiores taxas de resistência ao tratamento (HAMODA *et al.*, 2008; IJIMA *et al.*, 2010).

No tratamento da depressão psicótica, estudos clínicos demonstraram a eficácia da combinação entre um antidepressivo (por exemplo, um antidepressivo tricíclico ou um inibidor seletivo da recaptção de serotonina (SSRI)) e um antipsicótico ou, mesmo, a eficácia da Terapia eletroconvulsiva (ECT) (Furuse e Hashimoto, 2009; Rothschild, 2013; Wagner et al., 2013). Mas as limitações dessas terapias estimulam a procura por novas substâncias antidepressivas. No caso dos antidepressivos, a demora para o surgimento do efeito terapêutico (2 a 4 semanas) é um problema. Alguns antipsicóticos causam efeitos extrapiramidais. O baixo impacto dessas drogas sobre os sintomas cognitivos também é uma lacuna a ser preenchida. Já a eletroconvulsoterapia tem como principais dificuldades o risco de eventos cardiovasculares e o alto custo da terapia (FURUSE e HASHIMOTO, 2009; MCINTYRE *et al.*, 2013).

Neste contexto, os produtos naturais surgem como uma potencial fonte de novos fármacos. Estudos prévios com a riparina-I, uma alcaloide isolada da planta *Aniba riparia*, apresentaram resultados promissores. Foi verificado que a riparina-I apresenta efeitos anti-inflamatório (ARAÚJO, 2007) e tipo antidepressivo e ansiolítico em roedores (SOUSA *et al.*, 2014; OLIVEIRA, 2012). Esses dois últimos efeitos foram verificados em testes de triagem apenas para avaliar a atividade farmacológica central da substância, no modelo de depressão aguda.

Considerando que a inflamação e o desbalanço oxidativo são propostos como mecanismos importantes da patogênese biológica e celular da depressão, compostos antioxidantes e anti-inflamatórios são considerados potenciais agentes antidepressivos (XU et al., 2014). De fato, alcaloides com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, como a piplartina e a riparina II, causam efeitos tipo antidepressivos em modelos animais de depressão (BEZERRA *et al.*, 2013; TEIXEIRA *et al.*, 2013; de Carvalho *et al.*, 2013).

Diante do exposto e, considerando estudos prévios que demonstraram a segurança da rip-I em testes de toxicidade in vivo e in vitro (CASTELO-BRANCO *et al.*, 2000; SILVEIRA, 2007), o objetivo principal do presente estudo é avaliar a efeito tipo antidepressivo da rip-I, em um modelo animal de depressão resistente ao tratamento, bem

como, investigar o possível envolvimento de vias antioxidantes e nitrérgica na geração desse efeito.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Investigar o potencial efeito antidepressivo da riparina-I em camundongos submetidos ao modelo de depressão induzido pela administração crônica de corticosterona.

3.2 Específicos

- Pesquisar o efeito do tratamento com riparina-I, corticosterona e fluvoxamina sobre a atividade locomotora no teste do campo aberto;
- Avaliar o potencial efeito tipo antidepressivo da administração de riparina-I sobre os seguintes parâmetros comportamentais:
 - tempo de imobilidade nos testes suspensão da cauda e nado forçado, porcentagem de interação social e porcentagem de preferência pela solução de sacarose;
- Analisar o potencial efeito tipo ansiolítico da administração de riparina-I sobre:
 - número de grooming no teste do campo aberto e, no teste do plus maze: número de entrada e tempo de permanência nos braços abertos;
- Estudar o potencial efeito tipo antipsicótico da administração de riparina-I sobre:
 - o número de rearing, no teste do campo aberto, e a porcentagem de inibição pré-pulso;
- Avaliar o potencial efeito tipo mneumônico da administração de riparina-I sobre:
 - memória de trabalho no teste do Y-maze e memória aversiva no teste da esQUIVA passiva.
- Analisar os efeitos da administração de riparina-I sobre os seguintes parâmetros neuroquímicos:
 - concentração de BDNF hipocampal;
 - enzimas/produtos do estresse oxidativo no córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado.
- Estudar a ancoragem molecular da rip-I com o receptor sigma-1;

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material Botânico

Os frutos verdes da *Aniba Riparia* foram coletados na região de Humaiatá, Estado do Amazonas, Brasil (BARBOSA-FILHO *et al.*, 1987) e cedidos ao Prof. Dr. José Maria Barbosa-Filho do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba. A extração e o isolamento da riparina-I foram feitos pelo Prof. Dr Stanley Juan Chavez Gutierrez da Universidade Federal do Piauí. Inicialmente, a riparina-I foi isolada e purificada por cromatografia em camada delgada e a sua estrutura foi confirmada por Ressonância Magnética Nuclear. A pureza foi determinada por cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência, determinando um grau de pureza maior que 98% (BARBOSA-FILHO *et al.*, 1987).

4.2 Animais

Foram utilizados camundongos Swiss fêmeas com peso entre 19 e 23g. Os animais foram mantidos em uma temperatura controlada (23 ± 1 oC) com um ciclo claro / escuro de 12h (luzes acesas às 7:00 da.m.) e sob livre acesso a água e alimentos. Os experimentos foram realizados após aprovação do projeto (Nº protocolo: 58/2013) (Anexo 1) pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Ceará. Os procedimentos foram conduzidos de acordo com as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) para o cuidado e uso de animais de laboratório, bem como o Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório publicado pelo *National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*.

4.3 Drogas

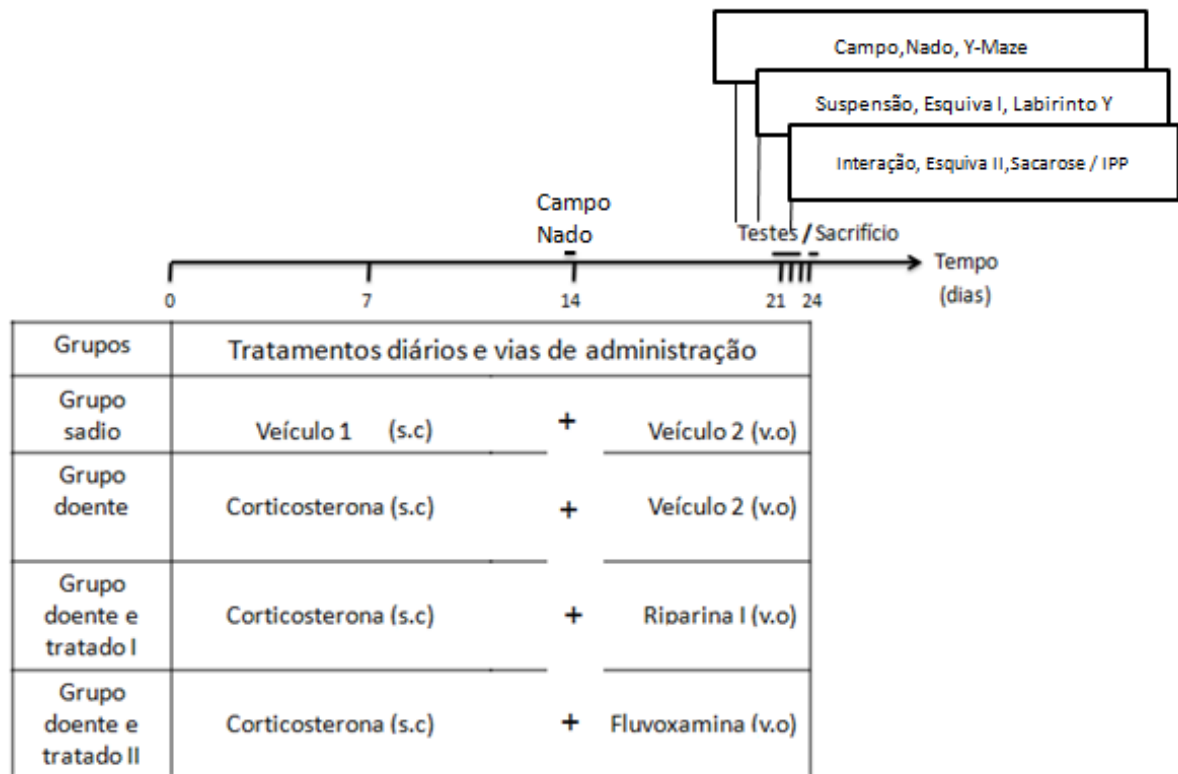
Todas as substâncias a seguir foram administradas em um volume de 0,1 mL/10 g de peso do animal. Corticosterona [cort 20 mg/kg, por via subcutânea (s.c.), Sigma, St. Louis, EUA] foi dissolvida em solução salina, contendo 0,1% de dimetilsulfóxido (DMSO) e 0,1% de Tween 80. Riparina I [50 mg/kg, via oral (v.o.) – melhor dose efetiva segundo Sousa *et al.*, 2014], Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, João Pessoa-PB, Brasil] foi dissolvida em

3% de Tween 80 e diluída em água destilada. A pureza da riparina-I foi de 98.93%, conforme verificada por high-performance liquid chromatography (HPLC). Fluvoxamina [Luvox® 50 mg/kg, via oral (v.o.)] foi diluída em água destilada.

4.4 Desenho do Experimento

O modelo de depressão deste trabalho foi estruturado como descrito por Zhao et al. (2008). Uma visão geral do desenho experimental está representada na Figura 5. Brevemente, a fase de tratamento de reversão da depressão foi simulado. No início, os animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos: grupo não estressado e grupo estressado. O primeiro grupo recebeu injeções diárias subcutâneas de veículo-1 e o segundo grupo recebeu injeções diárias subcutâneas de cort, ambos com duração de 23 dias. No 14º dia destes 23 dias, outro tratamento foi adicionado para cada grupo (e continuado por 9 dias): o grupo que recebia veículo-1 também começou a receber veículo-2, enquanto que o grupo tratado com cort foi redistribuído em três novos grupos, e cada novo grupo começou a receber, além do hormônio estressor, veículo-2, rip-I ou fluvoxamina por via oral.

Figura 5. Diagrama esquemático do desenho experimental



Veículo 1: solução salina, contendo 0,1% de dimetilsulfóxido (DMSO) e 0,1% de Tween 80 – Diluentes da corticosterona.

Veículo 2: 3% de Tween 80 e diluída em água destilada – Diluentes da riparina-I.

Média de animais por grupo:10

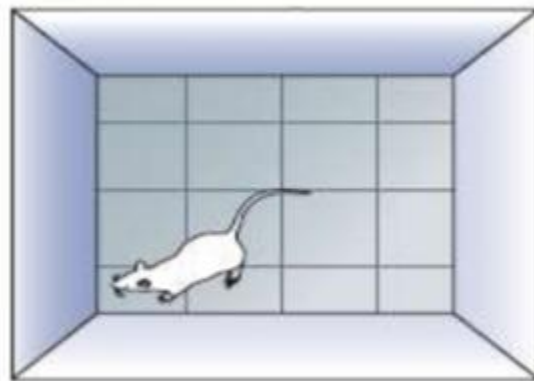
Os testes de campo aberto e de natação forçada foram realizados no 14º dia e repetidos no 21º dia. No 21º, 22º e 23º dias eram realizados testes comportamentais, três testes por dia pelos quais todos os animais passavam. Os testes comportamentais ocorreram no início da tarde, 4 horas após a administração oral de veículo-2, rip-I ou fluvoxamina. O comportamento era avaliado por um examinador que desconhecia as substâncias administradas aos animais. No final da linha do tempo, os camundongos foram mortos por decapitação e o córtex pré-frontal, hipocampo e estriado foram dissecados, rapidamente congelados e armazenados a -70°C até serem avaliados. A partir das amostras cerebrais foram dosados parâmetros de estresse oxidativo, níveis de nitrito e BDNF.

4.5 Testes comportamentais

4.5.1 Teste do Campo Aberto

Teste utilizado para avaliar a atividade exploratória do animal. O aparato consiste de uma caixa em acrílico com paredes transparentes e fundo preto, dimensões 30 x 30 x 15, e dividida em 9 quadrantes. O teste teve duração total de 6 minutos, sendo 1 minuto reservado para a adaptação. Os parâmetros avaliados são número de *crossings* (cruzamentos), número de *rearings* (levantamentos) e número de *groomings* (movimentos de auto-limpeza). (ARCHER, 1973).

Figura 6. Arena do campo aberto



Parâmetros avaliados:



Rearing



Grooming



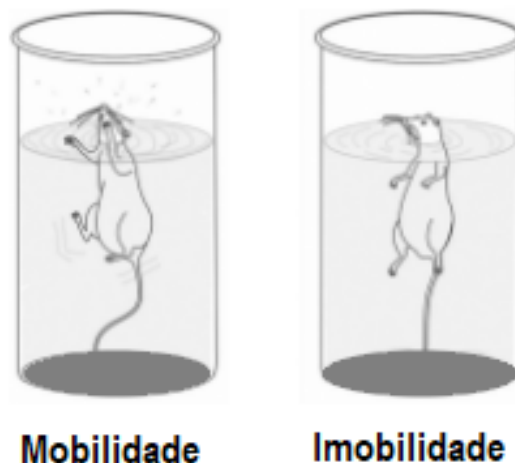
Deslocamento
(Cruzamentos de
quadrantes)

Fonte: https://www.researchgate.net/figure/277885389_fig4_Figure-2-Ethogram-of-rat-behavior-in-the-hole-board-apparatus-Walking-Wa-the-rat

4.5.2 Teste do Nado Forçado (TNF)

Os camundongos foram colocados individualmente para nadar em um recipiente cilíndrico aberto (diâmetro, 22 cm, altura, 40 cm) que continha 20 cm de água mantida a 25 ± 1 ° C. O teste teve duração total de 6 minutos, sendo 1 minuto reservado para a adaptação. O tempo total durante o qual o animal permaneceu imóvel foi registrado, por um período de 5 minutos. A imobilidade foi definida como o animal flutuando na água sem se esforçar e fazendo apenas movimentos muito mínimos necessários para manter sua cabeça acima da água. Um aumento na duração da imobilidade é indicativo de comportamento deprimido (PORSOLT et al., 1977).

Figura 7. Aparato do Nado Forçado

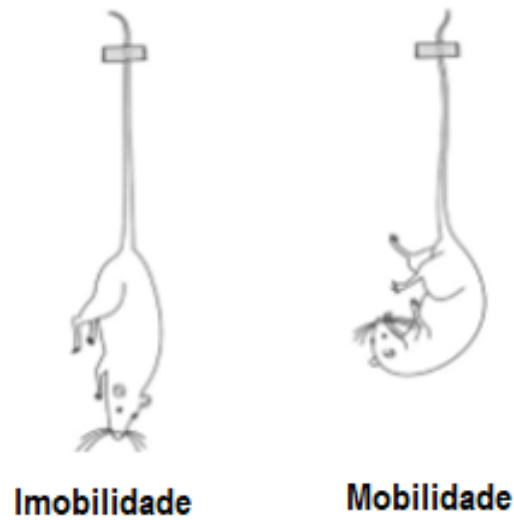


Fonte: QUEVEDO *et al.*, 2013

4.5.3 Teste da Suspensão da Cauda (TSC)

Os camundongos foram colocados individualmente e suspensos, presos pela cauda com uma fita adesiva numa plataforma a 60 cm acima da bancada. O teste teve duração total de 6 minutos, sendo 1 minuto reservado para a adaptação. O tempo total durante o qual o animal permaneceu imóvel foi registrado, por um período de 5 minutos.

Figura 8. Suspensão da Cauda

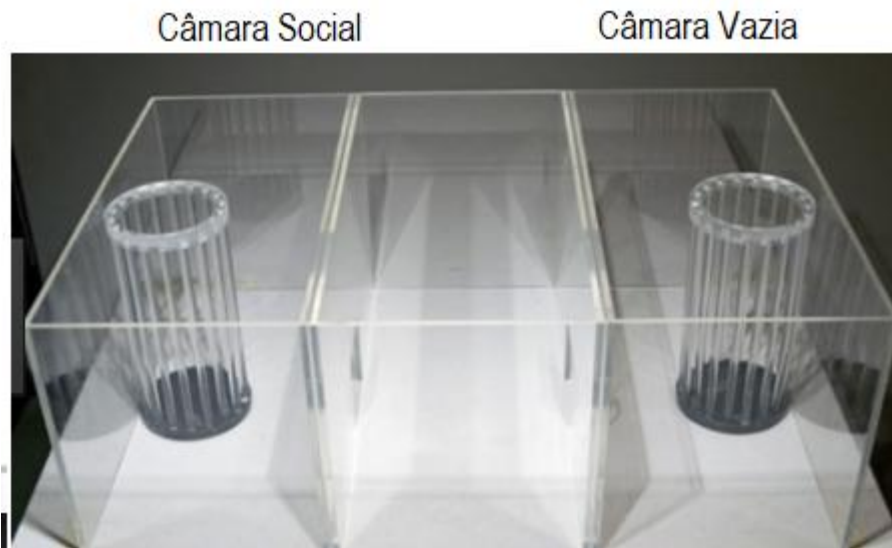


Fonte: QUEVEDO *et al.*, 2013

4.5.4 Interação Social (IS)

O aparato do teste consiste em uma caixa de acrílico 60 cm × 40 cm dividida em três câmaras interligadas por meio de uma abertura com as dimensões 6 x 6 cm. Nas extremidades das câmaras das havia uma gaiola de ferro, uma com um camundongo desconhecido e do mesmo sexo (câmara social) e outra vazia (câmara oposta). Os animais teste foram colocados na câmara central, cada um teve um tempo de 5 min de exploração na caixa (RADYUSHKIN *et al.*, 2009). Foi medido o tempo gasto em cada uma das três câmaras, e a preferência social foi definida como: (% do tempo gasto na câmara social) – (% do tempo gasto na câmara oposta).

Figura 9. Aparato de Interação social



Fonte: Horst *et al.*, 2014

4.5.5 Preferência pela solução de sacarose

A anedonia foi avaliada por meio do teste de preferência pela solução de sacarose. O teste foi realizado como descrito por Mao *et al.* (2014) com pequenas modificações. Antes do teste, os camundongos foram treinados para se adaptar a uma solução de sacarose (2%, v/v) colocando-se dois frascos de uma solução de sacarose, durante 18 horas; em seguida, uma das garrafas foi substituída por água durante 18 horas. Após a adaptação, para a realização do teste, os animais foram colocados em gaiolas individuais e receberam a opção de uma garrafa contendo 100 mL de água e outra contendo 100 mL de sacarose (2%, v/v), durante 18 horas (Figura 10). O teste foi realizado no período da noite sem privação de comida. Ao final do teste, foram determinados o consumo de água e a porcentagem de preferência pela solução de sacarose a qual foi calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{Preferência de sacarose (\%)} = \frac{\text{consumo de sacarose}}{\text{consumo de água} + \text{consumo de sacarose}} \times 100$$

Uma PSS < 65% é indicativa comportamento tipo anedônico.

Figura 10. Oferta de líquidos para o teste de Preferência pela solução de sacarose



Fonte: Própria autora

4.5.6 Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE) ou Plus maze

O LCE consiste de dois braços abertos opostos (30 x 5 cm) e dois fechados (30 x 5 x 25 cm), também opostos, em forma de cruz. Os braços abertos e fechados estão conectados por uma plataforma central (5 x 5 cm). O aparelho está elevado a uma altura de 45 cm do nível do chão. Os animais foram colocados no centro do aparelho com a cabeça voltada para um dos braços fechados e o seu comportamento observado por 5 minutos. As medidas comportamentais registradas durante o experimento foram: número de entradas e o tempo despendido em ambos os braços, abertos e fechados.

Figura 11. Labirinto em Cruz Elevado



Fonte: <http://lafayetteneuroscience.com/products/no-auto-elevated-plus-mice>

Para análise estatística dos dados e confecção dos gráficos, são considerados apenas os parâmetros relacionados aos braços abertos. Para isso, a porcentagem de entradas nos braços abertos é calculada dividindo-se o número (frequência) de entradas nos braços abertos pelo número (frequência) total de entradas (obtida pela soma simples das frequências de entradas nos braços abertos e nos fechados). Esse índice obtido é multiplicado por 100. De maneira semelhante, é calculada a porcentagem do tempo em que os animais permanecem nos braços abertos (**Quadro 2**).

Dessa forma, os parâmetros levados em consideração para análise estatística são:

- Número de entradas nos braços abertos (NEBA);
- Número de entradas nos braços fechados (NEBF);
- Tempo de permanência nos braços abertos (TPBA);
- Tempo de permanência nos braços fechados (TPBF);
- Porcentagem de entrada nos braços abertos (PEBA);
- Porcentagem do tempo de permanência nos braços abertos (PTBA).

Quadro 2 - Cálculo dos parâmetros PEBA e PTBA do LCE

Cálculo do PEBA e PTBA	
% entrada nos braços abertos (PEBA)	% tempo de permanência nos braços abertos (PTBA)
$\text{PEBA} = \frac{\text{NEBA} \times 100}{(\text{NEBA} + \text{NEBF})}$	$\text{PTBA} = \frac{\text{TPBA} \times 100}{(\text{TPBA} + \text{TPBF})}$

4.5.7 Inibição Pré-pulso (IPP)

Inibição Pré-Pulso (IPP) é caracterizada pela redução do reflexo de sobressalto a um estímulo acústico intenso (pulso), quando imediatamente precedido por um estímulo de menor intensidade (pré-pulso) (HOFFMAN; ISON, 1980; SWERDLOW *et al.*, 2001). A reação corporal dos ratos a um estímulo acústico, no presente trabalho, foi monitorada em uma câmara (INSIGHT equipamentos científicos – Brasil modelo EP-175) conectada a um tubo (diâmetro 8,2 cm, comprimento 20 cm) montada em uma caixa fechada ventilada.

Os camundongos foram colocados em um contensor (4,5 × 5,0 × 5,5 cm) com barras de aço inoxidável de 3,0 mm de diâmetro com espaçamento de 0,8 centímetros de distância. O contensor foi mantido preso sobre uma balança, chamada de plataforma de resposta, através de quatro parafusos miniaturas. Um alto-falante localizado a 15 cm do contensor, foi usado para fornecer os estímulos de pulso, pré-pulso e ruído de fundo. O contensor, a plataforma e o alto-falante foram localizados dentro de uma câmara acústica ventilada (64 × 60 × 40 cm). Procedimentos de calibração foram realizados antes dos experimentos para garantir sensibilidades equivalentes das plataformas de resposta ao longo do período de teste.

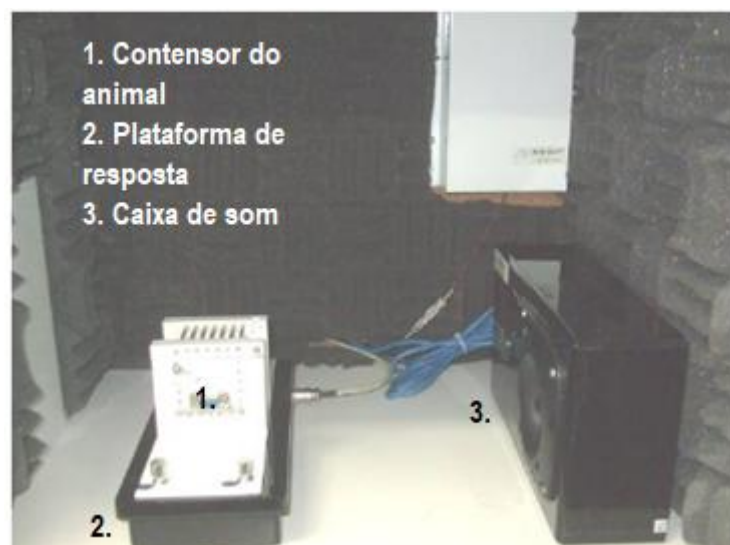
A sessão de testes começou ao colocar um animal no contensor para a aclimação, consistindo este procedimento em uma exposição de 5 minutos ao ruído de fundo (65 dB). Após o período de aclimação os camundongos foram apresentados a uma série de 10 estímulos de treino (pulso sozinho - 120 dB, 50 ms de duração), com um ensaio de inter-intervalo de 20s. O objetivo desta fase foi permitir a habituação da resposta de sobressalto do animal. Posteriormente, a modulação IPP de sobressalto foi testada no seguinte protocolo: consistiu de 74 ensaios pseudorandomizados divididos em oito categorias diferentes, apresentados com um intervalo inter-estímulos de 20s: 20 apresentações de pulso

sozinho (120 dB, 50 ms de duração), 8 apresentações de cada intensidade de pré-pulso sozinho (70, 75 e 80 dB, frequência 3000 Hz, 20 ms de duração), 10 apresentações de cada intensidade de pré-pulso + intensidade de pulso (com intervalo de 50ms entre pré-pulso e pulso) e ausência de estímulo; nesse bloco o animal só recebe o estímulo de ruído de fundo(Levin et al., 2011). São utilizadas três intensidades de pré-pulso diferentes para que o teste tenha maior veracidade, como se o mesmo fosse feito em triplicata.

A média da amplitude de resposta de sobressalto aos ensaios de pulso sozinho (P) e pré-pulso + pulso (PP + P) foi calculada para cada animal. O nível de IPP em cada camundongo foi definido como a porcentagem da redução da amplitude do sobressalto nos ensaios de PP + P em comparação com a amplitude do sobressalto nos ensaios de P, de acordo com a seguinte fórmula: $\% \text{ PPI} = 100 - [100 \times (\text{PP} + \text{P} / \text{P})]$. Usando esta fórmula, um valor de IPP de 0% denota que não houve diferença entre a amplitude da resposta de sobressalto do pulso sozinho e do pré-pulso + pulso, conseqüentemente, não houve IPP (LEVIN *et al.*, 2011).

Esperou-se que o grupo de animais tratados repetidamente com corticosterona (controle positivo) apresentassem déficits de IPP neste teste comportamental e que os animais tratados com o antipsicótico padrão, fluvoxamina, não apresentassem alterações neste parâmetro.

Figura 12. Câmara acústica



Fonte: própria autora

4.5.8 Teste do labirinto em Y

A memória de trabalho foi avaliada por meio do teste de labirinto em Y, que permite avaliar o comportamento cognitivo exploratório. O labirinto consiste em três braços idênticos de 40 cm de comprimento, 25 cm de altura e 6 cm de largura cada um convergindo a um ângulo igual. Um por vez os animais eram colocados no centro do aparato, livres para explorar os braços do labirinto durante 8 minutos. A série de entradas do braço, incluindo possíveis retornos no mesmo braço, foram registradas. Uma alternância foi definido como entradas em todos os três braços de forma consecutivos . O número de alternâncias máximas foi portanto, o número total de entradas do braço menos dois e a porcentagem de alternância foi calculada como (alternâncias corretas / alterações totais) X 100. Por exemplo, se os braços fossem identificados como A, B, C e o camundongo explorasse a sequencia ABCACBACCAB, o número de entradas seria 11, e as alternâncias sucessivas: ABC, BCA, ACB, CBA, BAC, CAB. Portanto, a porcentagem de alternância seria seja $[6 / (11 - 2)] \times 100 = 66,7$ (SARTER *et al.*, 1988).

Figura 13. Labirinto em Y



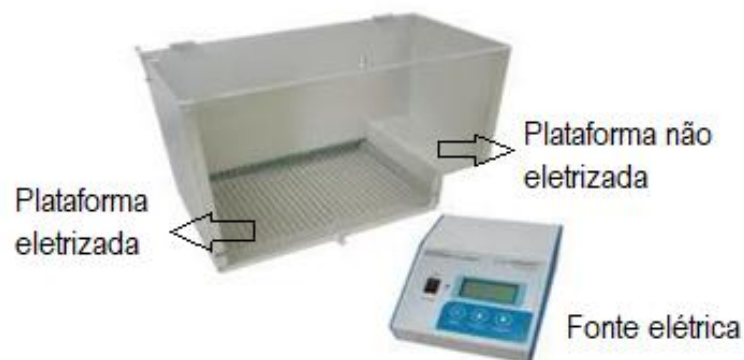
Fonte: <https://www.stoeltingco.com/y-maze.html>

4.5.9 Teste da Esquiva Passiva

O teste de esquiva passiva envolve a específica repressão da tendência natural do animal de explorar além da plataforma e envolve o aprendizado de evitar o choque, um componente aversivo que constitui uma resposta condicionada. O aparelho consiste de uma

caixa de acrílico (48 x 22 x 22), com o piso constituído por uma plataforma e uma grade eletrificada. O animal foi colocado na plataforma e deixado para ambientação no aparelho durante um 1 minuto, e depois retirado. Após 30 segundos, o animal foi colocado novamente na plataforma. O animal ao descer da plataforma recebeu um choque de 0,5 mA, durante 1 segundo, com o tempo de latência para entrar sendo registrado, até um máximo de 5 minutos (treino). Retirou-se o animal e após 15 minutos, este foi colocado novamente na plataforma e registrou-se a latência de descida (avaliação da memória recente). A retenção do aprendizado (avaliação da memória tardia) foi testada após 24 h, quando o animal foi colocado na plataforma e o tempo de latência para a descida da plataforma foi registrado. Nessa etapa o animal não recebe o choque (GOLD,1986).

Figura 14. Aparelho da Esquiva Passiva



Fonte: Própria autora

4.6 Testes Neuroquímicos

4.7.1. Preparação de tecidos. As amostras de tecido cerebral foram homogeneizadas {dez vezes [peso / volume (p / v)] com tampão de fosfato 0,1 M gelado [pH 7,4]}. Os homogenatos foram centrifugados a 10000 xg durante 15 min e as alíquotas de sobrenadante foram separadas e utilizadas nas dosagens de parâmetros do estresse oxidativo. Para a medição de BDNF, as amostras foram homogeneizadas 20 vezes (p / v) com tampão de solução salina tamponada com fosfato (PBS) (pH 7,4), com a adição de um coquetel de inibidor de protease (Sigma).

Determinação dos níveis de BDNF. Os níveis de BDNF foram determinados no hipocampo por meio de ELISA sandwich anti-BDNF (Immunoassay Quantikine® BDNF), de acordo com as instruções do fabricante (R & D Systems, Minneapolis, MN, EUA). Resumidamente, os homogeneizados cerebrais e padrões (62,5-4000 pg / mL) foram pipetados em poços de uma microplaca pré-revestida com anticorpo monoclonal específico para BDNF. Qualquer BDNF presente foi então ligado pelo anticorpo imobilizado. Um anticorpo monoclonal ligado a enzimas específicas para BDNF foi adicionado aos poços. Após uma lavagem para remover qualquer reagente enzima-anticorpo não ligado, adicionou-se uma solução de substrato aos poços; a cor se desenvolve em proporção à quantidade de BDNF ligada a etapa inicial. O desenvolvimento de cores foi interrompido e a intensidade da cor foi medida dentro de 30 min, usando um leitor de microplacas ajustado para 450 nm. A quantidade de BDNF foi determinada por absorbância em 450 nm e expressa como pg de proteína por g de tecido. (FREY *et al.*, 2006).

Avaliação do estresse oxidativo:

Avaliação da atividade SOD. A atividade SOD foi medida de acordo com Sun e Zigman (1978). A atividade enzimática foi avaliada medindo sua capacidade para inibir a redução fotoquímica do tetrazólio nitro-azul (NBT). Os resultados foram expressos como a quantidade de SOD necessária para inibir a taxa de redução do NBT em 50% em unidades da enzima por μg de proteína (proteína U / μg). A determinação da proteína foi avaliada pelo método de Bradford (Bradford, 1976).

Determinação dos níveis de GSH. Os níveis de GSH foram avaliados de acordo com Sedlak e Lindsay (1968). O método foi baseado na reação de reagente de Ellman (DTNB) com grupos tiol livres. Homogeneizados a 10% (p / v) em EDTA 0,02 M foram adicionados a uma solução de ácido tricloroacético a 50%. O nível de GSH foi determinado pela absorvência a 412nm e foi expresso como ng de GSH / g tecido .

Avaliação da peroxidação lipídica. A formação do peróxido lipídico foi analisada pela mensuração das substâncias reagentes do ácido tiobarbitúrico (TBARSs) nos homogeneizados. A peroxidação lipídica foi determinada pela absorvência a 535nm, sendo expressada como μmol de malondialdeído (MDA) / g de tecido úmido (Ohkawa *et al.*, 1979).

Determinação de nitrito. A quantidade de nitrito estável, o produto final do metabolismo do óxido nítrico (NO), foi determinada por um ensaio colorimétrico como descrito por Radenovic e Selakovic (2005). A absorvância foi medida a 550 nm através de um leitor de microplacas. A curva padrão foi preparada com várias concentrações de NaNO₂ (variando de 0,75 a 100 µM) e foi expressa como µmol / mg de proteína.

4.7 Modelagem molecular

Para verificar a interação com o receptor pluripotente sigma-1 envolvido na regulação do humor e cognição, foram utilizadas ferramentas de bioinformática disponíveis online gratuitamente. O ligante (Rip-I) foi obtido através do programa Avogadro. Para obtenção do modelo confiável do receptor sigma 1, foi selecionado modelo encontrado no PDB (*Protein Data Bank*) com os códigos de ID: 5HK1 (pertencente à espécie *Homo sapiens*), escolhido por fatores de similaridade com a espécie *Mus Musculus*, empregando o servidor *Run Blast*.

A análise da interação molecular (Docking Molecular) ocorreu através da utilização da estrutura da rip-I com o receptor sigma-1, com auxílio do software Autodock Tool. A técnica permite obter diferentes conformações espaciais do ligante, possibilitando identificar qual dentre estas é a mais provável na interação ligante-alvo.

4.8 Análise estatística

Os resultados comportamentais da inibição de prepulse foram analisados por two-way ANOVA seguido pelo teste post hoc de Bonferroni. Os resultados das outras determinações comportamentais e parâmetros neuroquímicos foram analisados usando one-way ANOVA seguido do teste post hoc de Student-Newman-Keuls para comparações múltiplas. Previamente, a distribuição normal dos dados foi avaliada. O nível de significância foi definido em $p \leq 0,05$. As análises de dados foram realizadas usando o software GraphPad Prism, versão 5.0 para Windows (copyright 1992-2007; GraphPad Software, San Diego, Califórnia, EUA).

5 RESULTADOS

Os diferentes tratamentos oferecidos aos camundongos não causaram alterações significativas na atividade locomotora espontânea ou no número de *grooming*, conforme detectado no teste do campo aberto. No entanto, a administração de corticosterona + veículo-2 (21º dia) aumentou o número de *rearing* do grupo estressado em comparação ao grupo controle e este foi revertido na associação de cort + rip e cort + flu (**Tabela 1**).

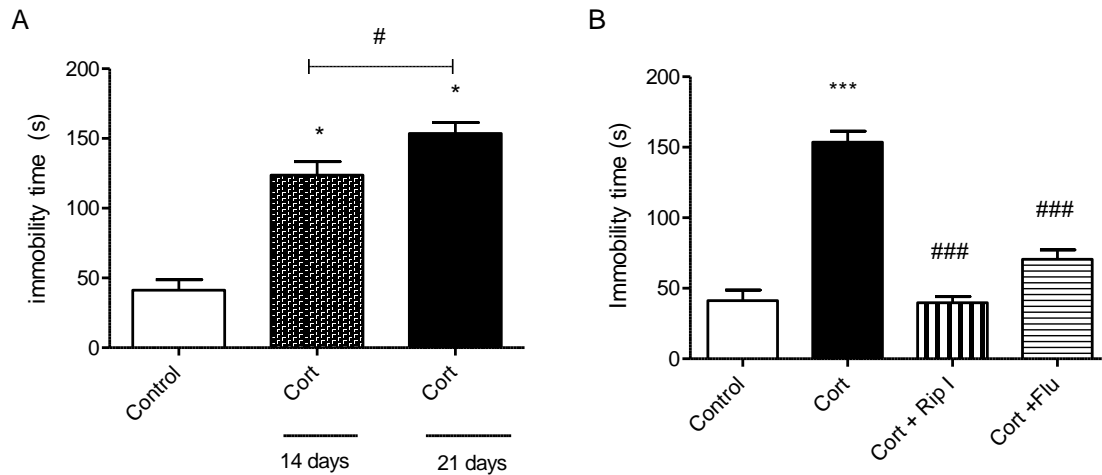
Tabela 1. Efeito das administrações de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina em camundongos no teste do campo aberto.

Teste do campo aberto				
Tratamento com as substâncias isoladas	Tempo de tratamento	Número de <i>Crossing</i>	Número de <i>Rearing</i>	Número de <i>Grooming</i>
Veículo-2	9 dias	39,42 ± 3,474	6,333 ± 0,9796	2,455 ± 0,2995
Rip-I 50 mg/kg		35,00 ± 2,601	5,600 ± 1,194	2,300 ± 0,3958
Flu 50 mg/kg		36,00 ± 1,106	3,500 ± 0,8724	1,900 ± 0,2333
Tentativa de indução do estresse	Tempo de tratamento	Número de <i>Crossing</i>	Número de <i>Rearing</i>	Número de <i>Grooming</i>
Veículo -1	14 dias	37,80 ± 1,467	4,000 ± 0,8165	3,400 ± 0,5416
Cort 20 mg/kg		35,00 ± 1,880	5,889 ± 1,230	4,909 ± 0,9482
Tentativa de reversão do estresse	Tempo de tratamento	Número de <i>Crossing</i>	Número de <i>Rearing</i>	Número de <i>Grooming</i>
Veículo -1+ Veículo -2	7 dias	36,67 ± 3,693	5,737 ± 1,288	2,765 ± 0,3590
Cort + veículo-2		39,80 ± 4,141	10,35 ± 2,181*	3,444 ± 0,5842
Cort + rip-I		30,45 ± 3,028	3,455 ± 1,048 [#]	2,444 ± 0,4729
Cort + flu		28,18 ± 2,565	2,882 ± 0,8175 ^{##}	2,353 ± 0,2836

* $p < 0,05$ versus grupo veículo, [#] $p < 0,05$ e ^{##} $p < 0,01$ versus grupo corticosterona de acordo com *one-way ANOVA* seguido por Student-Newman-Keuls' post hoc test.

O **gráfico 1A** mostra que as injeções repetidas de corticosterona, por 14 e 21 dias, produziram um aumento tempo-dependente do parâmetro tempo de imobilidade no teste do nado forçado (Controle: 41,18 ± 7,498; Grupo tratado com corticosterona por 14 dias: 123.8 ± 9.702 $p < 0,001$; Grupo tratado com corticosterona por 21 dias: 153.5 ± 7.940, $p < 0,001$). O **gráfico 1B** indica que as administrações de fluvoxamina (50 mg/kg) ou riparina-I (50 mg/kg), por 7 dias, diminuíram o tempo de imobilidade nos grupos de animais estressados (cort + rip-I: 39,73s ± 4,317, $p < 0,001$; cort + flu: 70,59s ± 6,716, $p < 0,001$).

Gráfico 1. Efeito tempo-dependente da administração de corticosterona no teste do nado forçado (A). Efeito da administração de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina no Teste do Nado Forçado (B).



As barras representam a média \pm erro padrão da média do tempo de imobilidade ($n=8-10$ animais/grupo). * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ versus grupo controle, ### $p < 0,001$ versus grupo corticosterona. # $p < 0,05$ para o grupo tratado com corticosterona por 14 dias versus o grupo tratado com corticosterona por 21 dias, de acordo com one-way ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls' *post hoc* test.

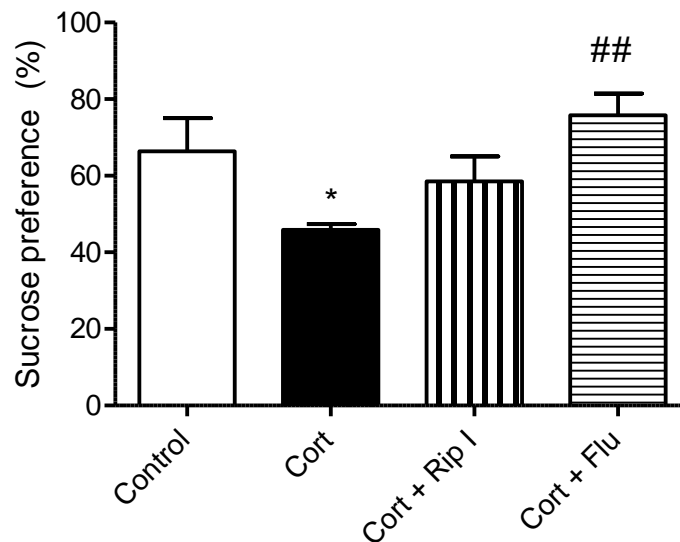
A avaliação do teste de preferência à solução de sacarose (**gráfico 2**) evidencia que o grupo tratado com corticosterona, por 21 dias, apresentou uma menor porcentagem de preferência à solução de sacarose em relação ao grupo controle, entretanto, essa redução não foi observada no 21º quando cort foi associada com riparina e foi revertida quando associada com a flu (Control: $66,39 \pm 8,610$; cort: $45,88 \pm 1,508$, $p < 0,05$; cort + rip I: $58,58 \pm 6,466$; cort + flu: $75,81 \pm 5,652$, $p < 0,01$).

Tabela 2 Efeito das administrações de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina em camundongos no Teste da Suspensão da Cauda.

Grupos Experimentais	Tempo de Imobilidade
Controle	67,12 ± 7,013
Corticosterona	140,2 ± 7,012***
Corticosterona + riparina-I	62,65 ± 6,393####
Corticosterona + fluvoxamina	57,59 ± 6,273####

Os dados são expressos em média ± erro padrão da média do tempo de imobilidade (n =8-10 animais/grupo). ***p< 0,001 *versus* grupo controle, ####p< 0,001 *versus* grupo corticosterona, de acordo com one-way ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls' *post hoc* test.

Gráfico 2. Efeito da administração de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina no Teste da Preferência pela Solução de Sacarose.

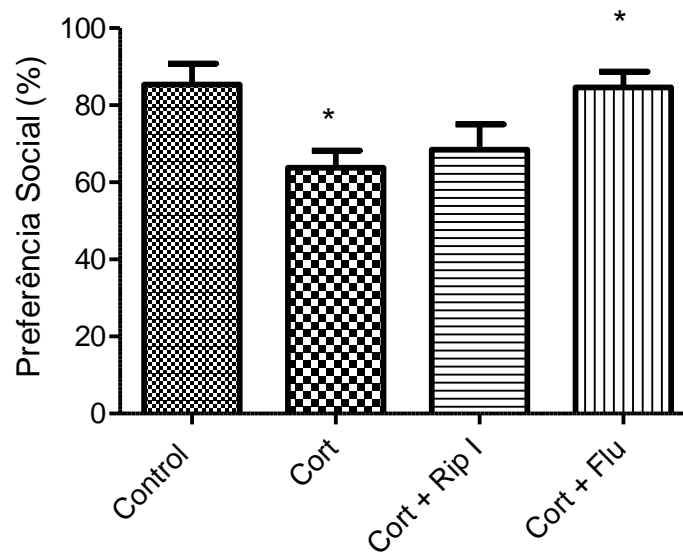


Os resultados são expressos como média ± erro padrão da média, 8-10 animais/ grupo. A análise estatística foi determinada pelo one-way ANOVA seguido por Student–Newman–Keuls test. Valores significantes: *p < 0,05 *versus* grupo controle control e ##p < 0,01 *versus* grupo tratado com corticosterona por 21 dias.

A avaliação do teste de interação social (**gráfico 3**) evidencia que o grupo tratado com corticosterona apresentou uma menor porcentagem de preferência social em relação ao grupo controle, e essa diferença é estatisticamente significativa. A administração de riparina-I não aumentou o parâmetro avaliado em relação ao grupo estressado, mas evitou a redução significativa da porcentagem de preferência social em relação ao grupo controle (Control:

66,39 ± 8.610; cort: 45,88 ± 1.508, $p < 0,05$; cort + rip I: 58,58 ± 6,466; cort + flu: 75,81 ± 5,652, $p < 0,01$).

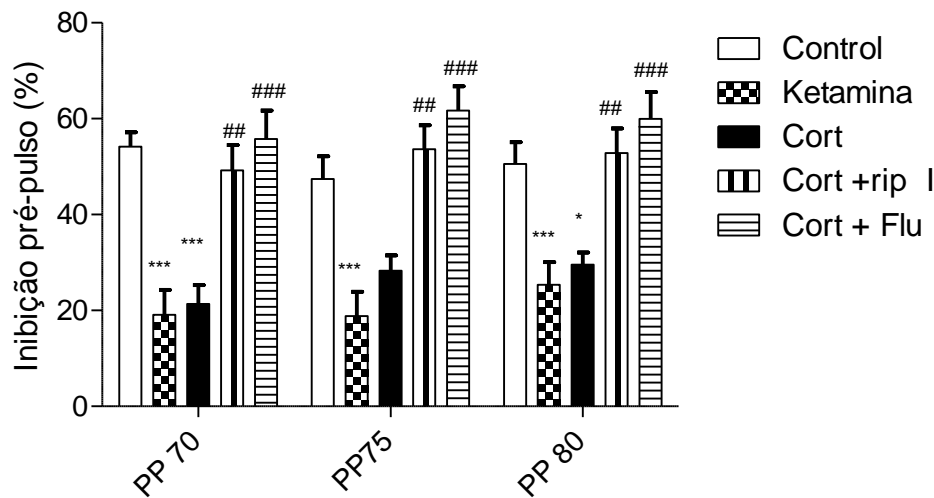
Gráfico 3. Efeito da administração de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina no Teste da Interação social.



Os resultados são expressos como média ± erro padrão da média, 8-10 animais/ grupo. A análise estatística foi determinada pelo one-way ANOVA seguido por Student–Newman–Keuls test. Valores significantes: * $p < 0.05$ versus grupo controle control e # $p < 0.05$ versus grupo tratado com corticosterona.

O **gráfico 4** mostra que a administração de ketamina produziu uma diminuição estatisticamente significativa da porcentagem de inibição pré-pulso de sobressaltos em todas as intensidades de pré-pulso avaliadas ($p < 0,001$) em relação ao grupo tratado com veículo. A administração de corticosterona causou uma redução significativa nas intensidades pré-pulso de 70 e 80 dB ($p < 0,001$ e $p < 0,05$, respectivamente). As tentativas de reversão com as administrações de riparina I (50 mg/kg) ou fluvoxamina (50 mg/kg) foram bem-sucedidas porque elas preveniram a redução dos níveis de inibição pré-pulso relacionados à administração do hormônio do estresse em todas as intensidades sonoras avaliadas (cort + rip I, $p < 0,01$ e cort + flu, $p < 0,001$).

Gráfico 4. Efeito da administração de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina no Teste da Inibição Pré-pulso.



Um grupo separado de animais recebeu uma injeção intraperitoneal diária de ketamina 20 mg / kg durante 14 dias para ser avaliado como um controle positivo no teste de inibição do pré-pulso. As barras representam a média \pm erro padrão da média, n = 8–10 animais/grupo. * p < 0,05 e *** p < 0,001 versus controle. ### p < 0,001 versus grupo corticosterona de acordo com o two-way ANOVA seguido por Bonferroni's *post hoc* test.

As administrações repetidas de corticosterona reduziram de forma estatisticamente significativa os seguintes parâmetros do teste do plus maze no grupo estressado: porcentagem de entrada nos braços abertos (PEBA), tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) e porcentagem do tempo de permanência nos braços abertos (PTBA) comparados ao controle. Por outro lado, as administrações de riparina-I e fluvoxamina nos grupos de tentativa de reversão evitaram as alterações daqueles parâmetros do teste (**Tabela 2**).

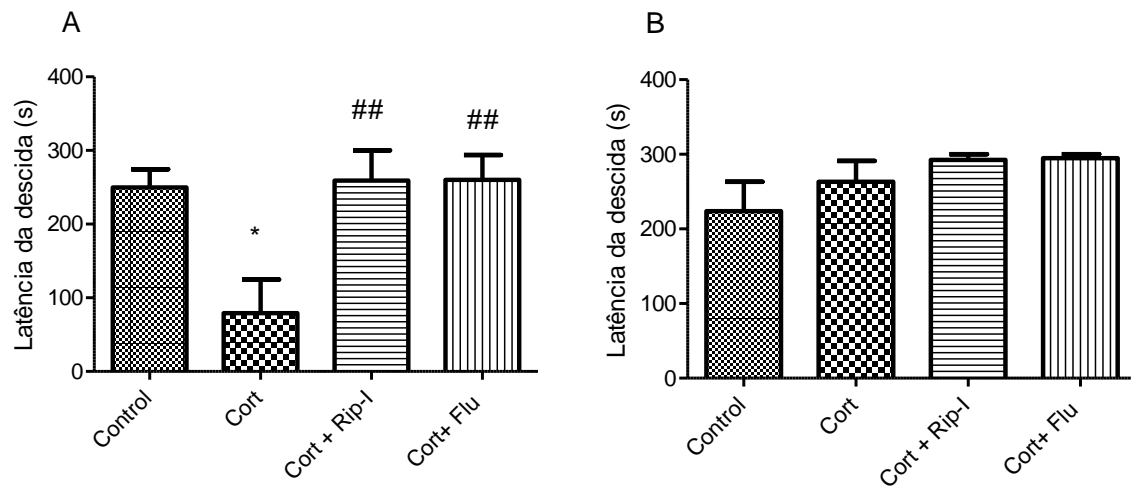
Tabela 3. Efeito das administrações de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina no teste do plus maze em camundongos.

Teste plus maze				
Groups	NEBA	PEBA	TPBA	PTBA
Controle	6,063 ± 0,5949	38,99 ± 2,143	55,33 ± 5,471	33,04 ± 1,986
Cort	5,063 ± 0,4697	28,94 ± 1,934 ^{**}	34,58 ± 3,630 ^{**}	22,61 ± 1,749 [*]
Cort + rip I	5,933 ± 0,6053	38,13 ± 1,786 ^{##}	60,50 ± 6,193 ^{##}	32,36 ± 3,487 [#]
Cort + flu	6,357 ± 0,7603	37,63 ± 2,054 ^{##}	59,93 ± 4,685 ^{##}	31,84 ± 1,852 [#]

*p < 0.05 e **p < 0.01 versus grupo controle e #p < 0.05 and ##p < 0.01 versus grupo corticosterona de acordo com o one-way ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls' post hoc test.

O estresse induzido por corticosteona prejudica a consolidação da memória recente de camundongos estressados em relação aos animais do grupo controle, conforme constatado pela redução do tempo de latência para descida. No entanto, o tratamento com riparina-I (50 mg/kg) ou fluvoxamina (50 mg/kg) reverteu o efeito da corticosterona sobre a latência de descida (Controle: 85,36 ± 5,453 ; cort: 63,82 ± 4,391, p< 0.05; cort + rip I: 68,48 ± 6,580, p < 0,01; cort + flu: 84,62 ± 4,081, p<0,01) (**Gráfico 5A**). Com relação à memória de longa duração, essa parece ter sido preservada em todos os grupos. (Control: 223,8± 39,34; cort: 263,2± 27,86; cort + rip I: 292,4 ± 7,625,; cort + flu: 294,7± 5,286) (**Gráfico 5B**).

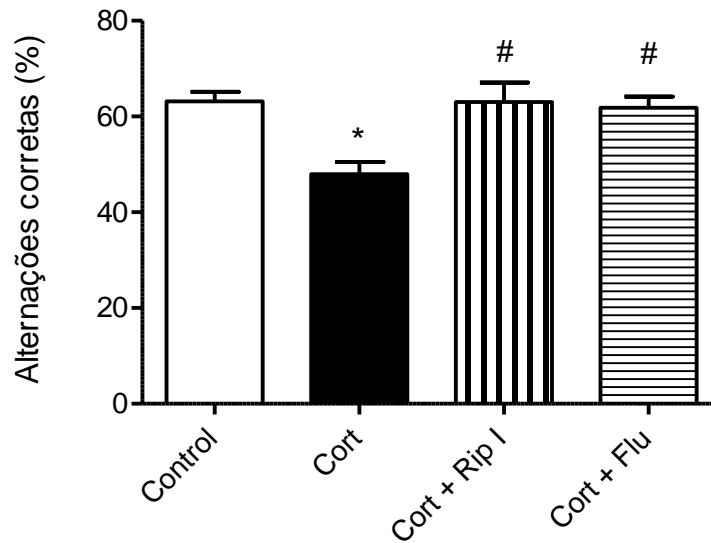
Gráfico 5. Efeito da administração da riparina-I (50 mg / kg) ou da fluvoxamina (50 mg / kg) sobre as memórias recente (A) e tardia (B) no Teste da Esquiva Passiva em camundongos.



As barras representam a média \pm erro padrão da média da latência de descida ($n = 8-10$ animais/grupo). * $p < 0,05$ versus o grupo controle, ## $p < 0,001$ versus grupo corticosterona, de acordo com one-way ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls' post hoc test.

Na avaliação da performance da memória de trabalho (**Gráfico 6**), os animais tratados com corticosterona exibiram uma redução estatisticamente significativa na porcentagem de alterações corretas no teste do Y-maze, comparados aos animais tratados com veículo. Por outro lado, a administração de riparina I (50 mg/kg) e fluvoxamina (50 mg/kg) reverteram significativamente as alterações causadas pelas administrações de corticosterona (Control: $63,19 \pm 1,971$; cort: $47,99 \pm 2,488$, $p < 0,05$; cort + rip I: $63,01 \pm 4,079$, $p < 0,05$; cort + flu: $61,84 \pm 2,295$, $p < 0,05$).

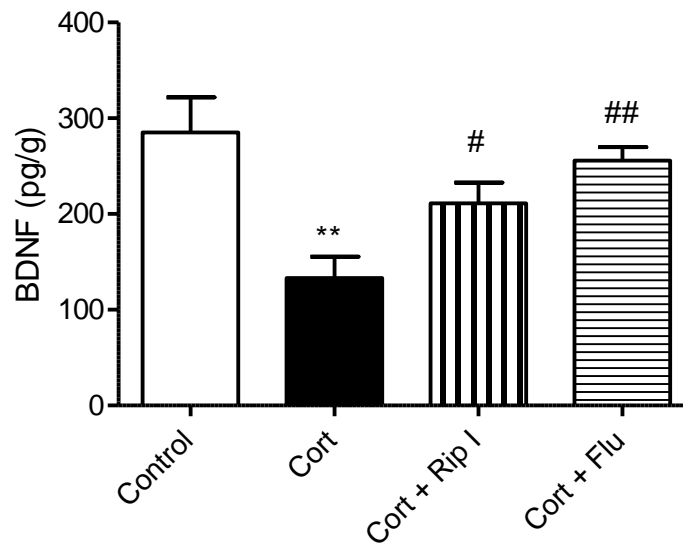
Gráfico 6. Efeito da administração de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina no teste do Y-maze em camundongos.



As barras representam a média \pm erro padrão da média do parâmetro analisado (n =8-10 animais/grupo).^ap < 0,05 versus grupo controle e [#]p < 0,05 versus grupo corticosterona de acordo com o one-way ANOVA test seguido por Student-Newman-Keuls' post hoc test.

Acerca do impacto das substâncias estudadas sobre os níveis de BDNF hipocampais, foi encontrado que a administração de corticosterona reduziu significativamente os níveis de BDNF, mas as administrações de riparian I ou de fluvoxamina aumentaram esse parâmetro em relação ao grupo estressado (Control: $285,3 \pm 36,56$; cort: $133,3 \pm 22,22$, $p < 0,01$; cort + rip I: $211,3 \pm 21,57$, $p < 0,05$; cort + flu: $255,7 \pm 13,99$, $p < 0,01$) (**Gráfico 7**).

Gráfico 7. Efeito da administração de corticosterona, riparina-I ou fluvoxamina sobre os níveis de BDNF no hipocampo de camundongos.



As barras representam a média \pm erro padrão da média do parâmetro analisado (n=8-10 animais/grupo).^{aa}p < 0,01 versus grupo controle; #p < 0,05 e ##p < 0,05 *versus* o grupo corticosterona de acordo com o one-way ANOVA test seguido por Student-Newman-Keuls' post hoc test.

A **Tabela 4** apresenta os resultados da avaliação de parâmetros do estresse oxidativo em três áreas cerebrais: córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de animais submetidos ao protocolo de reversão. A administração de corticosterona aumentou significativamente os níveis de SOD em 14, 43% no hipocampo em relação ao grupo controle (p<0,05). Por outro lado, o tratamento com fluvoxamina (50 mg/kg) reduziu significativamente os níveis de SOD no hipocampo em 20,64% (p<0.01) em relação ao grupo corticosterona.

Tabela 4. Parâmetros do Estresse Oxidativo e níveis de nitrito em áreas cerebrais de animais submetidos ao tratamento de reversão reversal.

Cortex Pré-frontal				
Grupos	SOD (U/μg de proteína)	Glutationa reduzida (ng/g de tecido)	Malondialdeído (μmol/g de tecido)	Nitrito (μmol/mg de proteína)
Control	1,999 ± 0,02109	731,7 ± 89,75	23,98± 8,610	2,372 ± 0,3645
Cort	1,828 ± 0,09643	519,8 ± 13,26	55.32± 9.042 [*]	5,315 ± 0,9785 ^{**}
Cort + rip I	1,900 ± 0,07502	521,0 ± 14,62	29,95± 4,995	2,075 ± 0,2329 ^{##}
Cort + flu	1,991 ±0,005434	596,3 ± 96,43	23,14± 7,326 [#]	3,219 ± 0,6584 [#]
Hipocampo				
Grupos	SOD (U/μg de proteína)	Glutationa reduzida (ng/g de tecido)	Malondialdeído (μmol/g de tecido)	Nitrito (μmol/mg de proteína)
Control	1,676 ± 0,07647	1154 ± 113,9	11,86 ± 1,697	1,693 ± 0,1542
Cort	1,918 ± 0,03297 [*]	576,8 ± 35,31 ^{**}	24,11 ± 2,304 ^{***}	3,603 ± 0,6953 [*]
Cort + rip I	1,734 ± 0,03005	1032 ± 153,7 [#]	9,780 ± 1,373 ^{###}	2,487 ± 0,5868
Cort + flu	1,522 ± 0,1097 ^{##}	980,0 ± 119,9 [#]	18,20 ± 1,547 [#]	1,548 ± 0,1390 [#]
Corpo estriado				
Grupos	SOD (U/μg de proteína)	Glutationa reduzida (ng/g de tecido)	Malondialdeído (μmol/g de tecido)	Nitrito (μmol/mg de proteína)
Control	1,974±0,03746	1248 ± 116,3	10,27 ± 1,330	3,164 ± 0,5330
Cort	1,895±0,05816	642,3 ± 21,28 ^{***}	17,93 ± 2,708 ^{**}	8,244 ± 1,969 ^{***}
Cort + rip I	1,852 0,1493	848,4 ± 70,83	4,548 ± 1,195 ^{###}	3,385 ± 0,5333 ^{###}
Cort + flu	1,991±0,005434	879,3 ± 84,36	6,751 ± 1,227 ^{###}	1,301 ± 0,09959 ^{###}

Continuação da Tabela 4

Legenda

Os resultados estão expressos como a média \pm erro padrão da média do parâmetro analisado e estão analisados pelo one way ANOVA test e Student-Newman-Keuls' post hoc test, (n =8-10 animals/group). *p < 0,05, **p < 0,01 e ***p < 0,001 versus grupo veículo e #p < 0,05, ##p < 0,01 e ###p < 0,001 versus grupo corticosterona.

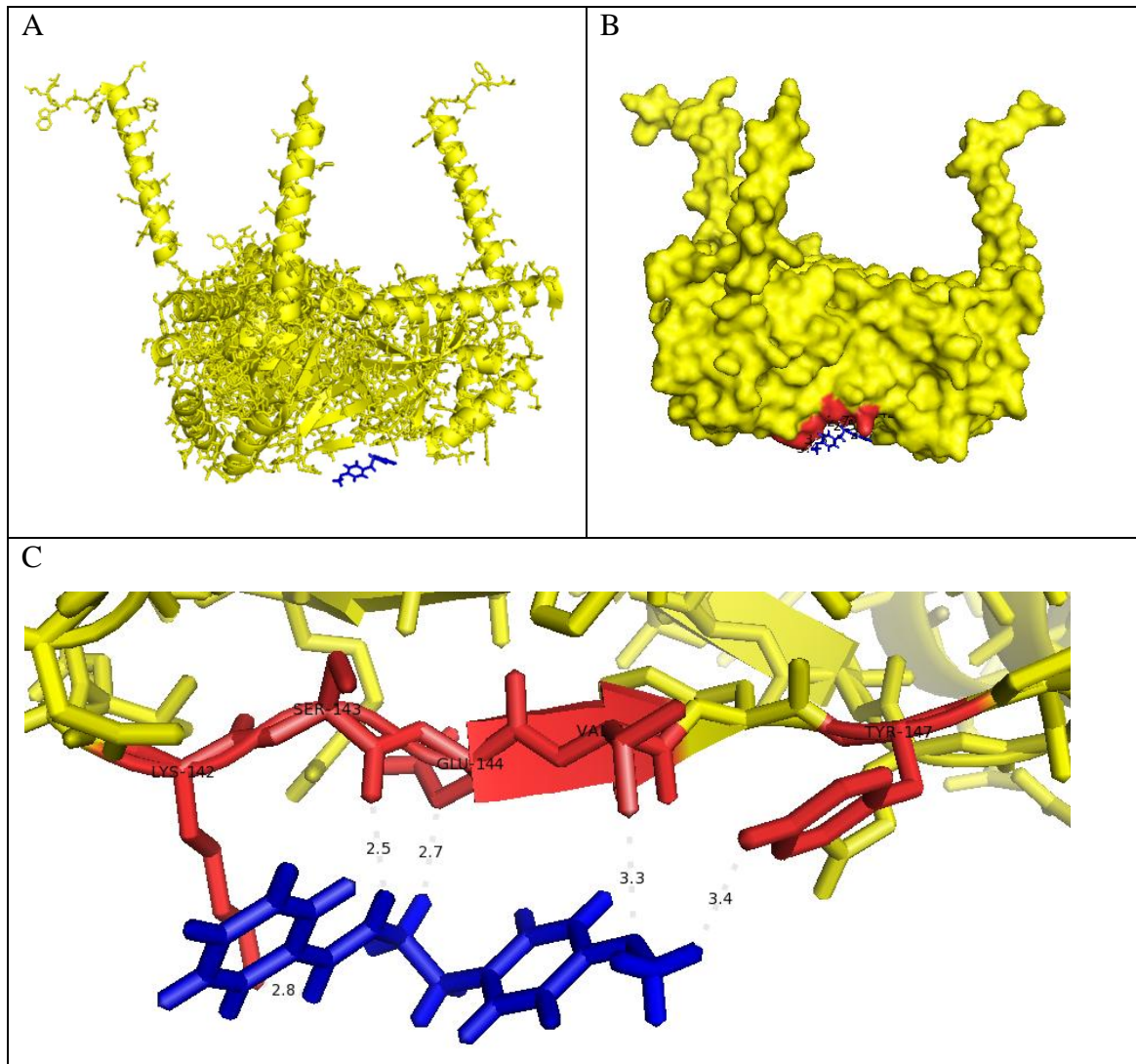
As injeções de corticosterona diminuíram significativamente os níveis de glutathiona reduzida em 50,01% (p<0,01) e 48,53% (p<0,001) no hipocampo e no estriado, respectivamente, em relação ao grupo controle. A administração de riparina-I (50mg/Kg) ou fluvoxamina (50mg/Kg) reverteu significativamente esse parâmetro e aumentou os níveis de glutathiona reduzida no hipocampo dos animais expeimentais em relação ao grupo corticosterona em 44,10% (p<0,05) e 41,14% (p<0,05), respectivamente.

A administração de corticosterona aumentou significativamente os níveis de malondialdeído em 50,80% (p<0,001) and 42,72% (p<0,01) no hipocampo e corpo estriado, respectivamente, em relação ao grupo controle. A administração de riparina-I (50mg/Kg) and fluvoxamina (50mg/Kg) reduziram significativamente os níveis de malondialdeíde no hipocampo em 59,43% (p<0,001) e 24,51% (p<0,05), respectivamente, e corpo estriado em 74,67% (p<0,001) e 62,34% (p<0,001), respectivamente, em relação ao grupo corticosterona.

As injeções de corticosterona diminuíram significativamente os níveis de Nitrito/Nitrato em 44,51% (p<0,01) and 38,27% (p<0,001) no córtex pré-frontal e corpo estriado, respectivamente, em relação ao grupo controle. A administração de riparina I (50mg/Kg) e fluvoxamina (50mg/Kg) reduziram de forma estatísticamente significante os níveis de Nitrito/Nitrato no córtex pré-frontal em 60,95% (p<0,01) e 39,43% (p<0,05), respectivamente, e no corpo estriado em 58,93% (p<0,001) e 84,21% (p <0,001), respectivamente, comparado ao grupo corticosterona.

A interação entre o receptor sigma-1 e o ligante rip-I apresentou um valor de energia no sistema com E-value = - 5,9 Kcal.mol⁻¹, mostrando que essa ligação pode favorecer a interação entre o receptor e o ligante. Desse modo, é provável que a rip-I desencadeie algum efeito farmacológico quando ligada a proteína sigma-1 nos aminoácidos LYS¹⁴², VAL¹⁴⁵, TYR¹⁴⁷, SER¹⁴³, GLU¹⁴⁴ (**Figura 15**).

Figura 15. Local de interação entre a riparina-I e o receptor sigma-1. (A) Visão geral da estrutura do receptor sigma-1. (B) Núvem eletrostática e a indicação do sítio de ligação do ligante ao receptor. (C) Aminoácidos do receptor envolvidos na ligação.



6 DISCUSSÃO

A medicina popular, baseada no uso de plantas, desfruta de uma posição respeitável, especialmente nos países em desenvolvimento, onde a disponibilidade de serviços de saúde modernos é limitada. Conforme Silva (2010) e Calixto (2003), considerável porcentagem da população utiliza plantas medicinais nos cuidados primários de saúde, o que torna perceptível o acentuado interesse na incorporação do uso destas plantas pela medicina

convencional, bem como, instiga a investigação do potencial terapêutico de extratos e produtos naturais isolados a partir de plantas.

A riparina I é uma substância de origem vegetal que tem gerado resultados pré-clínicos promissores, justificando nossa série de testes. Ressaltando que a razão maior para a realização deste trabalho é a escassez/limitação de fármacos que tratam a depressão resistente e comorbidades associadas à depressão, como ansiedade e dificuldades cognitivas (consolidação da memória, por exemplo). Por isso a escolha do modelo animal em questão, tido como um modelo de depressão resistente ao tratamento (AGO *et al.*, 2013).

No presente estudo a riparina I foi testada em camundongos submetidos ao modelo de depressão crônica induzida por corticosterona. Esse modelo animal simula a etiologia presumida do transtorno depressivo, que relaciona o estresse humano e, por conseguinte, os elevados níveis plasmáticos do hormônio do estresse, o cortisol, à patogênese da depressão. O cortisol está ligado à sintomatologia depressiva por observações de que os pacientes com níveis elevados de glicocorticóides desenvolvem sintomas psiquiátricos e cognitivos consistentes com os observados na depressão maior (CHECKLEY, 1996; JURUENA *et al.*, 2003).

A administração repetida de corticosterona induz modificações comportamentais, neuroquímicas e anatômicas no cérebro, que podem ser indicativas de ou consistentes a um fenótipo tipo depressivo. Até o presente momento, foram relatadas uma série de semelhanças entre as características da depressão em seres humanos e alterações induzidas pela administração crônica de glicocorticóides em animais de laboratório, tais como: redução do volume do hipocampo, amígdala e córtex pré-frontal (DREVETS, 2000; 2001; JARACZ, 2008, GEERLINGS *et al.*, 2013); comprometimento da função mitocondrial, aumento do estresse oxidativo, redução dos níveis de BDNF (LIU e ZHOU 2012, KAREGE *et al.*, 2005), hiperatividade de receptores de N-metil-D-aspartato (NMDAR) hipocampais e indícios de excitotoxicidade (TSE *et al.*, 2012; DUMAN, 2014) e comportamento tipo anedônico e tipo ansioso, por exemplo (DAVID *et al.*, 2009; GOURLEY *et al.*, 2008).

A exposição crônica à corticosterona faz surgir um comportamento tipo depressivo e tempo dependente, detectados logo no 14º e 21º dias de administração do hormônio, por meio do teste do nado forçado, conforme identificado também em outros estudos (VASCONCELOS *et al.*, 2015, LOPES, 2017, ZAHO *et al.* 2008, SILVA *et al.*, 2013). O aumento significativo do tempo de imobilidade dos grupos estressados em relação ao grupo controle, já no 14º dia, sinaliza o momento para que sejam iniciados os tratamentos

de reversão, conforme visto também naqueles estudos (VASCONCELOS, 2015, LOPES, 2017, ZAHO et al. 2008, SILVA *et al.*, 2013).

As alterações comportamentais de animais submetidos à administração crônica de corticosterona podem ser revertidas pela administração repetida de antidepressivos convencionais, tais como fluvoxamina, fluoxetina e desvenlafaxina, e constatadas por meio de testes comportamentais (MURRAY et al., 2008; RAINER et al., 2012; VASCONCELOS et al., 2015, SILVA *et al.*, 2013). Os testes nado forçado, suspensão da cauda (CRYAN *et al.*, 2002; ZHAO *et al.*, 2008), preferência pela solução de sacarose (VASCONCELOS *et al.*, 2015; LOPES, 2017) e interação social (VASCONCELOS *et al.*, 2015; LOPES, 2017) são utilizados para o rastreio de substâncias com potencial antidepressivo.

Em nossos experimentos, as injeções de corticosterona nos animais do grupo cort resultaram em maior tempo de imobilidade nos testes nado forçado e suspensão da cauda, menor porcentagem de consumo de sacarose e menor porcentagem de interação social em comparação ao grupo controle. Esses achados são consistentes a comportamentos do tipo depressivo, também demonstrado nos estudos de Zhao *e col.* (2008); Vasconcelos *e col.* (2015), Silva *e col.* (2013). A administração de rip-I ou de fluvoxamina reverteu os efeitos desencadeados pela corticosterona sobre o tempo de imobilidade nos testes do nado forçado e suspensão da cauda, o que é preditivo de efeito do tipo antidepressivo (PORSOLT *et al.*, 1977; VASCONCELOS *et al.*, 2015). Esses achados referentes a rip-I estão em consonância com dados da literatura que sustentam o seu efeito antidepressivo em modelo de depressão agudo (SOUSA *et al.*, 2014).

No teste de preferência à solução de sacarose, a administração de fluvoxamina reverteu o efeito mediado pela cort sobre o consumo de sacarose, corroborando com Vasconcelos *e col.* (2015), mas a administração da rip-I, não produziu o mesmo efeito. A diminuição da preferência a uma solução adocicada (em relação à água) é indicativa de um estado tipo anedônico em roedores. Em humanos, a anedonia, ou perda de interesse ou prazer em todas ou quase todas as atividades, é um sintoma proeminente de muitos transtornos neuropsiquiátricos, mais notavelmente a DDM e a esquizofrenia, que está relacionado à menor atividade do córtex orbitofrontal e estriado ventral (nucleus accumbens (DER-AVAKIAN e MARKOU, 2012).

Tradicionalmente, a anedonia no paciente depressivo é diagnosticada a partir da avaliação de instrumentos baseados na fala do paciente. Nessas avaliações, os indivíduos respondem a perguntas como "Eu gostaria de estar com minha família ou amigos íntimos?" [Snaith-Hamilton Pleasure Scale (SHAPS)]. O análogo pré-clínico para escalas de anedonia é

o teste da preferência à solução adocicada (DER-AVAKIAN e MARKOU, 2012). Em particular, os receptores mu opióides e endocanabinoides no núcleo accumbens (NAc) e no pallidum ventral medeiam a percepção hedônica das recompensas, de modo que a ativação desses receptores aumenta a resposta afetiva para recompensas altamente palatáveis, como a sacarose (KELLEY 2002; BERRIDGE e KRINGELBACH, 2008).

A clínica carece de uma abordagem farmacológica definitiva e específica para o tratamento da anedonia na depressão até agora, e mesmo que seja claro que os antidepressivos tratam os sintomas depressivos como um todo, a anedonia continua a ser um sintoma difícil de tratar. Os fármacos de primeira linha nem sempre são suficientes para corrigir esse sintoma depressivo (GIANNANTONIO e MARTINOTTI, 2009; FRANCO-CHAVES *et al.*, 2013; MCCABE *et al.*, 2009).

No entanto, no modelo animal do estudo, a fluvoxamina foi efetiva, corroborando com Vasconcelos e col. (2015), fato que pode redirecionar a prescrição clínica da fluvoxamina para o tratamento da anedonia persistente; e a administração da rip-III, análogo estrutural da rip-I, foi eficaz na reversão do efeito mediado pela cort sobre o consumo de sacarose, em camundongos submetidos ao modelo de depressão induzida por cort. (Vasconcelos *et al.*, 2015)

A análise dos dados experimentais também mostrou que o tratamento com fluvoxamina aumentou a porcentagem de interação social em relação ao grupo cort, diferentemente da administração da rip-I. No estudo de Vasconcelos *e col.* (2015), SILVA *e col.* (2013) as injeções de cort reduziram o percentual de interação social e as administrações de fluvoxamina ou de rip-III também revertem esse efeito.

As pessoas deprimidas muitas vezes falham em satisfazer sua necessidade de se relacionar, com consequências potencialmente graves (STEGER, KASHDAN *et al.*, 2009). O comportamento social disfuncional, implicado na depressão, pode estar associado à anedonia social. Indivíduos com alta anedonia social têm alterações na sua habilidade social e em suas reações experienciais auto-relatadas durante uma interação social. Os resultados estão longe de ser conclusivos, mas um circuito que liga o hipotálamo anterior à área tegumentar ventral e ao núcleo accumbens pode ser especialmente importante para mediar as propriedades gratificantes da interação social (LLERENA *et al.*, 2012).

A presença simultânea de uma desordem depressiva e de sintomas de ansiedade proeminentes ou de um transtorno de ansiedade é comum na prática clínica. Estudos demonstraram que mais de 70% dos indivíduos com transtornos depressivos também apresentam sintomas de ansiedade e 40 a 70% cumprem simultaneamente critérios para pelo

menos um tipo de transtorno de ansiedade (FAVA *et al.*, 2008; WU e CHENG, 2013). A presença concomitante de sintomas ansiosos ou transtornos de ansiedade muitas vezes complica o tratamento de distúrbios depressivos. Esses indivíduos são mais disfuncionais e incapacitados do que indivíduos com depressão na ausência de sintomas de ansiedade, e eles são mais propensos a serem resistentes ao tratamento padrão com medicamentos antidepressivos (WU; FANG, 2014)

Os transtornos de ansiedade precisam ser tratados com novos fármacos. Substâncias que sejam eficazes, mas desprovidos de efeito sedativo. As desvantagens bem conhecidas dos benzodiazepínicos, antidepressivos tricíclicos e neurolépticos tornaram os inibidores seletivos da recaptção de serotonina, com seu perfil de eventos adversos relativamente benignos, o tratamento de primeira linha para muitos transtornos de ansiedade. Entre os Inibidores Seletivos da recaptção de Serotonina (ISRSs), a fluvoxamina foi particularmente bem estudada e foi a primeira a ser aprovada no TOC. Importante, a fluvoxamina também foi estudada em crianças e adolescentes, uma vez que alguns transtornos de ansiedade (Transtorno Obsessivo Compulsivo (TOC) e Disordem da Ansiedade Social (DAS), em particular) têm seu início na infância. Em geral, a fluvoxamina é uma importante terapia de primeira linha no tratamento do TOC, DAS e transtorno de pânico. (IRONS, 2005).

A fluvoxamina, parece ter um efeito anti-ansiedade da mesma magnitude que o efeito sobre a depressão (RAUSCH *et al.*, 2001). Seu perfil de tolerabilidade é melhor do que os tratamentos tradicionais e pode oferecer algumas vantagens em relação a outros ISRSs. A fluvoxamina é livre de sedação e dificuldades cognitivas e psicomotoras, mas ainda é associada a disfunção sexual (embora a incidência seja baixa) e náuseas, astenia, dor de cabeça, boca seca e dor abdominal (IRONS, 2005).

Para o rastreio de substâncias com potencial efeito ansiolítico, o teste do plus maze é frequentemente utilizado. São consideradas ansiolíticas as substâncias que aumentam a exploração dos braços abertos e, o inverso é verdadeiro para substâncias ansiogênicas (OLIVEIRA, 2012; MELO, 2006). No presente estudo, as injeções de cort induziram um efeito tipo ansioso, conforme observado também nos estudos de Vasconcelos *e col.* (2015), SILVA *e col.* (2013). Além disso, os efeitos da administração de fluvoxamina sobre os parâmetros do teste plus maze em animais no presente trabalho, confirmam o efeito ansiolítico da fluvoxamina observado em pacientes; Do mesmo modo, os efeitos de riparina I nos parâmetros dos testes de plus maze corroboram com dados da literatura que sugerem ações tipo ansiolíticas da substância no modelo de estresse agudo. Sousa *e col.* (2014), também demonstraram no modelo de plus maze (tratamento agudo) que o potencial efeito

ansiolítico da rip-I é desprovido de efeito sedativo ou relaxante muscular em relação ao diazepam. Portanto, essa substância teste tem menos efeitos indesejáveis que os benzodiazepínicos clássicos.

Os resultados obtidos no teste do campo aberto, acerca do número de travessias, afastam o viés motor dos achados comportamentais dos demais testes. Ainda com relação aos resultados do teste do campo aberto, o maior número de *rearing*, verificado no grupo corticosterona em relação ao controle, indica o desenvolvimento de um comportamento estereotipado (tipo psicótico) naqueles animais estressados (WÜRBEL *et al.*, 1996).

Outro comportamento tipo psicótico também foi evidenciado no teste de inibição pré-pulso. Neste teste, verificou-se que o grupo corticosterona apresentou maior percentual de inibição pré-pulso em relação ao grupo controle, como foi observado na relação entre quetamina (droga psicótico) e controle (MONTE *et al.*, 2013; VASCONCELOS *et al.*, 2015). A reversão daqueles dois parâmetros (*rearing* e inibição pré-pulso) pela administração de rip-I ou fluvoxamina sugere um efeito do tipo antipsicótico para a primeira substância e confirma o efeito antipsicótico da segunda.

Recentemente, o modelo de depressão induzido por corticosterona foi proposto como um modelo animal de DMP (IIJIMA *et al.*, 2010; VASCONCELOS *et al.*, 2015). De fato, a literatura relacionada demonstra que os glicocorticóides podem alterar o funcionamento neuronal e aumentar a atividade de sistemas e circuitos de neurotransmissores implicados na fisiopatologia da psicose (VAN WINKEL *et al.*, 2008; IIJIMA *et al.*, 2010).

Por exemplo, níveis plasmáticos aumentados de glicocorticóide foram associados a níveis aumentados de dopamina, um neurotransmissor que dominou a teoria da fisiopatologia da psicose por décadas (SEEMAN, 2008). Isso justifica, pelo menos em parte, porque pacientes depressivos com sintomas psicóticos apresentam hipercortisolemia mais acentuada do que depressivos não psicóticos.

Em estudo pré-clínico, ratos que receberam doses elevadas de corticosterona durante cinco dias tiveram um aumento de 210% nos receptores D2High, receptores relacionados à sintomas psicóticos (SEEMAN, 2008). Outros receptores disfuncionais relacionados à elevação do hormônio do estresse incluem N-metil-d-aspartato (NDMA) e 5HT2A (VAN WINKEL *et al.*, 2008; IIJIMA *et al.*, 2010) e receptor sigma-1 (HAYASHI, 2015).

A resposta celular ao estresse, mediada pelo receptor sigma-1 e por outras chaperonas, tende a ser superada durante o estresse psicológico crônico ou excessivo, e está relacionada à menor densidade de receptores sigma-1, já comprovada em pacientes

psiquiátricos (OMI *et al.*, 2014; FUKUNAGA; MORIGUCHI , 2017). A quantidade de receptores sigma-1 parece realmente afetar a resposta celular ao estresse e a longevidade celular, é o que demonstra o estudo de Sabino e col. 2009. Nesse trabalho, camundongos *knockout* para receptor sigma-1 exibiram um comportamento tipo depressivo associado a menor neurogênese hipocampal. Por outro lado, Fukunaga e Moriguchi (2017) demonstraram em camundongos estressados que a estimulação de receptores sigma-1 reverte o comportamento depressivo de camundongos e influencia a neurogênese.

O efeito antidepressivo da riparina-I pode ser mediado, pelo menos em parte, pela provável interação da substância com o receptor sigma-1. Conforme demonstrado pela análise da interação molecular (Docking Molecular), o sítio mais provável de ligação é justamente o sítio ligando-ligante, conhecido como Beta-barrel, que compreende os resíduos 81 – 176. A participação desse efeito precisa ser confirmada *in vivo*, com o uso de antagonista farmacológico do receptor sigma-1, como o BD1047, conforme utilizado no estudo de Urani e col. (2004).

O resultado sobre a potencial interação entre rip-I e receptor sigma-1, amplia o conhecimento sobre o mecanismo de ação da rip-I. Em 2014, Sousa e col. demonstraram que os efeitos tipo antidepressivo provocado pela riparina-I e demonstrados no teste do nado forçada, no modelo de depressão aguda, estaria relacionado, pelo menos em parte, com a interação da substância com os receptores serotoninérgico 5-HT_{2A/2C}, dopaminérgico D₁, D₂ e noradrenérgico α_1 e α_2 .

Alguns trabalhos têm demonstrado os resultados promissores dos ligantes de receptores Sigma-1. Os estudos sugerem que os ligantes sigma-1 podem ter um início de ação mais rápido do que os antidepressivos clássicos. (Bermack e Debonnel, 2001, 2005, 2007; Bermack *et al.*, 2004; Robichaud *et al.*, 2004), podem ser eficazes no tratamento da DMP (FURUSE; HASHIOMOTO, 2009; SHIRAYAMA; HASHIOMOTO, 2010), podem influenciar a mielinização, a potenciação a longo prazo e a neuroproteção em estudos *in vitro* e em modelos animais de doenças neuropsiquiátricas, tais como depressão, isquemia, doença de Alzheimer (HAYASHI *et al.*, 2011; OMI *et al.*, 2014; TSAI *et al.*, 2009; HAYASHI; SU., 2004a; MAURICE *et al.*, 1997; MITSUDA *et al.*, 2011; TUERXUN *et al.*, 2010), podem aumentar a liberação de noradrenalina e de serotonina no córtex pré-frontal de maneira semelhante aos antidepressivos clássicos (COOKE *et al.*, 1998) e podem melhorar as funções cerebrais, como aprendizado e memória, cognição e humor (HAYASHI; SU., 2004; FURUSE; HASHIOMOTO, 2009; SHIRAYAMA; HASHIOMOTO, 2010).

Os fármacos ligantes de sigma-1 fluvoxamina, sertralina, fluoxetina citalopram e paroxetina já têm seu efeito antidepressivo consolidado na clínica. Dentre os antidepressivos citados, a fluvoxamina é o de maior afinidade ao receptor sigma-1 e o que desencadeia a maior razão de resposta (78,6%) dentre os ISRSs usados na monoterapia da DPM (STAHL, 2010), doença marcada pela hipercortisolemia e resistência ao tratamento farmacológico (KROESSLER, 1995; ZANARDI, 1996; GATTI, 1996; ZANARDI, 1998).

Em condições em que ocorre o aumento sustentado de glicocorticóide endógeno ou exógeno (depressão e doença de Cushing respectivamente), há também um grau significativo de comprometimento cognitivo (WOLKOWITZ et al., 1990). Estudos em animais experimentais mostraram déficits em aprendizagem e memória após administração crônica de glicocorticóides (LUPIEN E MCEWEN, 1997, WALESIUK *et al.*, 2006; SOUSA, 2015), bem como a atrofia de neurônios hipocámpis. Foi postulado que um efeito neurodegenerativo semelhante do cortisol pode estar subjacente em alguns dos déficits cognitivos observados em pacientes com distúrbios de humor severos (SAPOLSKY et al., 1986).

Indivíduos com depressão maior psicótica, hipercortisolêmicos em geral, apresentam maiores déficits cognitivos na memória verbal, atenção e funcionamento executivo em comparação a indivíduos com depressão maior não-psicótica (FLEMING *et al.*, 2004; GOMEZ *et al.*, 2006). Além disso, um estudo de imagem cerebral funcional demonstrou redes aberrantes de memória de trabalho na depressão maior psicótica em comparação com a depressão maior não-psicótica e grupos de controle saudáveis (GARRETT *et al.*, 2011).

Os circuitos neurais da função cognitiva se sobrepõem com os implicados na DDM. Por exemplo, as disfunções nos sistemas de monoaminas, especialmente os sistemas de catecolaminas, parecem desembocar em déficits de atenção e função executiva. A anormalidade volumétrica mais comum em paciente com DDM é a redução bilateral do hipocampo, que é uma consequência da perda neuronal, diminuição da densidade dendrítica e redução do tamanho do corpo celular neuronal.

A hipoatividade do córtex pré-frontal e a hiperatividade do córtex cingulado anterior parece resultar em uma desconexão funcional entre estruturas corticais e subcorticais. Essas modificações podem mediar déficits nas medidas de função executiva, atenção, aprendizado e memória, bem como na velocidade do processamento de informações. (DREVETS *et al.*, 2008; STAHL *et al.*, 2003; MALYKHIN *et al.*, 2010; ZENG *et al.*, 2010).

Além disso, estudos eletrofisiológicos, *in vitro e in vivo*, indicam que o estresse e glicocorticóides, à nível de hipocampo, causa ativação anormal de receptores de glicocorticóides e, assim, prejudicam a potencialização a longo prazo (LTP), um mecanismo mnemônico sináptico putativo no cérebro de mamífero. Em decorrência disso, as funções hipocampais, aprendizagem e memória, são alteradas. A exposição à altos níveis de glicocorticóides durante o estresse crônico também pode tornar o hipocampo vulnerável à excitotoxicidade induzida pela hiperfunção de receptores NMDA. Por exemplo, em roedores três semanas de contensão diária aumenta os níveis séricos de corticosterona e também a densidade sináptica de receptores NMDA no hipocampo, o que pode afetar a consolidação da memória animal (TSE *et al.*, 2012).

A lesão do hipocampo dorsal prejudica a aprendizagem espacial e a memória. No entanto, danos ao hipocampo ventral, que se conecta com o estriado e a amígdala, alteram o desempenho em testes comportamentais relacionados ao medo e à ansiedade. Embora a aprendizagem espacial possa ser suprimida pelo estresse, o estresse tipicamente aumenta os comportamentos relacionados ao medo e à ansiedade (TSE *et al.*, 2012).

A escassez de tratamentos satisfatórios para os déficits cognitivos que usualmente acompanham os estados psiquiátricos representa um desafio constante para a pesquisa em psicofarmacologia (MCINTYRE *et al.*, 2013, HINDMARCH e HASHIMOTO, 2010). Relativamente poucos estudos analisaram os efeitos de antidepressivos convencionais sobre o desempenho cognitivo em pacientes adultos jovens com DDM. Os inibidores seletivos da recaptação de serotonina (fluvoxamina, escitalopram, vortioxetina, fluoxetina), inibidores seletivos de serotonina e de norepinefrina (duloxetina), moduladores da dopamina (bupropiona) e inibidores noradrenérgicos (reboxetina) parecem melhorar o desempenho cognitivo em adultos com DDM (MCINTYRE *et al.*, 2013, HINDMARCH e HASHIMOTO, 2010). Além disso, Zamir e colaboradores (2016) demonstraram que a fluvoxamina restaura alguns aspectos das habilidades cognitivas em pacientes com esquizofrenia.

O labirinto em Y foi o teste usado para avaliar o comprometimento da memória operacional ou de trabalho. O modelo de memória operacional baseia-se na tendência dos animais de explorar ambientes novos. Neste tipo de teste, influências como componente emocional ou motivação são minimizadas, ocorrendo uma dissociação entre aprendizagem e memória visto que não é necessário aprender nenhuma regra (DELLU *et al.*, 1994). O hipocampo e o córtex pré-frontal estão envolvidos neste tipo de memória. O córtex pré-frontal anatomicamente está conectado ao hipocampo ventral e indiretamente ao hipocampo dorsal através do tálamo (YOO *et al.*, 2008). A exploração de um ambiente novo pelos animais

depende da integridade de sistemas límbicos e não límbicos como prosencéfalo basal, o hipocampo, o tálamo, o córtex pré-frontal, o corpo estriado dorsal, além do sistema vestibular e cerebelo (LALOND, 2002).

No estudo atual a administração de cort causou déficits na memória operacional no teste de labirinto em Y, similar aos resultados obtidos por Sousa e col. (2015). Por outro lado a administração repetida de fluvoxamina quanto a de rip-I normalizaram o déficit na memória operacional induzida pela cort, sugerindo um importante efeito destas substâncias na cognição (memória operacional).

O teste da esquiiva passiva foi utilizado para se avaliar déficits de memória aversiva (DEVRIES, 2001). A esquiiva passiva do tipo “step-down”, que quer dizer “descer um degrau”, é baseada no comportamento natural que os roedores têm de explorar além da plataforma, mas também de evitar o choque produzido pela grade, o que pode ser chamado de memória aversiva (IZQUIERDO e MEDINA, 1997). Neste trabalho, os animais que receberam injeções de cort apresentaram um déficit de memória aversiva em relação aos animais do grupo controle, corroborando com Nazaria e col. (2016) que demonstraram que as injeções repetidas de cort induzem o déficit de memória aversiva avaliado através do teste de esquiiva passiva. No estudo atual tanto a administração repetida de fluvoxamina quanto a de rip-I normalizaram o déficit de memória aversiva induzida pela cort. A restauração desse tipo de memória está associada à elevação dos níveis de BDNF hipocampais e a neurogênese hipocampal e (MOON *et al.*, 2016; VASCONCELOS *et al.*, 2015 e SOUSA *et al.*, 2015).

Durante as últimas décadas, o estresse oxidativo tem sido implicado na patogênese de vários distúrbios neurodegenerativos e neuropsiquiátricos incluindo a depressão (LOMBARD, 2010, MELO, 2012, LOPES, 2007). Portanto, substâncias antioxidantes podem apresentar propriedades antidepressivas (EREN *et al.*, 2007; ZAFIR e BANU, 2009). Apoiados nessa visão, o presente estudo examinou os efeitos da riparina-I sobre parâmetros do estresse oxidativo. Os principais achados do estudo podem ser resumidos da seguinte forma: i) A administração crônica de cort alterou as defesas antioxidantes como evidenciado pela diminuição dos níveis de GSH (hipocampo e corpo estriado) e aumento da atividade SOD (hipocampo); ii) Causou danos oxidativos no córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos, conforme medida por aumento na peroxidação lipídica; iii) aumentou a produção de nitrito-nitrato no córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado; e iv) o tratamento com riparina I ou fluvoxamina promoveu efeitos benéficos contra alterações induzidas pela administração repetida de cort sobre parâmetros oxidativos no cérebro de camundongos.

No presente estudo os animais tratados com corticosterona apresentaram aumento estatisticamente significativa da atividade da SOD no hipocampo. Um aumento da atividade da SOD em homogeneizados cerebrais totais foi observado em animais expostos a diferentes modelos de estresse, incluindo estresse por imobilização, estresse por frio e estresse induzido por imobilização e frio e, estresse por administração de corticosterona (SAHIN e GÜMÜŞLÜ, 2004; SILVA *et al.*, 2016). Por outro lado, no estudo de Zafir e Banu, 2009 a administração crônica de CORT 20 mg/kg reduziu a atividade da SOD em homogeneizados cerebrais inteiros.

A alta atividade da SOD em animais tratados com corticosterona pode refletir um mecanismo compensatório devido a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS) (LIU E ZHUO, 2012; KOLLA *et al.*, 2005). Este mecanismo é também observado em pacientes deprimidos (BILICI *et al.*, 2001). Outros estudos que avaliaram a atividade sérica de SOD em pacientes com DDM também revelaram o aumento da atividade da enzima (KHANZODE *et al.*, 2003; SANDANDOL *et al.*, 2007). Em nosso estudo com animais, o aumento da atividade SOD induzida pela administração crônica de corticosterona é consistente com a DDM, reforçando, portanto, o valor translacional deste modelo.

A produção excessiva de ROS em pacientes com DDM é resultado da desregulação imune característica deste transtorno (GABBAY *et al.*, 2009). Essa desregulação imune inclui mudanças no tráfico de leucócitos, função linfocitária e marcadores de ativação imune (KRONFOI, 2002). As espécies reativas de oxigênio servem como mensageiros secundários cruciais na transdução de sinal e afetam significativamente vias inflamatórias por ativar o fator nuclear κ B e proteínas quinases. Quando presente em excesso, o ROS afetam os constituintes celulares com a formação de moléculas pró-inflamatórias, como MDA e 4-hidroxinonais padrões moleculares associados ao dano promovendo a resposta imune e, finalmente, levando à morte celular (BAKUNINA *et al.*, 2015).

Aqui, o aumento da atividade da SOD induzida por corticosterona foi revertida pela administração de fluvoxamina, um inibidores seletivos da recaptção da serotonina (ISRS). Em consonância com este resultado, um estudo anterior mostrou que a administração por três meses de ISRS em pacientes com DDM causou uma redução significativa na atividade da SOD plasmática (BILICI *et al.*, 2001).

A SOD catalisa a conversão de radicais superóxidos em peróxido de hidrogênio (H₂O₂). O próximo passo nesta cascata envolve um antioxidante não enzimáticos, o GSH, que como cofator da glutaciona peroxidase irá auxiliar na transformação de H₂O₂ em água. Mas esse processo pode estar dificultado em indivíduos deprimidos. Pacientes deprimidos

apresentam níveis baixos de GSH no sangue, achado que junto com aquele da SOD também indica o perfil pró-oxidante da depressão (GODLEWSKA *et al.*, 2015).

Em animais submetidos a modelos de depressão induzida por corticostona, estresse ou por lipopolisacarídeos (LPS), foi verificada uma depleção de GSH cerebral (PAL e DANDIYA, 1994; ZAFIR e BANU, 2009; MELLO *et al.*, 2013), reforçando a hipótese de que o cérebro dos deprimidos são mais vulneráveis ao dano oxidativo.

Os resultados do nosso estudo demonstraram que a administração crônica de corticosterona causou uma diminuição significativa dos níveis de GSH no hipocampo e corpo estriado. Este efeito foi revertido tanto pelas administrações de fluvoxamina quanto de riparina I. Este resultado sugere que tanto a riparina I como a fluvoxamina podem ser uma estratégia terapêutica importante para o tratamento de DDM. No estudo de Silva e col (2016), os camundongos tratados com corticosterona e que depois receberam uma combinação entre antidepressivo e antioxidante (desvelafaxina e alanina) também apresentaram níveis maiores de GSH em relação ao grupo doente assim como neste estudo.

Tendo em vista que o fracasso das defesas antioxidantes conduz à peroxidação lipídica e também considerando que o MDA é considerado uma molécula pró-inflamatória, foi decidido determinar os níveis de peroxidação lipídica nas áreas cerebrais dos animais experimentais. Alguns estudos mostraram aumento da lipoperoxidação em modelos animais de depressão induzida por corticosterona (SATO *et al.*, 2010), estímulos estressantes (CHOPRA *et al.*, 2011) e LPS (MELLO *et al.*, 2013) em relação ao grupo sadio. Em pacientes com DDM em comparação com indivíduos saudáveis também se observa algo semelhante (KHANZODE *et al.*, 2003; SARANDOL *et al.*, 2007; GAŁECKI *et al.*, 2009). Assim, o aumento da peroxidação lipídica do presente trabalho está em consonância com evidências clínicas e pré-clínicas prévias (MÜLLER *et al.*, 2014).

Neste estudo, a administração da fluvoxamina diminuiu os níveis de MDA nas três áreas cerebrais, já a administração da riparina I, apenas no hipocampo e corpo estriado. A eficácia dos ISRS em reduzir os níveis plasmáticos de MDA também foi demonstrada em um estudo clínico, e após três meses de tratamento (BILICI *et al.*, 2001). Dentre os ISRS, a fluoxetina parece ser o único a não reduzir os níveis de MDA. Anos mais tarde, verificou-se que a fluoxetina, administrada por três meses, não afeta os níveis plasmáticos de MDA dos pacientes com DDM (GAŁECKI *et al.*, 2009). Outras classes de antidepressivos também demonstraram influenciar os níveis de MDA. O tratamento a longo prazo com imipramina (RÉUS *et al.*, 2010) ou venlafaxina (ABDEL- WAHAB e SALAMA, 2011) protegem contra

o dano oxidativo celular induzido pelo estresse, também por meio da diminuição dos níveis de MDA no pré-frontal e hipocampo de camundongos.

Existem evidências ainda da participação da via do NO na patogenia da depressão. O estresse exerce efeitos deletérios em inúmeras funções celulares, através do impedimento dos sistemas antioxidantes, levando ao estresse oxidativo que é a causa central de vários sintomas da doença depressiva (TORRES *et al.*, 2004). O NO desempenha um importante papel em praticamente todos os sistemas do organismo (EISERICH *et al.*, 1998). Embora exerça diversas funções fisiológicas úteis, quando em excesso, o NO pode exercer efeitos nocivos. Em determinadas condições, o NO e o O_2^- podem interagir, resultando na formação de peroxinitrito ($ONOO^-$), um produto extremamente tóxico. Esse composto é capaz de reagir com diversas moléculas: proteínas, lipídeos, carboidratos e ácidos nucleicos, danificando-as. Além disso, seus prováveis produtos de decomposição, o radical OH^- e o dióxido de nitrogênio, dentre outros, têm semelhante potencial deletério (RADENOVIC *et al.*, 2003).

Pesquisadores têm focado nas ações bioquímicas e moleculares do óxido nítrico, em condições normais, assim também como sua alteração potencial em condições patológicas como a depressão (GARG *et al.*, 2008). O nitrito (metabólito estável do NO) foi associado à fisiopatologia da depressão, uma vez que elevados níveis de peroxinitrito, e seu precursor, óxido nítrico, tem sido bem documentado na depressão induzida pelo estresse (WEGENER *et al.*, 2010; RICHARD *et al.*, 2007; SANDERS & KORF, 2007; OZCAN *et al.*, 2004; PALL, 2007) e há relatos de que há um aumento na expressão da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS) (que catalisa a síntese de NO a partir de oxigênio e L-arginina) hipocampal durante o estresse (HARVEY *et al.*, 2006). Outros achados demonstraram que a inibição da enzima (NOS) exerce efeitos antidepressivos em modelos animais de depressão (Da SILVA *et al.*, 2000; YILDIZ *et al.*, 2000).

Nossos resultados demonstraram um aumento na produção de nitrito-nitrato no corpo estriado, hipocampo e córtex pré-frontal dos animais submetidos ao estresse por corticosterona. O pré-tratamento com ripI, todavia, foi capaz de reverter a elevação dos níveis de nitrito-nitrato no corpo estriado e córtex pré-frontal, contribuindo, dessa maneira, para redução de ROSs cerebral. Esses achados são coerentes com dados de outros pesquisadores que relataram também uma diminuição na produção de nitrito-nitrato em diversas áreas cerebrais, incluindo hipocampo, corpo estriado e córtex pré-frontal, em animais tratados com os antidepressivos venlafaxina e fluvoxamina (ABDEL-WAHAB *et al.*, 2011; DHIR e KULKARNI, 2007).

Neste estudo, assim como no de Sousa (2015), o hipocampo foi a área mais susceptível ao desequilíbrio oxidativo induzido por corticosterona. Isso pode estar relacionado à maior densidade de receptores de glicocorticoides daquela área e, conseqüentemente, ao maior impacto da desregulação do sistema glicocorticoide daquela área sobre o equilíbrio redox. Tendo em vista que os receptores glicocorticóides são tidos como fatores regulatórios para enzimas antioxidantes em tecidos periféricos (PEREIRA *et al.*, 1995; UNLAP e JOPE, 1995; VALENTINE e NICK, 1994; YAO e RAREY, 1996).

A desregulação na sinalização redox pode estar associada ainda à redução dos níveis de BDNF, redução dos níveis de triptofano e tirosina e, redução dos níveis cerebrais de serotonina, dopamina e noradrenalina, o que demonstra a integração das teorias oxidativas, neurotrófica e monoaminérgica da depressão. Com base no envolvimento do estresse oxidativo na neurobiologia da DDM, estudos pré-clínicos sugerem que os antioxidantes podem ter propriedades antidepressivas (EREN *et al.*, 2007; ZAFIR e BANU, 2009) ou podem ser usados como potencializadores de efeitos antidepressivos (SILVA *et al.*, 2013).

Além do estresse oxidativo está associado a reduções dos níveis BDNF, também está associado a reduções nos níveis da proteína *cyclic AMP responsive element binding protein* (CREB) e da molécula sinapsina I que estão envolvidas em cascatas de plasticidade celular (WU *et al.*, 2004). Sabe-se que o BDNF é um importante regulador da sinaptogênese e dos mecanismos de plasticidade sináptica envolvidos no aprendizado e na memória no SNC adulto e na regulação do humor. Funções estas que poderão ser prejudicadas por conta da redução dos níveis de BDNF (CUNHA *et al.*, 2010).

O BDNF é de particular interesse no hipocampo, uma área bem conhecida por seu papel na memória e por seu alto grau de plasticidade sináptica, pois esta região possui a maior expressão neuroanatômica de BDNF e de seu receptor TrkB no cérebro de mamífero (ALONSO *et al.*, 2002). Os eventos desencadeados pelo BDNF no hipocampo do rato são necessários para a formação das memórias de curto e longo prazo. Especificamente, a sinalização BDNF / TrkB converge na via MAP kinase para aumentar a transmissão sináptica excitatória *in vivo*, bem como a aprendizagem dependente do hipocampo em comportamentos animais (TYLER *et al.*, 2002).

A disfunção hipocampal relacionada à desregulação redox e redução dos níveis de fator neurotrófico é um achado bem estabelecido na depressão e associado à déficit de memória e anedonia (JAYAWEERA *et al.*, 2015; BAI *et al.*, 2014; JIANG *et al.*, 2013). A redução também pode ser vista em animais submetidos à modelos de estresse e impacta negativamente o comportamento animal. Em animais submetidos à administração repetida de

corticosterona, os baixos níveis de BDNF hipocampal foram relacionados ao menor desempenho nos testes labirinto em Y, reconhecimento de objetos e à menor preferência à solução de sacarose (SOUSA, 2015), o que corrobora com os resultados do presente trabalho.

Em animais, a normalização dos níveis de BDNF hipocampais com antidepressivo convencional (desvenlafaxina [SOUSA *et al.*, 2015] e fluvoxamina [VASCONCELOS *et al.*, 2015]) está associada a melhor desempenho em testes de memória. Como a riparina-I melhorou as memórias de trabalho e aversiva dos camundongos e aumentou os níveis de BDNF, a administração de riparina-I em humanos poderia contribuir para a redução dos sintomas cognitivos que acompanham o humor deprimido, hipótese que requer estudos mais aprofundados.

É também conhecida a relação entre baixos níveis de BDNF e déficits cognitivo/humor deprimido. Amostras cerebrais pós-mortem mostraram redução da proteína BDNF no hipocampo e córtex pré-frontal de pacientes com transtorno psiquiátrico que cometeram suicídio em comparação com os controles não-psiquiátricos (DWIVEDI *et al.*, 2003; KAREGE *et al.*, 2005). Evidências pré-clínicas sugerem que citocinas pro-inflamatórias podem influenciar, pelo menos em parte, uma redução significativa da expressão gênica do BDNF e um aumento da expressão de mRNA do TrkB (receptor de BDNF) em animais com comportamento do tipo depressivo. Por fim, sabe-se que a administração de fármacos antidepressivos aumenta a expressão do BDNF (ZHANG *et al.*, 2016) e a infusão cerebral de BDNF produz efeito tipo antidepressivo em ratos (SIUCIAK, 1997; SHIRAYAMA, 2002).

No presente estudo, observou-se que a exposição repetida ao glicocorticóide causou uma diminuição nos níveis de BDNF no hipocampo dos camundongos, corroborando com estudos anteriores, alguns dos quais realizados em nosso laboratório (SOUSA *et al.*, 2015; VASCONCELOS *et al.*, 2015; SHEN, 2016; GONG *et al.*, 2016, LOPES, 2017). O tratamento com riparina-I, bem como o antidepressivo padrão, fluvoxamina, foram capazes de elevar os níveis de BDNF em relação ao grupo corticosterona, o que pode ter influenciado o comportamento antidepressivo dos animais tratados com a substância. Portanto, a atividade antidepressiva de riparina-I pode decorrer de estimulação da produção de fatores neurotróficos, o que indica também uma potencial atividade neuroprotetora.

A ação da riparina-I sobre parâmetros do estresse oxidativo e níveis de BDNF, bem como sua potencial interação com o receptor sigma 1, podem explicar, pelo menos em parte, os efeitos tipo antidepressivo, tipo ansiolítico e tipo antipsicótico dos animais experimentais do estudo.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise dos resultados apresentados neste trabalho nos permitiu afirmar que a riparina I:

- Reverteu os efeitos desencadeados pela corticosterona sobre o tempo de imobilidade nos testes do nado forçado e suspensão da cauda, o que é preditivo de efeito antidepressivo;
- Não foi eficaz em reverter as alterações comportamentais desencadeadas pela administração de corticosterona nos testes da preferência à sacarose e interação social;
- Reverteu o comportamento tipo ansioso no teste do plus maze, o que é preditivo de efeito ansiolítico;
- Reverteu o efeito das injeções de corticosterona sobre o número de rearing e porcentagem de inibição pré-pulso, o que é preditivo de atividade antipsicótica;
- Foi eficaz em normalizar parâmetros cognitivos avaliados nos testes Y-maze e esquiva passiva;
- Regula parâmetros do estresse oxidativo em áreas cerebrais de camundongos submetidos a um modelo de estresse crônico;
- Aumenta os níveis de BDNF em relação ao grupo estressado por corticosterona;
- Apresenta uma estrutura química que parece interagir em um sítio específico do receptor sigma 1, um importante alvo regulatório do humor.

8 CONCLUSÃO

A administração de rip-I reverteu o comportamento de tipo depressivo e psicótico induzido por corticosterona e normalizou o comprometimento da evocação da memória em camundongos. Essas mudanças comportamentais foram acompanhadas por redução do estresse oxidativo e aumento dos níveis de BDNF. Este estudo fornece novos dados experimentais e abre perspectivas para novos estudos que podem culminar em um futuro uso terapêutico de rip-I no tratamento de condições associadas a níveis elevados de glicocorticóide, como a Depressão Maior Psicótica..

9 PERSPECTIVAS FUTURAS

Diante dos achados experimentais promissores obtidos com a rip-I, é interessante que continuem as pesquisas com a substância, a fim de se alcançar um maior entendimento sobre os mecanismos de ação envolvidos nos efeitos tipo antidepressivo e antipsicótico observados em animais.

É fundamental que os próximos passos sejam investigar a participação do receptor sigma-1 nos efeitos centrais desencadeados pela rip-I através do uso de antagonista farmacológico do receptor em questão. A modulação daquele receptor intracelular pluripotente, implica na regulação de vários processos celulares vitais, (regulação do estresse oxidativo e neurogênese) o que é útil para o tratamento da depressão, uma doença multifatorial que envolve a desregulação de sistemas biológicos que vão além do sistema monoaminérgico. Estudos de binding também seriam interessantes para verificar a participação do receptor sigma-I nos efeitos apresentados aqui.

Outro aspecto a se investigar seria a influência da rip-I sobre vias neuro inflamatórias específicas comumente ativas em pacientes com Depressão Maior, como a via NLRP3-/caspase-1/IL-1beta e a via das quinureninas, e que podem inclusive disparar o aumento do estresse oxidativo. Tendo em vista os dados da literatura que sustentam o papel da inflamação na depressão e incluem achados que transpõem paradigmas experimentais e apontam que pacientes com depressão maior podem exibir todas as características de uma resposta inflamatória, substâncias antiinflamatórias também seriam úteis no tratameto da depressão, como a fluoxetina.

REFERÊNCIAS

ABELAIRA, Helena M.; REUS, Gislaine Z.; QUEVEDO, Joao. Animal models as tools to study the pathophysiology of depression. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, São Paulo , v. 35, supl. 2, p. S112-S120, 2013 .

AGO Y, ARIKAWA S, YATA M, YANO K, ABE M, TAKUMA K, MATSUDA T. Antidepressant-like effects of the glucocorticoid receptor antagonist RU-43044 are associated with changes in prefrontal dopamine in mouse models of depression. **Neuropharmacol** 55:1355–1363, 2008.

ALCÂNTARA, J. M.; YAMAGUCHI, K. K. L.; SILVA, J. R. A.; VEIGA JÚNIOR, V. F. Composição química e atividade biológica dos óleos essenciais das folhas e caules de ALMEIDA, T. F.; ROIZENBLATT, S.; TUFIK, S. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. **Brain Research**, v. 1000, p. 40-56, 2004.

ALTMAN, R. B.; DUGAN, J. M. Defining Bioinformatics and Structural Bioinformatics. 2nd ed., **Wiley-Blackwell**, 2005.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Manual Diagnóstico e Dstatístico de Dranstornos Dentais. 5. ed. DSM-5: Porto Alegre: **Artmed**, 2014.

ANDRADE L, CARAVEO-ANDUAGA JJ, BERGLUND P, BIJL RV, DE GRAAF R, VOLLEBERGH W, DRAGOMIRECKA E, KOHN R, KELLER M, KESSLER RC, KAWAKAMI N, KILIÇ C, OFFORD D, USTUN TB, WITTCHEN HU. The epidemiology of major depressive episodes: results from the International Consortium of Psychiatric Epidemiology (ICPE) Surveys. **Int J Methods Psychiatr Res**. 12(1):3-21, 2003.

ANDRADE L, CARAVEO-ANDUAGA JJ, BERGLUND P, BIJL RV, DE GRAAF R, VOLLEBERGH W, DRAGOMIRECKA E, KOHN R, KELLER M, KESSLER RC, KAWAKAMI N, KILIÇ C, OFFORD D, USTUN TB, WITTCHEN HU. The epidemiology of major depressive episodes: results from the International Consortium of Psychiatric Epidemiology (ICPE) Surveys. **Int J Methods Psychiatr Res**. 12(1):3-21, 2003.

ANSSEAU M., DEMYTTENAERE K., HEYRMAN J., MIGEOTTE A., LEYMAN S., MIGNON A. Objective: remission of depression in primary care. **The Oreon Study. European Neuropsychopharmacology**, v. 19 (3), pp. 169-176, 2009.

ARAÚJO FLO. Estudo dos efeitos antinociceptivos e antiinflamatórios de (Ometil)- N-benzoil tiramina (riparina I) de Aniba riparia (NEES) MEZ (Lauraceae) em camundongos – MSc. **Dissertation**, Universidade Federal do Ceará, Brasil. 2007.

BAKUNINA, N., PARIANTE, C.M., ZUNSZAIN, P.A.. Immune mechanisms linked todepression via oxidative stress and neuroprogression. **Immunology**, 2015.

BALDWIN R. Delusional (psychotic) depression in the elderly. **In: Marneros A**, editor. Late-onset mental disorders. London: Gaskell. pp. 59–82, 1999.

BASSO MR, BORNSTEIN RA. Neuropsychological deficits in psychotic versus nonpsychotic unipolar depression. **Neuropsychology**.13:69-75, 1999.

BERMACK JE, DEBONNEL G. Distinct modulatory roles of sigma receptor subtypes on glutamatergic responses in the dorsal hippocampus. **Synapse**. 55:37–44, 2005.

BERMACK JE, DEBONNEL G. Effects of OPC-14523, a combined sigma and 5-HT_{1a} ligand, on pre- and post-synaptic 5-HT_{1a} receptors. **J Psychopharmacol**. 21:85–92, 2007.

BERMACK JE, DEBONNEL G. Modulation of serotonergic neurotransmission by short-and long-term treatments with sigma ligands. **Br J Pharmacol**. 134:691–699, 2001.

BERMACK JE, DEBONNEL G. The role of sigma receptors in depression. **J Pharmacol Sci**. 97:317–36, 2005.

BERMACK JE, HADDJERI N, DEBONNEL G. Effects of the potential antidepressant OPC-14523 [1-[3-[4-(3-chlorophenyl)-1-piperazinyl]propyl]-5-methoxy-3,4-dihydro-2-quinolinone monomethanesulfonate] a combined sigma and 5-HT_{1A} ligand: modulation of neuronal activity in the dorsal raphe nucleus. **J Pharmacol Exp Ther**. 310:578–583, 2004.

BERNASCONI R, MOLINARI M. ERAD and ERAD tuning: Disposal of cargo and of ERAD regulators from the mammalian ER. **Curr. Opin. Cell Biol.**; 23: 176– 183; 2011.

BERRIDGE KC, KRINGELBACH ML. Affective neuroscience of pleasure: reward in humans and animals. **Psychopharmacology (Berl)** 199:457–480, 2008.

BEZERRA DP, PESSOA C, DE MORAES MO, SAKER-NETO N, SILVEIRA ER, COSTA-LOTUFO LV. Overview of the therapeutic potential of piplartine (piperlongumine). **Eur J Pharm Sci**. 48(3):453-63. 2013.

BILICI, M., EFE, H., KÖROĞLU, M.A., UYDU, H.A., BEKAROĞLU, M., DEĞER, O. Antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in major depression: alterations by antidepressant treatments. **J. Affect. Disord.** 64 (1), 43–51, 2001.

BLUTH LS, RICE KC, JACOBSON AE, BOWEN WD. Acylation of σ receptors by Metaphit, an isothiocyanate derivative of phencyclidine. **Eur. J. Pharmacol.** 1989;161:273–277.

BONDY, B.; ZILL, P. Pharmacogenetics and Psychopharmacology. **Curr. Opin.**

BOUAYED J, RAMMAL H, SOULIMANI R. Oxidative stress and anxiety: relationship and cellular pathways. **Oxid. Med. Cell Longev.** 2(2):63–67, 2009.

BREMNER JD, RANDALL P, SCOTT TM, BRONEN RA, SEIBYL JP, SOUTHWICK SM, DELANEY RC, MCCARTHY G, CHARNEY DS, INNIS RB. MRI-based measurement of hippocampal volume in patients with combat-related posttraumatic stress disorder. **Am J Psychiatry** 152: 973–981, 1995.

BROTTO, M. L.; SANTOS, E. P.; BAITELLO, J. B. Lauraceae no morro dos perdidos CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality, control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 179-189, 2000.

CALIXTO, JB. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Cienc. Cult**, v.55, 3, 2003.
CARVALHO, AMR. Estudo Do Mecanismo De Ação Da Atividade Antinociceptiva Da Riparina Ii De *Aniba Riparia* Em Camundongos. **Tese**. 2016.

CASTELO-BRANCO, U. V.. Preparação e estudos farmacológicos do éter metílico de Nbenzoiltiramina e do éter metílico de N-(2-hidroxibenzoil)-tiramina. 1992. **Dissertação** (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, Paraíba 1992.

CASTELO-BRANCO, U. V.; THOMAS, G.; ARAÚJO, C. C.; BARBOSA-FILHO, J. M. Preliminary pharmacological studies on three benzoyl amides constituents of *Aniba riparia* (Ness) Mez (Lauraceae). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 19, p. 197-202, 2000.

CHECKLEY S. The neuroendocrinology of depression and chronic stress. *Br Med Bull* ;52:597–617, 1996.

Checkley S. The neuroendocrinology of depression and chronic stress. *Br Med Bull.* 1996;52(3):597-617.

CHELIKANI P, FITA I, LOEWEN PC. Diversity of structures and properties among catalases. *Cell Mol. Life Sci.* 61(2):192–208, 2004.

CHEVALLIER N, KELLER E, MAURICE T (2011) Behavioral phenotyping of knockout mice for the sigma-1 (σ_1) chaperone protein revealed gender-related anxiety, depressive-like and memory alterations. *J Psychopharmacol* 25:960–975, 2011.

CHIEN CC, PASTERNAK GW. (-)-Pentazocine analgesia in mice: interactions with a σ receptor system. *Eur. J. Pharmacol.* 1995;294:303–308.

COBOS EJ, BAEYENS JM, DEL POZO E. Phenytoin differentially modulates the affinity of agonist and antagonist ligands for σ_1 receptors of guinea pig brain. *Synapse.* 2005;55:192–195.

COMPTON WM, CONWAY KP, STINSON FS, GRANT BF. Changes in the prevalence of major depression and comorbid substance use disorders in the United States between 1991-1992 and 2001-2002. *Am J Psychiatry.* 163(12):2141, 2006.

COOKE L.W., ACHARYA A.J., DAVIS M.D. The effects of sigma1 ligand, igmesine, on neurotransmitter activity in the rat as assessed by intracerebral microdialysis. *Soc. Neurosci. Abstr.* 24, Part 2, 583, 14, 1998.

CROCHEMORE, C.; LU, J.; WU, Y. Direct targeting of hippocampal neurons for apoptosis by glucocorticoids is reversible by mineralocorticoid receptor activation. *Mol Psychiatry*, vol.10, p.790-8, 2005.

DA SILVA, G.; MATTEUSSI, A.; SANTOS, A.R.S.; CALIXTO, J.B.; RODRIGUES, A.L.S. Evidence for dual effects of nitric oxide in the forced swimming test and in the tail suspension test in mice. **NeuroReport**, v.11, p.3699–3702, 2000.

DAVID DJ, SAMUELS BA, RAINER Q, WANG JW, MARSTELLER D, MENDEZ I, et al. Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. **Neuron** 62:479–93, 2009.

DAVIES KJ. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. **Biochem. Soc. Symp.** 61:1–31, 1995.

DE CARVALHO AM, ROCHA NF, et al. Evaluation of the anti-inflammatory activity of riparin II (O-methyl-N-2-hydroxy-benzoyl tyramine) in animal models. **Chem Biol Interact.** 205(3):165-72. 2013.

DELLU, F.; MAYO, M.; VALLÉE, M.; LE MOAL, M.; SIMON, H. Reactivity to novelty during youth as a predictive factor of cognitive impairment in the elderly: a longitudinal study in rats. **Brain Res.** v. 653, p. 51-56, 1994.

DER-AVAKIAN A, MARKOU A. The Neurobiology of Anhedonia and Other Reward-Related Deficits. **Trends in Neurosciences** 35.1: 68–77, 2012.

DI GIANNANTONIO M, MARTINOTTI G (2012) Anhedonia and major depression: the role of agomelatine. **Eur. Neuropsychopharmacol.** 22:505–510.

DONOHUE JM, PINCUS HA. Reducing the societal burden of depression: a review of economic costs, quality of care and effects of treatment. **Pharmacoeconomics.** 25(1):7, 2007.

DREVETS WC, PRICE JL, FUREY ML. Brain structural and functional abnormalities in mood disorders: implications for neurocircuitry models of depression. **Brain Struct Funct** 213(1–2):93–118, 2008.

DUMAN, R. S.; MONTEGGIA, L. M. A neurotrophic model for stress-related mood

DUMAN, RONALD S. Pathophysiology of Depression and Innovative Treatments: Remodeling Glutamatergic Synaptic Connections. **Dialogues in Clinical Neuroscience** 16.1 : 11–27, 2014.

EISERICH, J. P.; PATEL, R. P.; O'DONNELL, V. B. Pathophysiology of nitric oxide and related species: free radical reactions and modification of biomolecules. **Mol. Aspects Med.**, v.19, p.221-357, 1998.

EPEL ES, BLACKBURN EH, LIN J, DHABHAR FS, ADLER NE, MORROW JD, CAWTHON RM. Accelerated telomere shortening in response to life stress. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.** 101(49):17312–17315, 2004.

EREN, I., NAZIROĞLU, M., DEMIRDAŞ, A., CELIK, O., UĞUZ, A.C., ALTUNBAŞAK, A., et al. Venlafaxine modulates depression-induced oxidative stress in brain and medulla of rat. **Neurochem. Res.** 32 (3), 497–505, 2007.

FAVA M, RUSH AJ, ALPERT JE, BALASUBRAMANI GK, WISNIEWSKI SR, CARMIN CN, et al. Difference in treatment outcome in outpatients with anxious versus nonanxious depression: a STAR*D report. **Am J Psychiatry.** 165(3):342–351, 2008.

FORLENZA MJ, MILLER GE. Increased serum levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in clinical depression. **Psychosom. Med.** 68(1):1–7, 2006.

FRANCO-CHAVES JA, MATEUS CF, et al. (2013) Combining a dopamine agonist and selective serotonin reuptake inhibitor for the treatment of depression: a double-blind, randomized pilot study. **J. Affect. Disord.** 149:319–325.

FRASER MURRAY, DAVID W. SMITH, PETER H. HUTSON. Chronic low dose corticosterone exposure decreased hippocampal cell proliferation, volume and induced anxiety and depression like behaviours in mice. **European Journal of Pharmacology** 583, 115–127, 2008.

FUKUNAGA K, MORIGUCHI S. Stimulation of the Sigma-1 Receptor and the Effects on Neurogenesis and Depressive Behaviors in Mice. **Adv Exp Med Biol.** 964:201-211, 2017.

FURUKAWA S, FUJITA T, SHIMABUKURO M, IWAKI M, YAMADA Y, NAKAJIMA Y, NAKAYAMA O, MAKISHIMA M, MATSUDA M, SHIMOMURA I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **J. Clin. Invest.** 114(12):1752–1761, 2004.

FURUSE T, HASHIMOTO K. Fluvoxamine monotherapy for psychotic depression: the potential role of sigma-1 receptors. **Ann Gen Psychiatry** 8:26. 2009.

GABBAY, V., KLEIN, R.G., ALONSO, C.M., BABB, J.S., NISHAWALA, M., DE JESUS, G., et al.. Immune system dysregulation in adolescent major depressive disorder. **J. Affect. Disord.** 115 (1–2), 177–182, 2009 .

GAŁECKI, P., SZEMRAJ, J., BIENKIEWICZ, M., ZBORALSKI, K., GAŁECKA, E. Oxidative stress parameters after combined fluoxetine and acetylsalicylic acid therapy in depressive patients. **Hum Psychopharmacol.** 24 (4), 277–286, 2009.

GATTI F, BELLINI L, GASPERINI M, PEREZ J, ZANARDI R, SMERALDI E. Fluvoxamine alone in the treatment of delusional depression. **Am J Psychiatry.** 153:414-416, 1996.

GEERLINGS MI, SIGURDSSON S, EIRIKSDOTTIR G, GARCIA ME, HARRIS TB, SIGURDSSON T, GUDNASON V, LAUNER LJ. Associations of current and remitted major depressive disorder with brain atrophy: the AGES-Reykjavik Study. **Psychol Med** 43:317–328, 2013.

GIDRON Y, RUSS K, TISSARCHONDOU H, WARNER J. The relation between psychological factors and DNA-damage: a critical review. **Biol. Psychol.** 72(3):291–304, 2006.

GODLEWSKA, B.R., NEAR, J., COWEN, P.J.. Neurochemistry of major depression: a study using magnetic resonance spectroscopy. **Psychopharmacology (Berl)** 232 (3), 501–507, 2015.

GOLBIDI, S., BADRAN, M., LAHER, I. Diabetes and alpha lipoic Acid. **Front. Pharmacol.** 2, 69 , 2011.

GOURLEY SL, WU FJ, KIRALY DD, PLOSKI JE, KEDVES AT, DUMAN RS, et al. Regionally specific regulation of ERK MAP kinase in a model of antidepressant-sensitive chronic depression. **Biol Psychiatry** 63:353–9, 2008.

GOURNELLIS R, LYKOURAS L. Psychotic (delusional) major depression in the elderly: a review. **Current Psychiatry Reviews.** 2:235–244 , 2006.

GROVES, J. O. Is it time to reassess the BDNF hypothesis of depression?, **Mol Psychiatry**, v.12, p.1079-1088, 2007.

GUEDES, I. A.; MAGALHAES, C. S.; DARDENNE, L. E. Receptor–ligand molecular HALLIWELL B. Biochemistry of oxidative stress. **Biochem. Soc. Trans.** 35(Pt 5):1147–1150, 2007.

HALLIWELL B. Phagocyte-derived reactive species: salvation or suicide? **Trends Biochem. Sci.** 2006;31(9):509–515, 2006.

HAMODA H, OSSER DN. The psychopharmacology algorithm project at the Harvard South Shore Program: an update on psychotic depression. **Harv Rev Psychiatry**, 16:235-247, 2008.

HASLER, G. Pathophysiology of depression: do we have any solid evidence of interest to clinicians? **World Psychiatry**; v.9, pp. 155-161, 2010.

HAYASHI T, SU TP. Sigma-1 receptors at galactosylceramide-enriched lipid microdomains regulate oligodendrocyte differentiation. **Proc Natl Acad Sci USA.** 12;101(41):14949-54.2004.

HINDMARCH I, HASHIMOTO K (2010) Cognition and depression: the effects of fluvoxamine, a sigma-1 receptor agonist. *Psychopharmacol* 25:193-200.

HINDMARCH I, HASHIMOTO K . Cognition and depression: the effects of fluvoxamine, a sigma-1 receptor agonist. **Psychopharmacol** 25:193-200, 2010.

HORI M, SHIRAIISHI H, KOIZUMI J. Delusional depression and suicide. **Jpn J Psychiatry Neurol.** 47:811-817, 1993.

HORST J T *et al.*, Deletion of the forebrain mineralocorticoid receptor impairs social discrimination and decision-making in male, but not in female mice. **Behav. Neurosci.**, 2014.

IARDJA S L. Efeito antidepressivo da riparina ii em camundongos submetidos ao modelo de estresse induzido pela administração crônica de corticosterona. **Dissertação.** Universidade Federal do Ceará, 2017.

IJIMA M, ITO A, et al. Pharmacological characterization of repeated corticosterone injection-induced depression model in rats. **Brainresearch** 1359: 75–80. 2010.
Int J Geriatr Psychiatry. 21(12):1127-31, 2006.

INTERAMINENSE, L. F. L.; MAIA, J. G. S., SOUSA, P. J. C. Cardiovascular effects of the essential oil of Aniba canelilla bark in normotensives rats. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 46, n. 4, p. 412-421, 2005.

IRIE M, ASAMI S, IKEDA M, KASAI H. Depressive state relates to female oxidative DNA damage via neutrophil activation. **Biochem. Biophys Res. Commun.** 311(4):1014–1018, 2003 .

IRONS J. Fluvoxamine in the treatment of anxiety disorders. **Neuropsychiatric Disease and Treatment.** 2005;1(4):289-299.

IZQUIERDO,I.; VIANNA, M.R.; IZQUIERDO,L.A.; BARROS, D.M.; SZAPIRO, G.; COITINHO, A.S.; MULLER, L.; CAMMAROTA, M.; BEVILAQUA, L.R.; MEDINA, J.H.Memoryretrieval and its lasting consequences. **Neurotox Res.**, v. 4, p. 573-593, 2002.

JI-CHUN ZHANG, WEI YAO AND KENJI HASHIMOTO. Brain-derived Neurotrophic Factor (BDNF)-TrkB Signaling in Inflammation-related Depression and Potential Therapeutic Targets. **Current Neuropharmacology**, 2016, 14, 721-731.

JOCA, S.R.; PADOVAN, C.M.; GUIMARÃES, F.S. Estresse, depressão e hipocampo. **Rev.Bras. Psiquiatr.** v.25 (2), p. 46-51, 2003.

JOHNSON J, HORWATH E, WEISSMAN MM. The validity of major depression with psychotic features based on a community study. **Arch Gen Psychiatry.** 48:1075–1081, 1991.

JOHNSON J, WEISSMAN MM, KLERMAN GL. Service utilization and social morbidity associated with depressive symptoms in the community. **JAMA.** 267(11):1478-83, 1992.

JURUENA MF, CLEARE AJ, BAUER ME, PARIANTE CM. Molecular mechanism of GR sensitivity and relevance for affective disorders for special issue **Acta Neuropsychiatrica.** 2003;15(3):354-67.

JURUENA, Mario F; CLEARE, Anthony J; PARIANTE, Carmine M. O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, a função dos receptores de glicocorticóides e sua importância na depressão. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, São Paulo , v. 26, n. 3, p. 189-201, 2004 .

KANG, K.; PARK, M.; PARK, S.; KIM, Y. S.; LEE, S.; LEE, S.; BACK, K. Production of plant-specific tyramine derivatives by dual expression of tyramine N-hydroxy cinnamoyltransferase and 4- coumarate: coenzyme A ligase Escherichia coli. **Biotechnology Letters**, v. 31, n. 9, p. 1469-1475, 2009.

KELLER, M.C.; NEALE, M.C.; KENDLER, K.S. Association of different adverse life events with distinct patterns of depressive symptoms. **Am. J. Psychiatry**, v. 164, p. 1521-1529, 2007.
KELLEY AE, et al. Opioid modulation of taste hedonics within the ventral striatum. **Physiol Behav.** 76:365–377, 2002.

KESLLER RC et al. 2003. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). **JAMA.** 18;289(23):3095-105, 2003.

KHANZODE, S.D., DAKHALE, G.N., KHANZODE, S.S., SAOJI, A., PALASODKAR, R. Oxidative damage and major depression: the potential antioxidant action of selective serotonin re-uptake inhibitors. **Redox Rep.** 8 (6), 365–370, 2003.

KHANZODE, S.D., DAKHALE, G.N., KHANZODE, S.S., SAOJI, A., PALASODKAR, R. Oxidative damage and major depression: the potential antioxidant action of selective serotonin re-uptake inhibitors. **Redox Rep.** 8 (6), 365–370, 2003.

KIRSCHBAUM OT, WOLF M, MAY M, WIPPICH W, HELLHAMMER DH. Stress- and treatment-induced elevations of cortisol levels associated with impaired declarative memory in healthy adults. **Life Sci** 1996; 58(17):1475–83.

KITCHEN, D.B.; et al. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. **Nat Rev Drug Discov**, v. 3, p. 935–949, 2004.

KRISHNAN, V.; NESTLER, E. J. The molecular neurobiology of depression. **Nature**, n.16, p.894–902, 2008.

KROESSLER D. Relative efficacy rates for therapies of delusional depression. **Convuls Ther.**;1:173-182, 1985.

KROHNE-EHRICH G, SCHIRMER RH, UNTUCHT-GRAU R. Glutathione reductase from human erythrocytes. Isolation of the enzyme and sequence analysis of the redox-active peptide. **Eur. J. Biochem.** 80(1):65–71, 1977.

KRONFOL, Z. Immune dysregulation in major depression: a critical review of existing evidence. **Int. J. Neuropsychopharmacol.** 5 (4), 333–343, 2002.

KUPFER DJ, SPIKER DG. Refractory depression: Prediction of non-response by clinical indicators. **J Clin Psychiatry.** 42:307–12, 1981.

LAHLOU, S. MAGALHÃES, P. J. C.; SIQUEIRA, R. J. B.; FIGUEIREDO, A. F.; LALOND, R. The neurobiological basis of spontaneous alternation. **Neurosci. Behav. Rev.**, v. 26, p. 91-104, 2002.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.46, p.3-26, 2001.

LLERENA, KATIAH et al. Social Anhedonia and Affiliation: Examining Behavior and Subjective Reactions within a Social Interaction. **Psychiatry research** 200.2-3 (2012): 679–686. *PMC*. Web. 9 July 2017.

LOHOFF, F.W.; FERRARO, T.N. Pharmacogenetic considerations in the treatment of LOMBARD, J.H., 2010. Depression, psychological stress, vascular dysfunction, and cardiovascular disease: thinking outside the barrel. **J. Appl. Physiol.** 108 (5), 1025–1026, 2010.

LORENZI, H.; SOUZA, V. C. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2 ed. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2008. 85-89p.

LUPIEN SJ, MCEWEN BS. The acute effects of corticosteroids on cognition: integration of animal and human model studies. **Brain Res Brain Res Rev** 24(1):1-27, 1997.

MAES, M.; GALECKI, P.; CHANG, Y.S.; BERK, M. A review on the oxidative and MAIA, J. G. S.; SOUSA, P. J. C.; FONTES JÚNIOR, E. A.; SANTOS, A. M. S. Volatile Compounds and Antispasmodic Activity of the Stem Bark Oil of Aniba canelilla. In: XII Congresso Ítalo-Latino-Americano de Etnomedicina. Rio de Janeiro, RJ. **Anais**. Rio de Janeiro, 2003.

MAIOLI-AZEVEDO, V.; FONSECA-KRUEL V. S. Plantas medicinais e ritualísticas vendidas em feiras livres no município do Rio de Janeiro, RJ, Brasil: estudo de caso nas zonas Norte e Sul. **Acta Botânica Brasilica**, v. 21, n. 2, p. 263-275, 2007.

MALYKHIN NV, CARTER R, SERES P, COUPLAND NJ. Structural changes in the hippocampus in major depressive disorder: contributions of disease and treatment. **J Psychiatry Neurosci** 35:337–343, 2010.

MANTOVANI, M., PERTILE, R., CALIXTO, J.B., SANTOS, A.R., RODRIGUES, A.L. Melatonin exerts an antidepressant-like effect in the tail suspension test in mice: evidence for involvement of N-methyl-D-aspartate receptors and the L-arginine-nitric oxide pathway. **Neurosci. Lett.**, n.343, p.1–4, 2003.

MARKOPOULOU K, PAPADOPOULOS A, JURUENA MF, POON L, PARIANTE CM, CLEARE AJ. The ratio of cortisol/DHEA in treatment resistant depression. **Psychoneuroendocrinology**. 2009 Jan;34(1):19-26.

MARTI-RENO, M. A.; et al. Structure comparison and alignment. In: GU, Jenny; BOURNE, Philip E. (Org.). **Structural Bioinformatics**. 2.ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2009.

MATSUNO K, KOBAYASHI T, TANAKA MK, MITA S: Receptor Subtype sigma 1 is involved in the relief of behavioral despair in the mouse forced swimming test. **Eur J Pharmacol**, , 312, 267–271, 1996.

MCCABE C, COWEN PJ, HARMER CJ (2009) Neural representation of reward in recovered depressed patients. **Psychopharmacology** 205:667–677.

MCCORD JM, FRIDOVICH I. Superoxide dismutase: the first twenty years (1968-1988). **Free Radic. Biol. Med.** 5(5-6):363–369, 1988.

MCINTOSH, L.J., HONG, K.E., SAPOLSKY, R.M. Glucocorticoids may alter antioxidant enzyme capacity in the brain: baseline studies. **Brain Res.** 791 (1–2), 209–214, 1998.

MCINTYRE MD, ROGER S, et al. (2013) Cognitive deficits and functional outcomes in major depressive disorder: determinants, substrates, and treatment interventions. **Depression and anxiety** 30:515–527.

MCINTYRE MD, ROGER S, et al. Cognitive deficits and functional outcomes in major depressive disorder: determinants, substrates, and treatment interventions. **Depression and anxiety** 30: 515–527. 2013.

Medicinal Moderna. Chapecó-SC, Argos: Editora Universitária, 2001. 297-315p.

MELLO, B.S.F., MONTE, A.S., MCINTYRE, R.S., SOCZYNSKA, J.K., CUSTÓDIO, C.S., CORDEIRO, R.C., et al.. Effects of doxycycline on depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide (LPS) administration. **J. Psychiatr. Res.** 47 (10), 1521–1529, 2013.

MOBLEY, D.L.; DILL, K.A. Binding of Small-Molecule Ligands to Proteins: What You See Is Not Always 'What You Get. **Structure**, v. 17, p. 489–498, 2009.

MONTE AS, et al., (2013). Prevention and reversal of ketamine-induced schizophrenia related behavior by minocycline in mice: Possible involvement of antioxidant and nitrenergic pathways. **Journal of Psychopharmacology**. 15:1–12.

MOON, M.; JEONG, H. U.; CHOI, J.G.; JEON, S.G.; SONG, E.J.; HONG, S.P.; OH, M.S. Memory-enhancing effects of *Cuscuta japonica* Choisy via enhancement of adult hippocampal neurogenesis in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 311, p. 173–182, 2016.

MOUNT, D. W. **Bioinformatics: Sequence and Genome Analysis**. 2.ed. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2004.

MÜLLER, C.P., REICHEL, M., MÜHLE, C., RHEIN, C., GULBINS, E., KORNUBER, J. Brain membrane lipids in major depression and anxiety disorders. **Biochim. Biophys. Acta** 1851 (8), 1052–1065, 2014.

NAZARIA, M.; KESHAVARZ, S.; RAFATI, A.; NAMAVAR. M. R. Fingolimod (FTY720) improves hippocampal synaptic plasticity and memory deficit in rats following focal cerebral ischemia. **Brain Research Bulletin**, n. 124, p. 95–102, 2016.

NELSON EB, SAX KW, STRAKOWSKI SM. Attentional performance in patients with psychotic and nonpsychotic major depression and schizophrenia. **Am J Psychiatry**. 155:137–9, 1998.

NELSON JC, PIKALOV A, BERMAN RM. Augmentation treatment in major depressive disorder: focus on aripiprazole. **Neuropsychiatr Dis Treat** 4:937–948. Hamoda H, Osser DN

(2008) The psychopharmacology algorithm project at the Harvard South Shore Program: an update on psychotic depression. **Harv Rev Psychiatry** 16: 235-247. 2008.

NEMEROFF CB. The corticotropin-releasing factor (CRF hypothesis of depression: new findings and new directions. **Mol Psychiatry**. 1(4):336, 1996.

NG F, BERK M, DEAN O, BUSH AI. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. **Int. J. Neuropsychopharmacol**. 11(6):851–876, 2008.

NG, F.; BERK, M.; DEAN, O. et al. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. **Int J Neuropsychopharmacol**, n.11, p.851-76, 2008.

nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness. **Progress in Neuro Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, n.35, p.676–692, 2011.

NUNES, G. B. L.; COSTA, L. M.; GUTIERREZ, S. J. C.; NUNES, L. C. C.; FREITAS, R. M. Prospecção científica e tecnológica da Aniba riparia (Ness) Mez (Lauraceae). **Cadernos de Prospecção**, v. 6, n. 4, p. 447-458, 2013.

NUTT, D. J. Relationship of neurotransmitters to the symptoms of major depressive disorder. **J Clin Psychiatry**, n.69, p.4–7, 2008.

OHAYON MM, SCHATZBERG AF. Prevalence of depressive episodes with psychotic features in the general population. **Am J Psychiatry**. 159:1855–1861, 2002.

OMI T, TANIMUKAI H, KANAYAMA D et al. Fluvoxamine alleviates ER stress via induction of Sigma-1 receptor. **Cell Death Dis**. 2014 Jul 17;5:e1332.

OMI T, TANIMUKAI H, KANAYAMA D, et al (2014) Fluvoxamine alleviates ER stress via induction of Sigma-1 receptor. **Cell Death Dis**.5: 1-7, 2014.

OTHMER E, DESOUZA CM, PENICK EC, ET AL. Indicators of mania in depressed outpatients: a retrospective analysis of data from the Kansas 1500 study. **J Clin Psychiatry.** 68:47–51, 2007.

PAL, S.N., DANDIYA, P.C.. Glutathione as a cerebral substrate in depressive behavior. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 48 (4), 845–851, 1994.

PALL, M.L. Nitric oxide synthase partial uncoupling as a key switching mechanism for the NO/ONOO-cycle. **Med. Hypotheses**, v.69, p.821–825, 2007.

PARIANTE CM, MILLER AH. Glucocorticoid receptors in major depression: relevance to pathophysiology and treatment. **Biol Psychiatry.** 49(5):391-404, 2001.

PEREIRA, B., FERNANDO, L., B.P., COSTA, R., SAFI, D.A., BECHARA, E.J.H., CURI, R. Hormonal regulation of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities in rat macrophages. **Biochem. Pharmacol.** 50 (12), 2093–2098, 1995.

PERES, L. E. P. **Metabolismo secundário.** 2003. Disponível em: www.danepatrie.com. Acesso em 15 de dezembro de 2015.

PERO RW, ROUSH GC, MARKOWITZ MM, MILLER DG. Oxidative stress, DNA repair, and cancer susceptibility. **Cancer Detect.rev.** 14(5):555–561, 1990.

PITTENGER, C.; DUMAN, R.S. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. **Neuropsychopharmacology**, n.33, p.88-109, 2008.

PIWOWARSKA J, WRZOSEK M, RADZIWOŃ-ZALESKA M, RYSZEWSKA-POKRAOENIEWICZ B, SKALSKI M, MATSUMOTO H, BIERNACKA-BAZYLUK A et al.: Serum cortisol concentration in patients with major depression after treatment with clomipramine. **Pharmacol Rep**, 61, 604–611, 2009.

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

POULSEN HE, SPECHT E, BROEDBAEK K, HENRIKSEN T, ELLERVIK C, MANDRUP-POULSEN T, TONNESEN M, NIELSEN PE, ANDERSEN HU, WEIMANN A. RNA modifications by oxidation: a novel disease mechanism? **Free Radic Biol Med.** 52(8):1353–1361, 2012.

PRUSOFF BA, WEISSMAN MM, MERIKANGAS KR, LECKMAN JF, HARDING PS. Psychiatric illness in relatives of probands with delusional depression. **Psychopharmacol Bull.** 20:358–361, 1984.

RAMÍREZ-CHÁVEZ, E.; LÓPEZ-BUCIO, J.; HERRERA-ESTRELLA, L.; MONILATORRES, J. Alkamides isolated from plants promote growth and alter root development in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 134, n. 3, p. 1058-1068, 2004.

RANGWALA, H.; KARYPIS, G. **Introduction to Protein Structure Prediction: Methods and Algorithms.** Hoboken: John Wiley & Sons, 2011

RAUSCH JL, HOBBY HM, SHENDARKAR N, JOHNSON ME, LI J. Fluvoxamine treatment of mixed anxiety and depression: evidence for serotonergically mediated anxiolysis. **J Clin Psychopharmacol.** 21(2):139-42, 2001.

Réus, G.Z., Stringari, R.B., de Souza, B., Petronilho, F., Dal-Pizzol, F., Hallak, J.E., et al. Harmine and imipramine promote antioxidant activities in prefrontal cortex and HIPPOCAMPUS. **OXID. MED. CELL. LONGEV.** 3 (5), 325–331, 2010.

REYNOLDS A, LAURIE C, MOSLEY RL, GENDELMAN HE. Oxidative stress and the pathogenesis of neurodegenerative disorders. **Int. Rev. Neurobiol.** 82:297–325, 2007.
Rhodostemonodaphne parvifolia Madriñán (Lauraceae). **Acta Amazônica**, v. 40, n. 3, p. 567-572, 2010.

S. MOYLAN, M. MAES, N.R. WRAY, M. BERK The neuroprogressive nature of major depressive disorder: pathways to disease evolution and resistance, and therapeutic implications. **Mol. Psychiatry**, 18 (2013), pp. 595-606.

S.Y. LEE, S.J. LEE, C. HAN, A.A. PATKAR, P.S. MASAND, C.U.PAE.

Oxidative/nitrosative stress and antidepressants: targets for novel antidepressants

SABINO V, COTTONE P, et al (2009) Sigma-1 receptor knockout mice display a depressive-like phenotype. **Behavioural brain research** 198(2): 472-476.

SABINO V, COTTONE P, PARYLAK SL et al (2009) Sigma-1 receptor knockout mice display a depression-like phenotype. **Behav Brain Res** 198:472–476, 2009.

SABINO V, COTTONE P, PARYLAK SL, STEARDO L, ZORRILLA EP. Sigma-1 receptor knockout mice display a depressive-like phenotype. **Behavioural brain research**. 2009;198(2):472-476.

SAKLANI, A.; KUTTY, S. K. Plant-derived compounds in clinical trials. **Drug Discovery Today**, v. 13, p. 161-171. 2008.

SANDERS, P.; KORF, J. Neuroaetiology of chronic fatigue syndrome: an overview. **World J. Biol. Psychiatry**, v.8, p.1-7, 2007.

SAPOLSKY RM, KREY LC, MCEWEN BS. The neuroendocrinology of stress and aging: the glucocorticoid cascade hypothesis. **Endocr Rev** 7(3):284-301, 1986.

SARANDOL, A., SARANDOL, E., EKER, S.S., ERDINC, S., VATANSEVER, E., KIRLI, S. Major depressive disorder is accompanied with oxidative stress: short-term antidepressant treatment does not alter oxidative-antioxidative systems. **Hum Psychopharmacol**. 22 (2), 67–73, 2007.

SAVITZ, JONATHAN, IRWIN LUCKI, AND WAYNE C DREVETS. 5-HT_{1A} Receptor Function in Major Depressive Disorder. **Progress in neurobiology** 88.1: 17–31. 2009.

SCHWARZ, D.; KAVRAKI, L. E. Protein–ligand interactions: Computational docking, **eLS**, 2006.

SEEDAT S, SCOTT KM, ANGERMEYER MC, BERGLUND P, BROMET EJ, BRUGHA TS, DEMYTTENAERE K, DE GIROLAMO G, HARO JM, JIN R, KARAM EG, KOVESSMASFETY V, LEVINSON D, MEDINA MORA ME, ONO Y, ORMEL J, PENNELL BE, POSADA-VILLA J, SAMPSON NA, WILLIAMS D, KESSLER RC. Cross-

national associations between gender and mental disorders in the World Health Organization World Mental Health Surveys. **Arch Gen Psychiatry**. 66(7):785, 2009.

SEEMAN P (2008) All Psychotic Roads Lead to Increased Dopamine D2High Receptors: A Perspective. **Clinical Schizophrenia & Related Psychoses** 1:351-355.

SERRETTI A, LATTUADA E, CUSIN C, et al. Clinical and demographic features of psychotic and nonpsychotic depression. **Compr Psychiatry**. 40:358–62, 1999.

SHIRAYAMA Y, CHEN AC, NAKAGAWA S, RUSSELL DS, DUMAN RS. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. **J Neurosci** 22:3251–61, 2002.

SHIRAYAMA Y, HASHIMOTO K: A case of psychotic depression treated with fluvoxamine monotherapy. *Clin Psychopharmacol Neurosci* , 8:53-54, 2010.

SILVA MC, DE SOUSA CN, SAMPAIO LR, et al. Augmentation therapy with alpha-lipoic acid and desvenlafaxine: a future target for treatment of depression? **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol** 386(8): 685-95, 2013.

SILVA MC, DE SOUSA CN, GOMES PX, DE OLIVEIRA GV, ARAÚJO FY, XIMENES NC, DA SILVA JC, VASCONCELOS GS, LEAL LK, MACÊDO D, VASCONCELOS SM. Evidence for protective effect of lipoic acid and desvenlafaxine on oxidative stress in a model depression in mice. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**. 4;64:142-8, 2016.

SILVA MT. Prevalência auto-referida de depressão e uso de antidepressivos na população adulta do Distrito Federal (dados preliminares). **Tese de Doutorado**. Universidade de Brasília, 2012.

SILVA, FAN. Avaliação antioxidante de 3,5-dimetil isoxazol, pirazóis e tiazóis utilizando o método ORAC (Capacidade de Absorção de Radicais Oxigênio). Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo-USP, 2010.

SILVEIRA AL. Toxicidade pré-clínica dos análogos das riparinas I, II e III utilizando modelos in vitro – Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Paraíba/CCS. João Pessoa, 83p.:il. 2007.

TYLER WJ, ALONSO M *et al.* From Acquisition to Consolidation: On the Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor Signaling in Hippocampal-Dependent Learning. **Learn. Mem.** 9: 224-237, 2002.

ALONSO M, VIANNA MR, DEPINO AM, MELLO E SOUZA T, PEREIRA P, SZAPIRO G, VIOLA H, PITOSI F, IZQUIERDO I, MEDINA JH. BDNF-triggered events in the rat hippocampus are required for both short- and long-term memory formation. **Hippocampus**. 12(4):551-60, 2002.

SILVERTHORN, D. U. Fisiologia Humana – uma abordagem integrada, 5ª ed., **Ed. Artmed**, RS. ISBN 9788536322841. 2010.

SIMIC, A.; SOKOVIC, M. D.; RISTIC, M.; GRUJIC-JOVANOVIC, S.; VUKOJEVIC, J.; MARIN, P. D. The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities. **Phytotherapy Research**, v. 18, p. 713-717, 2004.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: Universidade Federal de Santa Catarina, 1999. 821p.

SIUCIAK JA, LEWIS DR, WIEGAND SJ, LINDSAY RM. Antidepressant-like effect of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). **Pharmacol Biochem Behav** 56:131–7, 1997.

SMITH MH, PLOEGH HL, WEISSMAN JS. Road to ruin: Targeting proteins for degradation in the endoplasmic reticulum. **Science**; 334: 1086–1090, 2011.

SOBOCKI P, JÖNSSON B, ANGST J, REHNBERG C. Cost of depression in Europe. **J Ment Health Policy Econ**. 9(2):87, 2006.

SOUSA FCF, OLIVEIRA ICM, et al. Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of riparin I from *Aniba riparia* (Nees) Mez (Lauraceae) in mice. **Fundamental & Clinical Pharmacology** 28: 95–103. 2014.

SOUSA, CNS de. Efeitos comportamentais e neuroquímicos de ácido alfa- lipóico e desvenlafaxina em modelo animal de depressão induzido por corticosterona / Caren Nádia Soares de Sousa. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina. 2015.

SOUSA, FCF, OLIVEIRA. ICM et al. Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of riparin I from *Aniba riparia* (Nees) Mez (Lauraceae) in mice. **Fundamental & Clinical Pharmacology** 28, 95–103, 2014.

STAHL SM, ZHANG L, DAMATARCA C, GRADYM. Brain circuits determine destiny in depression: a novel approach to the psychopharmacology of wakefulness, fatigue, and executive dysfunction in major depressive disorder. **J Clin Psychiatry** 64(Suppl 14):6– 17, 2013.

STEGER, MICHAEL F., AND TODD B. KASHDAN. Depression and Everyday Social Activity, Belonging, and Well-Being. **Journal of counseling psychology** 56.2 : 289–300, 2009.

STROBER M, CARLSON G. Bipolar illness in adolescents with major depression: clinical, genetic, and psychopharmacologic predictors in a three- to four-year prospective follow-up investigation. **Arch Gen Psychiatry**. 39:549–555, 1982.

SU, T. P., HAYASHI, T. Understanding the molecular mechanism of sigma-1 receptors: towards hypothesis that sigma-1 receptors are intracellular amplifiers for signal transduction. **Curr. Med. Chem.** 10, 2073-2080, 2003.

TALELE, T. T.; KHEDKAR, S. A.; RIGBY, A. C. Successful applications of computer aided drug discovery: moving drugs from concept to the clinic. **Curr Top Med Chem** v. 10, p. 127– 141, 2010.

TEIXEIRA CPL, DE MELO CTV, et al. Antidepressant-like effect of riparin II from *Aniba riparia* in mice: evidence for the involvement of the monoaminergic system. **Fundamental & Clinical Pharmacology** 27: 129–137. 2013.

TERUO HAYASHI. Conversion of psychological stress into cellular stress response: Roles of the sigma-1 receptor in the process. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**; 69: 179–191. 2015.

THAKUR M, HAYS J, KISHNAN KRR. Clinical, demographic and social characteristics of psychotic depression. **Psychiatry Res.** 86:99–106, 1999.

THAKUR M, HAYS J, RANGA K, KRISHNAN R. Clinical, demographic and social characteristics of psychotic depression. **Psychiatry Res.** 86:99-106, 1999.

TORRES, R.M.; MIRALLES, R.; GARCIA-CASELLES, M.P.; ARELLANO, M.; AGUILERA, A.; PI-FIGUERAS, M.; CERVERA, A.M. Observational scale and geriatric depression scale of Yesavage to identify depressive symptoms in older patients. **Arch Gerontol Geriatr Suppl.**, v.9, p.437-442, 2004.

TSE YC, BAGOT RC, WONG TP. Dynamic regulation of NMDAR function in the adult brain by the stress hormone corticosterone. **Frontiers in Cellular Neuroscience.** 6:9, 2012.
UNLAP, T., JOPE, R.S.. Inhibition of NFkB DNA binding activity by glucocorticoids in rat brain. **Neurosci Lett.** 198 (1), 41–44, 1995.

VALENTINE, J.F., NICK, H.S. Glucocorticoids repress basal and stimulated manganese superoxide dismutase levels in rat intestinal epithelial cells. **Gastroenterology.** 107 (6), 1662–1670, 1994.

VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOL J, CRONIN MT, MAZUR M, TELSERS J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Int. J. Biochem. Cell Biol.** 39(1):44–84, 2007.

VASCONCELOS AS, OLIVEIRA ICM ET al. (2015) Subchronic administration of riparin III induces antidepressive-like effects and increases BDNF levels in the mouse hippocampus. **Fundamental & Clinical Pharmacology** 29:394–403.

VASCONCELOS, A S. Efeito antidepressivo da riparina iii em camundongos submetidos ao modelo de estresse induzido pela administração de corticosterona. **Dissertação**. Universidade Federal do Ceará, 2015.

VILLARD V, MEUNIER J, CHEVALLIER N, MAURICE T: Pharmacological interaction with the sigma1-receptor in the acute behavioral effects of antidepressants. **J Pharmacol Sci**, 115, 279–292, 2011.

VYAS A, MITRA R, SHANKARANARAYANA RAO BS, CHATTARJI S. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. **J Neurosci**. 1;22(15):6810-8, 2002.

VYTHILINGAM M, CHEN J, BREMNER JD, MAZURE CM, MACIEJEWSKI PK, NELSON JC. Psychotic depression and mortality. **Am J Psychiatry**.160:574-576, 2003.

WALESIUK A, et al (2006) *Ginkgo biloba* normalizes stress- and corticosterone-induced impairment of recall in rats. **Pharmacological Research** 53:123–128.

WALESIUK A, et al. *Ginkgo biloba* normalizes stress- and corticosterone-induced impairment of recall in rats. **Pharmacological Research** 53:123–128, 2006.

WANG J, MACK AL, COOP A, MATSUMOTO RR: Novel sigma 1 receptor agonists produce antidepressant-like effects in mice. **Eur Neuropsychopharmacol**, 17, 708–716, 2007.

WEISSMAN MM, PRUSOFF BA, MERIKANGAS KR. Is delusional depression related to bipolar disorder? **Am J Psychiatry**. 141:892–893, 1984.

WEISSMAN MM, WARNER V, JOHN K, et al. Delusional depression and bipolar spectrum: evidence for a possible association from a family study of children. **Neuropsychopharmacology**. 1:257–264 , 1988.

WIEHE M, FUCHS SC, MOREIRA LB, MORAES RS, PEREIRA GM, GUS M, FUCHS FD. Absence of association between depression and hypertension: results of a prospectively designed populationbased study. **J Hum Hypertens**. 20:434-439, 2006.

WOLKOWITZ OM, REUS VI, WEINGARTNER H ET AL. Cognitive effects of corticosteroids. **Am J Psychiatry** 147(10):1297-1303, 1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Mental health: depression (Página na Internet). Disponível em: http://www.who.int/mental_health/management/depression/definition/en/. Acesso em setembro de 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/254610/1/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf?ua=1>. Acesso em 03 de setembro de 2017.

WU A, YING Z, GOMEZ-PINILLA F. The interplay between oxidative stress and brain-derived neurotrophic factor modulates the outcome of a saturated fat diet on synaptic plasticity and cognition. **Eur. J. Neurosci**. 2004;19(7):1699–1707.

Wu Z, Chen J, Yuan C, Hong W, Peng D, Zhang C, et al. Difference in remission in a Chinese population with anxious versus nonanxious treatment-resistant depression: a report of OPERATION study. **J Affect Disord**. 150(3):834–839, 2013.

WÜRBEL H, STAUFFACHER M, VON HOLST D. 1996. Stereotypies in laboratory mice. Quantitative and qualitative description of the ontogeny of ‘wire-gnawing’ and ‘jumping’ in Zur:ICR and Zur:ICR-nu. **Ethology** 102:371–385.

YAO, X., RAREY, K.E. Localization of the mineralocorticoid receptor in rat cochlear tissue. **Acta Otolaryngol**. 116 (3), 493–496, 1996.

YE, Y.; WANG, G.; WANG, H.; WANG, X. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) infusion restored astrocytic plasticity in the hippocampus of a rat model of depression, **Neuroscience Letters**, v.503, p.15– 19, 2011.

YI, L.; LIU, B.; LI, J.; LUO, L.; LIUA, Q.; GENG, D.; TANG, Y.; XIA, Y.; WUB, D. BDNF signaling is necessary for the antidepressant-like effect of naringenin. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.48, p. 135–141, 2014.

YOO, K. Y.; HWANG, I. K.; KIM, J. D.; KANG, I. J.; PARK, J.; YI, J. S.; KIM, J. K.; BAE, Y. S.; WON, M. H. Antiinflammatory effect of the ethanol extract of *Berberis koreana* in a gerbil model of cerebral ischemia/reperfusion. **Phytother. Res.**, v. 22, p. 1527, 2008.

YOSHIDA H, MATSUI T, YAMAMOTO A, OKADA T, MORI K. XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor. **Cell** ;107: 881–891, 2001.

YUNES, R. A.; CALIXTO, João Batista. **Plantas Medicinais sob a ótica da Química Medicinal Moderna**. Chapecó-SC, Argos: Editora Universitária, 2001. 297-315p.

ZAFIR, A e BANU, N , ‘Induction of oxidative stress by restraint stress and corticosterone treatments in rats’, **Indian Journal of Biochemistry & Biophysics**, vol. 46, no.1, pp. 53–58, 2009.

ZAMIR SM, et al. The effects of fluvoxamine on cognition in patients with schizophrenia. **European Psychiatry** 33:266-277, 2016.

ZANARDI R, FRANCHINI L, GASPERINI M, LUCCA A, SMERALDI E, PEREZ J. Faster onset of action of fluvoxamine in combination with pindolol in the treatment of delusional depression: a controlled study. **J Clin Psychopharmacol**. 18:441-446, 1998.

ZANARDI R, FRANCHINI L, GASPERINI M, PEREZ J, SMERALDI E. Double-blind controlled Trial of sertraline versus paroxetine in the treatment of delusional depression. **Am J Psychiatry**. 153:1631-1633, 1996.

ZENG LL, SHENH, LIU L, et al. Identifying major depression using whole-brain functional connectivity: a multivariate pattern analysis. **Brain** 135:1498–1507, 2012.

ZHAO, Y. et al. A mouse model of depression induced by repeated corticosterone injections.
European Journal of Pharmacology, v. 581, n. 1–2, p. 113–120, 2008.