

Universidade Federal da Paraíba

Centro de Ciências Humanas Letras e Artes

Programa de Pós-Graduação em Neurociência Cognitiva e Comportamento

HUMBERTO HUGO NUNES DE ANDRADE

**ESTUDO NÃO CLÍNICO DO PERFIL PSICOFARMACOLÓGICO DO
ÁLCOOL CINÂMICO**

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Reinaldo Nóbrega de Almeida

JOÃO PESSOA – PB

2019

HUMBERTO HUGO NUNES DE ANDRADE

**ESTUDO NÃO CLÍNICO DO PERFIL PSICOFARMACOLÓGICO DO
ÁLCOOL CINÂMICO**

**Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Neurociência Cognitiva e
Comportamento do Centro de Ciências
Humanas e Letras da Universidade
Federal da Paraíba, para obtenção do
título de MESTRE EM
NEUROCIÊNCIA COGNITIVA E
COMPORTAMENTO. Área de
concentração:
PSICOFARMACOLOGIA.**

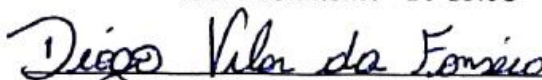
BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Reinaldo Nóbrega de Almeida
Orientador



Prof. Dr. Mirian Graciela da Silva Stiebbe Salvadori
Membro Interno - PPGNeC



Prof. Dr. Diogo Vilar da Fonseca
Membro Externo ao Programa – UNIVASF

A553e Andrade, Humberto Hugo Nunes de.

Estudo não clínico do perfil psicofarmacológico do
álcool cinâmico / Humberto Hugo Nunes de Andrade. -
João Pessoa, 2019.

85 f. : il.

Orientação: Reinaldo Nóbrega Almeida.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCHLA.

1. Álcool Cinâmico. 2. Atividade farmacológica. 3.
Sistema nervoso central. 4. Ansiedade. 5. Depressão. 6.
Nocicepção. I. Almeida, Reinaldo Nóbrega. II. Título.

UFPB/BC

*Aos meus pais, **Humberto Nunes de Andrade e**
Maria Minervina Lúcia de Andrade,
Por tudo que sou hoje, dedico.*

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pela benção concedida a cada dia de luta.

Ao Prof. Dr. **Reinaldo Nóbrega de Almeida**, uma referência não só como pesquisador, mas também como pessoa. Agradeço pela paciência e pelos sábios ensinamentos que sempre me acompanharão e servirão de referência na minha vida pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. **Damião Pergentino de Sousa**, pela colaboração direta e fornecimento da substância estudada.

A Coordenação do Programa de Pós-graduação em Neurociência Cognitiva e Comportamento, Prof. Dr. **Nelson Torro Alves** (coordenador) e Prof^a. Dr^a. **Mirian Graciela da Silva Stiebbe Salvadori** (vice-coordenadora) pela competência na condução deste programa.

A todos os professores do Curso de Pós-graduação, pelos ensinamentos científicos e lições de vida.

A todos os amigos da minha turma do mestrado, **Erikson Bonifácio, Gabriela Rique, João Martins, Laysa Soares, Máira Lopes, Marco Antônio, Mônica Rodrigues, Petra Rodrigues, Poliana Rafaela, Rafaela Martins, Valfredo Felinto e Wanessa Kallyne** pelo companheirismo e incentivo.

Em especial, a **Poliana Rafaela** e **Laysa Soares**, companheiras inseparáveis de todos os momentos, que me acompanham desde a graduação e **Máira Lopes**, amiga que fiz nesses dois anos de mestrado.

A todos os meus amigos que sempre me incentivaram e proporcionaram muitas alegrias; **Kaenio Almeida, Giovanna Carvalho, Rayssa Paola**.

Aos alunos de iniciação científica do Laboratório de Psicofarmacologia, **Humberto Neto, Diego Caldas e Terezinha Araújo**, pela colaboração na parte experimental e pela amizade construída.

Aos Pós-graduandos do Laboratório de Psicofarmacologia, **Renan Braga, Ryldene Marques, Alefe Monteiro, Poliane Calixto, Thallita Nascimento, Aline Kelly, Davison Assis e Érika Guedes**, pela constante ajuda.

Em especial, a **Renan Braga, Ryldene Marques e Alefe Monteiro**, amigos que fiz na convivência diária do laboratório, muito obrigado pelos ensinamentos, apoio, risadas, carinho e força.

Ao senhor **Josué**, funcionários do Laboratório, pelos serviços prestados.

A **José Crispim e Roberta Parentoni**, pela disponibilidade e apoio técnico imprescindível na execução deste trabalho.

Ao Biotério Prof. Dr. **Thomas George** do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica pelo fornecimento dos animais.

Aos Amigos do Laboratório de Pesquisa e Extensão Saúde Mental e Neurociência (LAPESN). Em especial, ao Prof. Dr. **João Euclides, Gabriel Chaves e Flávia Maiele**, amigos de longas datas que me apoiaram nessa caminhada.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

A Universidade Federal da Paraíba.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a execução deste trabalho.

ANDRADE, H. H. N. **Estudo não clínico do perfil psicofarmacológico do álcool cinâmico**. 2019. 85f. **Dissertação** (Mestrado Neurociência Cognitiva e Comportamento) – UFPB / CCHLA, João Pessoa/PB.

RESUMO

O álcool cinâmico (AC) é um fenilpropanóide encontrado no óleo essencial da casca da canela. Análogos do AC possuem efeito no Sistema Nervoso Central descrito na literatura, entretanto não há relatos de estudos da atividade farmacológica do álcool cinâmico. Na triagem farmacológica comportamental, as diferentes doses testadas pela via intraperitoneal (12,5; 25; 50; 100; 200mg/kg) apresentaram alterações comportamentais psicodepressoras, tais como ambulação diminuída, ptose palpebral, analgesia e perda do reflexo auricular. Não foram observados mortes. A DL_{50} foi estimada em aproximadamente 500 mg/kg, seguindo o protocolo da OECD 432. Nos experimentos subsequentes foram elencadas as doses de 12,5, 25, 50, 100 e 200 mg/kg (i.p.). No teste do campo aberto verificou-se que o AC apresenta um perfil de droga psicodepressora, pois houve uma diminuição significativa em parâmetros como ambulação e rearing dos animais. Através do teste do rota-rod pôde-se constatar que os animais tratados com o AC não apresentaram alterações na coordenação motora, descartando um possível efeito neurotóxico ou miorelaxante. Para avaliação da atividade ansiolítica, o teste do labirinto em cruz elevado não apresentou alterações significativas no tempo de permanência nos braços abertos, mostrando uma não atividade ansiolítica do AC. No teste do nado forçado o AC aumentou o tempo de imobilidade dos camundongos submetidos ao protocolo, reforçando o efeito depressor, apresentados nos testes preliminares. No teste da formalina houve diminuição do tempo de lambida nas duas fases, evidenciando que o AC promove antinocicepção central.

Palavras chaves: Álcool Cinâmico, Atividade farmacológica, Sistema nervoso central, Ansiedade, Depressão, Nocicepção.

ABSTRACT

Cinnamic alcohol (AC) is a phenylpropanoid found in the essential oil of cinnamon bark. AC analogs have effect in the Central Nervous System already reported in the literature, however there are no reports of studies of the pharmacological activity of cinnamic alcohol. In the behavioral pharmacological screening, the different doses tested by the intraperitoneal route (12.5, 25, 50, 100 and 200mg / kg) presented psychodepressive behavioral alterations, such as decreased ambulation, ptosis eyelid analgesia and loss of atrial reflex. No deaths were observed. LD50 was estimated to be approximately 500 mg / kg, following the protocol of OECD 432. In the subsequent experiments, doses of 12.5, 25, 50, 100 and 200 mg / kg (i.p.) were listed. In the open field test it was verified that the AC presents a psychodepressive drug profile, because there was a significant decrease in parameters such as ambulation and rearing of the animals. Through the rota-rod test, it was possible to verify that the animals treated with AC had no alterations in motor coordination, ruling out a possible neurotoxic or myorelaxant effect. In order to evaluate the anxiolytic activity, the high labyrinth test did not show significant changes in the length of stay in the open arms, showing a non-anxiolytic AC activity. In the forced swimming test, CA increased the immobility time of the mice submitted to the protocol, reinforcing the depressor effect, presented in the preliminary tests. In the formalin test there was a decrease in the licking time in the two phases, evidencing that CA promotes central antinociception.

Keywords: Cinnamic alcohol, Pharmacological activity, Central nervous system, Anxiety, Depression, Nociception.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química do álcool cinâmico (A), aldeído cinâmico (B) e ácido cinâmico(C).....	17
Figura 2 - Camundongo (<i>Mus Musculus</i>) albino.....	37
Figura 3 - Estrutura química do álcool cinâmico	39
Figura 4 – Aparelho utilizado no teste RotaRod.....	40
Figura 5 - Aparelho Utilizado no Teste do Campo Aberto.....	41
Figura 6 - Aparelho utilizado no Teste do Labirinto em Cruz Elevada.....	42
Figura 7 - Aparelho utilizado para o teste do nado forçado.....	42
Figura 8 - Aparelho Utilizado no Teste da Formalina.....	43
Figura 9 - Protocolo experimental da triagem comportamental.....	46
Figura 10 - Protocolo OECD 423. Procedimento de ensaio com dose inicial de 2000 mg / kg peso corporal.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tipos de Neurônios Sensoriais primários.....	28
Tabela 2 - Alterações comportamentais observadas nos animais tratados com álcool Cinâmico nas doses de , 200, 100, 50, 25 e 12,5 mg/kg.....	56

LISTA DE QUADROS E ESQUEMAS

Quadro 1 - Medidas farmacológicas e não-farmacológicas no tratamento da dor.....30

Esquema 1 - Metodologia experimental.....36

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Efeito do álcool cinâmico na dose de 200 mg/kg (i.p.) sobre o tempo de permanência na barra giratória no teste do rota rod.....57

Gráfico 2 – Efeito do álcool cinâmico nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg na ambulação no teste do campo aberto.....58

Gráfico 3 – Efeito do álcool cinâmico nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (i.p.) sobre número de grooming no teste do campo aberto.....59

Gráfico 4 – Efeito do álcool cinâmico nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (i.p.) sobre número de rearing no teste do campo aberto.....59

Gráfico 5 – Efeito do álcool cinâmico nas doses de 12,5 e 25 mg/kg (i.p.) sobre o tempo permanência nos braços abertos no LCE.....60

Gráfico 6 – Efeito do álcool cinâmico nas doses de 12,5 e 25 mg/kg (i.p.) número de entrada nos braços abertos.....61

Gráfico 7 - Efeito do álcool cinâmico nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg (i.p.) sobre o tempo de imobilidade no teste do nado forçado.....61

Gráfico 8 - Efeito do álcool cinâmico nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (i.p.) sobre o tempo de lambida pata no teste da formalina (1ª fase).....62

Gráfico 9- Efeito do álcool cinâmico nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (i.p.) sobre o tempo de lambida pata no teste da formalina (2ª fase).....63

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	Por cento
±	Mais ou menos
μL	Microlitros
α	Alfa
β	Beta
σ	Delta
°C	Graus Celsius
®	Marca Registrada
AC	Álcool Cinâmico
ANOVA	Análise de variância
BZDs	Benzodiazepínicos
CCS	Centro de Ciências da Saúde
Cm	Centímetro
DL ₅₀	Dose Letal Mediana
DSM 5	Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
e.p.m.	Erro padrão da média
et al.	E colaboradores
Ex	Exemplo
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GABAA	Receptor para o ácido gama-aminobutírico tipo A
h	Hora(s)
IASP	Associação Internacional para o Estudo da Dor
iMAO	Inibidores da monoamina oxidase
i.p.	Intraperitoneal
ISRN	Inibidor seletivo da recaptação de noradrenalina
ISRS	Inibidor seletivo da recaptação de serotonina
mg	Miligrama(s)
min	Minutos
mg/kg	Miligramas por quilograma
mL	Mililitros
MORF	Morfina
N	Número de animais
NA	Noradrenalina
OE	Óleo Essencial
OECD	Guidelines for the Testing of Chemicals
OMS	Organização Mundial da Saúde
PNAD	Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílio
R.p.m	Rotação por minuto
s	Segundo(s)

SAL	Salina
SNC	Sistema Nervoso Central
TI	Tempo de Imobilidade
TP	Transtorno do Pânico
TOC	Transtorno Obsessivo Compulsivo
TAG	Transtorno de Ansiedade Generalizada
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
5HT1A	Receptor serotoninérgico

OBS.: As abreviaturas e os símbolos utilizados neste trabalho e que não constam nesta relação encontram-se descritos no texto ou são convenções adotadas universalmente.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.1 Considerações sobre a Psicofarmacologia.....	19
2.2 Atividade Ansiolítica.....	20
2.3 Depressão.....	24
2.4 Dor.....	25
2.4.1 Fisiologia da dor.....	29
2.4.2 Principais formas de tratamento da dor.....	30
2.5 Produtos naturais.....	31
2.6 Álcool cinâmico.....	31
3. OBJETIVOS.....	34
3.1 Geral.....	34
3.1.2 Específicos.....	34
4. MATERIAL e MÉTODOS.....	37
4.1 MATERIAL.....	37
4.1.1 Condições experimentais.....	38
4.1.2 Substâncias utilizadas.....	38
4.1.3 Especificações do álcool cinâmico.....	39
4.1.4 Preparação do Álcool Cinâmico	39
4.1.5 Aparelho Utilizado no Teste do Rota-rod.....	40
4.1.6 Aparelho Utilizado no Teste do Campo Aberto.....	40
4.1.7 Aparelho utilizado no Teste do Labirinto em Cruz Elevada.....	41
4.1.8 Aparelho utilizado no teste do Nado Forçado.....	42
4.1.9 Aparelho Utilizado no Teste da Formalina.....	42
4.2 MÉTODO.....	43
4.2.1 Estimativa da DL50	43

4.2.2	Triagem farmacológica comportamental.....	44
4.2.3	Avaliação da coordenação motora (teste do rota-rod).....	47
4.2.4	Teste do Campo Aberto.....	48
4.2.5	Teste do Labirinto em Cruz Elevada (LCE).....	49
4.2.6	Teste do Nado Forçado.....	50
4.2.7	Teste da Formalina.....	51
5.	RESULTADOS.....	53
5.1	Estimativa da dose letal 50% (DL ₅₀).....	54
5.2	Efeito do Álcool cinâmico na triagem farmacológica comportamental..	55
5.3	Testes gerais para avaliação da atividade no SNC.....	57
5.3.1	Teste do Rota rod.....	57
5.3.2	Teste do Campo Aberto.....	58
5.5	Teste do labirinto em cruz elevado.....	60
5.6	Nado Forçado.....	61
5.7	Teste de Formalina.....	62
6.	DISCUSSÃO.....	65
7.	CONCLUSÃO.....	74
8.	REFERÊNCIAS	75

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Produtos naturais constituem uma valorosa fonte de substâncias com atividades farmacológicas. Alguns compostos oriundos de plantas viabilizam moldes estruturais para o desenvolvimento de substâncias sintéticas. Há muito tempo, plantas com atividade psicoativa têm sido utilizadas com finalidades terapêuticas. A investigação farmacológica de produtos naturais com atividade no Sistema Nervoso Central (SNC) tem beneficiado a compreensão das bases neuroquímicas de muitas doenças, como: ansiedade, depressão, além do tratamento da dor crônica e aguda (Passos, 2009).

De acordo com o DSM V a ansiedade é a antecipação de ameaça futura. Estando mais frequentemente associada a tensão muscular e vigilância em preparação para perigo futuro e comportamentos de cautela ou esquivas. É considerada um sinal de alerta que indica um perigo iminente e prepara a pessoa a tomar decisões para lidar com a ameaça. Esta ameaça é desconhecida, interna, vaga ou conflituosa (Sadock, 2016).

Os transtornos de ansiedade são os mais prevalentes dentre os transtornos mentais (12,6%/ano). Um estudo multicêntrico realizado em seis países europeus avaliou a predominância dos transtornos ansiosos ao longo da vida, observando-se uma prevalência de 13,6% da população (Brentini, 2018). Oliveira, (2006) destaca que sintomas de ansiedade, na maioria das vezes, podem vir associado a transtornos depressivos e a doenças físicas.

A depressão é uma condição médica comum, crônica e recorrente, associada frequentemente a incapacitação funcional e comprometimento da saúde física (Fleck, 2003). Atinge cerca de 121 milhões de pessoas em todo o mundo, sendo considerado um grande problema de saúde pública. No Brasil, de acordo com a Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (PNAD) de 2008, 9,2% das pessoas com 60 anos ou mais declararam sofrer de depressão (Prata, 2011).

Outro transtorno envolvendo o SNC é a dor, que foi definida pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) como uma experiência sensorial e emocional desagradável relacionado a uma injúria tecidual real ou potencial (Santos et al, 2015). Cerca de 117 milhões dos norte americanos, referem pelo menos uma condição de saúde crônica, destes, cerca de 33% apresentam múltiplas condições crônicas (Millstein, 2018). No Brasil a prevalência da dor crônica varia entre 28 e 41% da população (Posso et al, 2016).

Dentre as modalidades de tratamento destes transtornos, o tratamento farmacológico tem uma maior utilização devido a sua eficácia comprovada. Entretanto ressalta-se a importância do estudo com produtos naturais como estratégia para o desenvolvimento de novos fármacos analgésicos (Barreiro; Bolzani, 2009).

Dentre os produtos naturais os óleos essenciais (OE) tem se destacado por apresentarem atividade no SNC. Pesquisas têm comprovado efeitos dos OEs utilizados habitualmente por populações de vários países no tratamento de problemas relacionados com o sistema nervoso, como ansiedade, depressão e insônia (Machado, 2011; Costa, 2013).

Atualmente, foram identificadas aproximadamente 250 espécies do gênero de canela no mundo inteiro com utilização para diversas finalidades terapêuticas (Rao & Gan, 2014).

Cinnamomum cassia (Lauraceae) é uma espécie de árvore de folha perene, comum na Coreia, China e no Japão, conhecida comumente por “canela-aromática” e tem sido utilizada farmacologicamente na medicina popular com a finalidade de tratar várias doenças inflamatórias (Seo et al., 2005). Seus extratos contêm diversos

componentes ativos, como; álcool cinâmico, aldeído cinâmico e ácido cinâmico (Figura 1).

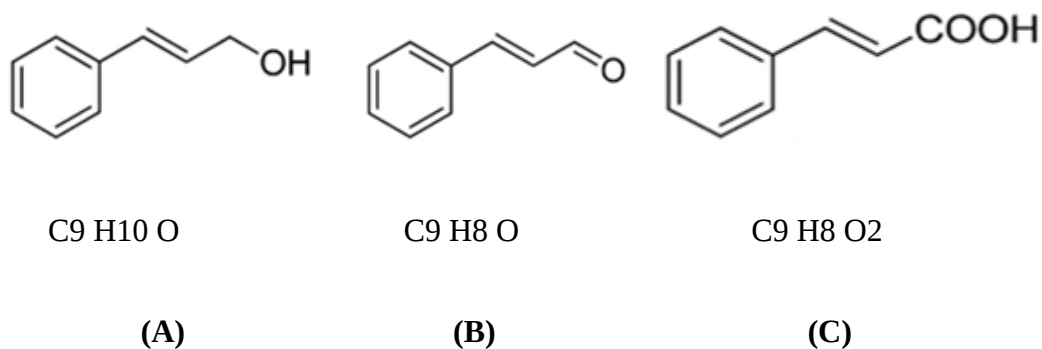


Figura 1 – Estrutura química do álcool cinâmico (A), aldeído cinâmico (B) e ácido cinâmico(C)

Fonte: Pubchem 2018.

Nas últimas décadas, estudos mostraram que o ácido cinâmico e seus derivados possuem uma variedade de atividades biológicas, incluindo; anticancerígenos, anti-inflamatórios, anti-hepatotóxico, antimicrobianos, antivirais, dentre outros (Cuan et al., 2017). O álcool cinâmico é um fenilpropanóide de cor branca para amarelo sólido naturalmente encontrado no óleo essencial da casca da canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) solúvel em água e glicerol (PUBCHEM, 2018).

REFERENCIAL

TEÓRICO

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Considerações sobre a Psicofarmacologia

Psicofarmacologia é a parte da farmacologia que direciona seus estudos para drogas com atividade no sistema nervoso central (SNC) e seus efeitos sobre processos cerebrais como a cognição, o humor e outros fenômenos psicológicos (Nutt; Lingfordhughes, 2004; Almeida, 2006).

Os fármacos que atuam modificando o funcionamento do SNC são definidas como psicofármacos, representando umas das mais importantes classes de medicamento. Podem ser classificadas em grandes grupos, tentando abranger um maior número de fármaco com ação sobre o SNC (Almeida; Barbosa-filho, 2006):

- Psicoanalépticos - estimulam a atividade do SNC. Abrangem as drogas que excitam o psiquismo, reduzindo a depressão, melhorando o humor e induzindo o estado de vigília. (Almeida, 2006);

- Psicolépticos – Redução da atividade do SNC. Contemplam esta classe os ansiolíticos, hipnóticos, neurolépticos, analgésicos opióides, álcoois, anestésicos gerais e anticonvulsivantes (Almeida, 2006);

- Psicodislépticos – Caracterizadas por gerar fenômenos psicopatológicos relacionados a sensopercepção, pensamento e atividade motora. Trata-se de uma classe de drogas perturbadoras de atividade do SNC, sendo também chamadas de alucinógenos. Podem ser: alucinógenos verdadeiros [ex: êxtase, dietilamida do ácido lisérgico (LSD) e heroína] e alucinógenos secundários (ex: atropina e escopolamina) (Almeida; Barbosa filho, 2006);

- Parapsicotrópicos – Empregado frequentemente na clínica psiquiátrica e/ou neurológica, não apresentam um perfil adequado a nenhuma das classes anteriores. São exemplos destes, os estabilizadores do humor, as drogas usadas para o tratamento do alcoolismo e as drogas antiparkinsonianas (Almeida, 2006).

Na psicofarmacologia, os modelos animais têm sido utilizados para o estudo de fármacos ou neurobiologia dos transtornos mentais, na tentativa de melhor conhecer os mecanismos das doenças e seus tratamentos. Os produtos naturais representam uma importante fonte de pesquisa de psicofármacos, já que muitos desses podem exercer efeitos sobre a consciência, emoção e cognição (Schanaider; Silva, 2004; Almeida, 2006; Passos et al., 2009).

2.2 Ansiedade

De acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5) os transtornos de ansiedade incluem transtornos que compartilham características de medo e ansiedade excessivos. Medo é a resposta emocional a ameaça iminente real ou percebida, enquanto ansiedade é a antecipação de ameaça futura. Esse dois estados se diferenciam, com o medo sendo mais frequentemente associado a períodos de excitabilidade autonômica aumentada, necessária para luta ou fuga, e a ansiedade sendo mais frequentemente associada a tensão muscular e vigilância em preparação para perigo futuro e comportamentos de cautela ou esquiva (Associação Americana de Psiquiatria, 2013).

A ansiedade e o medo são emoções fisiológicas adaptativas servindo como mecanismo de defesa. No entanto, quando estes estados adaptativos tornam-se traços de um indivíduo, estes podem ser danosos tanto fisicamente, quanto psicologicamente

(Sylvers, 2011). A ansiedade normal e o medo patológico são manifestados por distúrbios de humor, comportamento e pensamento (Almeida et al., 2004).

Diferenciam-se pois, o medo é um estado emocional aversivo em que o organismo é motivado para escapar de uma ameaça específica e iminente, enquanto, a ansiedade, é um estado emocional aversivo que ocorre quando um organismo se aproxima de uma ameaça ambígua e incerta (Leite; Siqueira, 2006; Sylvers, 2011). Os transtornos de ansiedade patológicos se diferenciam do medo ou da ansiedade adaptativos por serem excessivos ou persistirem além de períodos apropriados ao nível de desenvolvimento (Associação Americana de Psiquiatria, 2013).

Os principais sintomas provocados pela ansiedade são as disfunções do sistema nervoso autônomo como aumento da frequência cardíaca e força de contração, dispneia, aumento da secreção gástrica, urgências de micção e defecação, sudorese, tensão muscular, sensação de medo e estresse psicológico, levando o paciente a referir dor (Graeff; Guimarães, 1999, Almeida et al., 2010).

O diagnóstico de cada tipo de transtorno de ansiedade ocorre quando os sintomas não são frutos dos efeitos fisiológicos do uso de substâncias ou de outra condição médica (Associação Americana de Psiquiatria, 2013). Os transtornos da ansiedade são variados no que diz respeito às suas manifestações, bem como a resposta terapêutica (Jardim et al., 1999). A ansiedade patológica é um fenômeno heterogêneo incluindo o transtorno de pânico (TP), o transtorno obsessivo-compulsivo (TOC), as fobias, o transtorno de ansiedade generalizada (TAG), a agorafobia e o transtorno de estresse pós-traumático (Teixeira; Zangrossi JR.; Graeff, 2000; Graeff; Del-bem, 2008).

No transtorno de ansiedade social (fobia social), o indivíduo se esquia de interações e situações sociais que envolvem a possibilidade de ser avaliado, evitando

situações de exposição a pessoas que não são familiares, a ideação cognitiva associada é a de ser avaliado negativamente (Associação Americana de Psiquiatria, 2013).

A principal característica do TP é a ocorrência de ataques de pânico repetidamente e inesperadamente, aflorando sentimentos de medo e pavor, acompanhados por sintomas neurovegetativos marcantes. O tratamento preventivo para este tipo de desordem pode levar o indivíduo a desenvolver agorafobia, o que leva o paciente a ficar temeroso de sair de casa desacompanhado (Graeff; Del-bem, 2008). As características essenciais do transtorno de ansiedade generalizada são ansiedade e preocupação excessivas, com intensidade e duração ou frequência da ansiedade desproporcional à realidade (Graeff; Del-bem, 2008; Associação Americana de Psiquiatria, 2013). Os transtornos de ansiedade vêm se tornando doenças cada vez mais comuns, e, estando associado a outros transtornos psiquiátricos, o que leva a uma diminuição na qualidade de vida do paciente (Almeida et al., 2004; Seo et al., 2007; Linck et al., 2010; Zalta, 2011).

O tratamento farmacológico para estas desordens provoca altos custos, gerando um importante problema de saúde pública em países desenvolvidos (Almeida et al., 2004). As drogas capazes de reduzir a ansiedade estão representadas pelos benzodiazepínicos (BZDs), por exemplo: diazepam, lorazepam, oxazepam, midazolam, triazolam, dentre outros (Abreu; Acúrcio; Resende, 2000).

A descoberta do primeiro benzodiazepínico (clordiazepóxido), com eficácia em termos ansiolíticos, ampliou a pesquisa na área da ansiedade, promovendo uma maior validação farmacológica dos modelos animais. Os fármacos da classe dos benzodiazepínicos apresentam atividade ansiolítica, hipnótico/sedativa, anticonvulsivante e relaxante muscular. Sendo sua modulação alostérica de receptores

GABA_A, responsável por sua atividade ansiolítica, aumentando a transmissão nervosa mediada pelo GABA. (Stahl, 2000; Fenner, 2006).

Os BZDs agem no receptor de ácido gama-aminobutírico tipo A (GABA_A), atuando na regulação de processos emocionais, modulando quadros de ansiedade (Savić et al., 2006; Depino, 2008). Ao se ligar ao receptor, os BZDs levam a uma mudança conformacional no mesmo, potencializando os efeitos do GABA, neurotransmissor inibidor do Sistema Nervoso Central (Sonavane et al., 2002) acarretando no aumento da capacidade do GABA em ativar seus receptores, levando a abertura dos canais de íons cloreto, consequentemente o influxo do mesmo, causando uma hiperpolarização celular (Andreatini, 2001).

Devido aos efeitos colaterais dos BZDs, como: sedação, amnésia, dependência, síndrome de abstinência e relaxamento muscular, e mesmo com a grande quantidade de medicamentos ansiolíticos disponíveis para comercialização, tem-se despertado o interesse da busca por novas drogas ansiolíticas por parte dos pesquisadores. (Seo et al., 2007). Diversas plantas medicinais apresentam efeito sobre o SNC, atuando em algumas condições, como, depressão, ansiedade e dor (Blanco et al., 2009).

2.3 Depressão

Os transtornos de humor são alterações patológicas episódicas no estado emocional, associadas a anormalidades na cognição e comportamento (American Psychiatric Association, 2013). Dentre os transtornos de humor, a depressão maior evidencia-se por ser uma das doenças neuropsiquiátricas mais frequentes (Wong & Licinio, 2001; Nestler et al., 2002). De acordo com Organização Mundial da Saúde (OMS), a depressão afeta 322 milhões de pessoas no mundo. Apresentou um crescimento de 18,4% no período de 2005 a 2015 (OMS, 2015). Em levantamento realizado em 2017, estimou-se que 5,8% da população brasileira sofre de depressão, o que representa 11,5 milhões de pessoas com a doença. O Brasil é o país com maior prevalência de depressão da América Latina e o segundo com maior prevalência no continente americano, seguido dos Estados Unidos, com 5,9% de pessoas acometidas pela depressão (OMS, 2017).

A etiologia da depressão ainda não foi totalmente esclarecida (Elhwuegi, 2004) porém já é sabido que apresenta um caráter multifatorial, podendo estar relacionado a fatores ambientais como, estresse emocional ou doença física, e também com fatores genéticos, em torno de 40 a 50% do risco de desenvolver o transtorno apresenta influência genética (Berton e Nestler, 2006). De acordo com o DSM-V, os transtornos de humor são classificados como transtorno depressivo maior, definido por episódios depressivos recorrentes e transtorno afetivo bipolar, que manifesta episódios de depressão alternados com episódios de mania ou hipomania (APA, 2013; Neis, 2013).

Os critérios para o diagnóstico da depressão maior se baseiam em sintomas, estabelecidos pelo DSM-V, como: humor deprimido quase todo o tempo, diminuição marcante no interesse ou prazer em todas ou quase todas as atividades, ganho ou perda

de peso ou apetite, insônia ou hipersônia, agitação ou retardo psicomotor, fadiga ou falta de energia, sentimentos de culpa ou desvalia excessivos, diminuição na capacidade de concentração e pensamentos recorrentes de morte ou ideação suicida (APA, 2013).

Grande parte dos fármacos disponíveis para o tratamento da depressão atuam na modulação dos sistemas monoaminérgicos, e a diminuição na função desses sistemas está associada ao transtorno (Hashimoto, 2011). Diversas classes de antidepressivos são utilizados para o tratamento da depressão, como os inibidores da monoamina oxidase (iMAO), tricíclicos, inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) e de noradrenalina (ISRN), além de antidepressivos atípicos (Morilak e Frazer, 2004; Lowry et al., 2008; de Fátima Cunha, 2018).

Contudo, estes fármacos garantem uma redução completa dos sintomas para apenas cerca de 50% dos indivíduos (Berton e Nestler, 2006), além de causarem efeitos colaterais como, ganho de peso, hipotensão, disfunção sexual, arritmia, dentre outros (Serretti e Mandelli, 2010; Neis, 2013) que pode levar a não adesão dos pacientes ao tratamento (Brunello et al., 2002). Outro ponto negativo é o tempo da resposta terapêutica destes fármacos, que chega a ocorrer de 3 a 5 semanas após início do tratamento. Em vista disso, evidencia-se a necessidade do desenvolvimento de substâncias capazes de aumentar a eficácia clínica no tratamento da depressão.

2.4 Dor

Desde a antiguidade, de acordo com os mais diversos registros, as civilizações buscam esclarecer as razões que expliquem a ocorrência da dor e idealizar procedimentos atribuídos ao seu controle (Maurício, 2009). A palavra “dor” vem do

latim: *dolore*, que significa sofrimento (Fein, 2011). A dor foi conceituada pela primeira vez em 1986 pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (*International Association for the Study of Pain – IASP*), sendo definida como uma experiência sensorial e emocional desagradável relacionado a uma injúria tecidual real ou potencial (Klaumann; Wouk; Sillas, 2008; Santos et al, 2015). Considerada um componente essencial do sistema de defesa do organismo (Fein, 2011).

A prevalência da dor crônica no Brasil é uma condição clínica bastante frequente, que acomete entre 28 e 41% da população (Posso et al, 2016). É considerada a principal causa de indenizações trabalhistas, absenteísmo, licenças médicas e baixa produtividade no trabalho (Bomfim, 2017). Na Europa aproximadamente 20% da população adulta tem dor crônica (Van Hecke, 2013). Nos EUA, cerca de 50% da população, referem pelo menos uma condição de saúde crônica, destes até 1/3 apresentam múltiplas condições crônicas (Millstein, 2018).

Classificada como uma das mais relevantes causas do sofrimento humano, a dor provoca incapacidade e comprometimento da qualidade de vida (Bomfim, 2017). É considerada como uma experiência complexa, onde envolve além da transdução do estímulo nociceptivo, o processamento cognitivo e emocional pelo encéfalo, encarregado pelas diferentes respostas comportamentais processadas pelo cérebro. (Julius; Basbaum, 2001; Scholz; Woolf, 2002).

A dor pode ser classificada em termos temporais, sendo aguda e crônica, de acordo com (Graeff, 1984; Teixeira; Pimenta, 1994):

Dor aguda: tem função de alerta e caracteriza-se pela combinação de lesão tecidual, dor e ansiedade. Dá-se devido à ativação das vias da dor e se faz acompanhar

de manifestações neurovegetativas, como, taquicardia e sudorese, desaparecendo com a resolução do processo patológico que lhe originou.

Dor crônica: Persiste por um maior período de tempo, geralmente, conduz estresse, debilidade, alterações de sono, humor e apetite. Sob o aspecto conceitual, a dor crônica pode estar associada a doenças crônicas ou decorrentes de lesão do SNC ou periférico.

Quanto à fisiopatologia, Menezes (1999) classifica a dor em:

Nociceptiva - ocorre quando existe um traumatismo nos receptores nociceptivos, devido a alterações na sua estrutura anátomo-funcional com liberação de substâncias algogênicas nos tecidos.

Neurogênica – Dano diretamente sobre as inervações.

Neuropática – Consequência do processamento somatossensorial anormal em nível periférico ou central, a exemplo, a dor do membro fantasma.

Inflamatória – caracterizada pela sensibilização dos neurônios produzidos pela ativação da cascata de citocinas, que são substâncias liberadas no tecido inflamatório e pelas células do sistema imunológico.

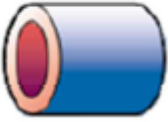
Psicogênica – Não possui causa orgânica, expressando-se em consequência de problemas psicológicos.

Importante destacar a diferença entre os termos: dor e nocicepção. A nocicepção está relacionada com o reconhecimento de sinais dolorosos pelo sistema nervoso, podendo ocorrer independente da dor, pois caracteriza-se como um processo fisiológico que não apresenta um componente subjetivo (Loeser; Treede, 2008; Klaumann; Wouk;

Sillas, 2008). A diferença primordial entre a dor crônica e aguda não está na duração, mas na inaptidão do sistema nervoso em restabelecer a atividade neuronal para os níveis homeostáticos normais (Vale, 2000).

A nocicepção é a identificação da injúria tecidual por transdutores especializados ligados a fibras dos nervos periféricos do tipo A- δ (delta) e C (Quadro 1) as quais realizam a transmissão dos sinais ao sistema nervoso central, influenciados por estímulos ambientais, físicos ou químicos (Loeser; Melzack, 1999). A dor possui uma natureza subjetiva caracterizada por sintomas físicos e psicológicos. O processamento da dor envolve a ativação do córtex somatossensorial em áreas responsáveis pela cognição, pela emoção e pela sensação (Kupers; Kehlet, 2006; Klaumann; Wouk; Sillas, 2008; Schnakers et al., 2012), e há indícios de ser influenciada pela ansiedade, depressão, e outras variáveis psicológicas.

Tabela 1. Tipos de Neurônios Sensoriais primários.

	A α e A β	A δ I e II	C
Tipos de Fibras			
Mielinização	Muita	Pouca	Ausente
Diâmetro (μm)	10	2 - 6	0,4 – 1,2
Velocidade de Condução (m/s)	30 - 100	1,2 - 30	0,5 – 2
Temperatura	Não reconhece	Tipo I > 53°C Tipo II > 43°C	> 43°C
Tipo de sinal	Propriocepção	Térmico, mecânico e químico	Térmico, mecânico e químico

Fonte: Adaptado de Julius e Basbaum, 2001.

Baseado nestes conceitos, o termo dor é melhor aplicado a seres humanos do que aos animais, pelo fato deste termo envolver um componente emocional e tendo em vista

que os animais não são capazes de verbalizar os componentes subjetivos da dor. Logo, utiliza-se os termos dor e analgesia para humanos e nocicepção e antinocicepção para animais (Jones, 1996).

2.4.1 Fisiologia da dor

A Transdução, transmissão e modulação são mecanismos identificados no processamento neural dos sinais nocivos que levam à sensação de dor.

A transdução, refere-se a transformação dos estímulos nocivos externos em potenciais de ação. No processo de transdução, na sensação dolorosa, ocorre uma amplificação dos eventos pela liberação local de uma gama de substâncias químicas denominadas de modo geral de substâncias algogênicas, que aparecem em quantidade considerável nos tecidos devido a processos inflamatórios ou traumáticos (Marquez, 2004; Maurício, 2009).

A transmissão do estímulo nocivo ocorre por meio de diferentes tipos de neurônios nociceptivos aferentes primários, que são classificados em três tipos: C, A δ e A β , de acordo com sua estrutura, diâmetro e velocidade de condução (Julius; Basbaum, 2001). As fibras aferentes nociceptivas findam no corno dorsal da medula espinhal, assim, a informação é transmitida da medula espinhal para o tronco encefálico e ao tálamo que em seguida, transmitem os sinais ao córtex, hipotálamo e sistema límbico (Almeida, 2004; Golan et al, 2009).

A modulação permite que sinais nocivos chegados ao corno dorsal da medula espinhal sejam inibidos, alterando a transmissão do sinal para centros superiores. O sistema de modulação endógeno da dor constitui-se de interneurônios contido nas camadas superficiais da medula espinhal e tratos neuronais descendentes, que podem inibir a transmissão do sinal de dor (Yaksh, 2006; Maurício, 2009).

2.4.2 Principais formas de tratamento da dor

O tratamento da dor parte da definição do diagnóstico baseado na análise e avaliação da mesma. Levando em consideração os mecanismos fisiopatológicos de sua geração e manutenção. O tratamento da dor inclui medidas farmacológicas e não farmacológicas (Quadro 1).

Quadro 1. Medidas farmacológicas e não farmacológicas no tratamento da dor.

Tratamento Farmacológico	Tratamento Não farmacológico
- Analgésicos opióides - Analgésicos antipiréticos - Adjuvantes (antidepressivos, neurolépticos, anticonvulsivantes, ansiolíticos, miorrelaxantes. etc) - Anti-inflamatórios hormonais e não-hormonais. - Antipsicóticos - Bisfonatos - Corticóides - Outros	- Medidas Psicoemocionais - Medidas físicas e de reabilitação - Terapias complementares - Outros

Fonte: Adaptado de Neto (2009).

Dentre as modalidades de tratamento da dor disponíveis, o tratamento farmacológico tem uma maior utilização devido a sua eficácia comprovada. Grande parte dos fármacos em uso clínico atualmente ou são de origem natural ou foram sintetizados quimicamente a partir de produtos naturais. As plantas são importantes fontes de substâncias biologicamente ativas. Ainda que existam inúmeras técnicas disponíveis para a síntese de novos fármacos, a química de produtos naturais representa uma alternativa bem sucedida. Vários metabólitos secundários ou especiais se sobressaíram como matérias-primas valiosas para a produção de inúmeros medicamentos que se encontram disponíveis para comercialização no mercado. Ressaltando a importância do estudo com produtos naturais como estratégia para o desenvolvimento de novos fármacos analgésicos. (Barreiro; Bolzani, 2009)

2.5 Produtos naturais

O uso de produtos naturais e seus metabólitos no controle de várias doenças vêm sendo destacado pela ciência na atualidade, tendo em vista que um grande número de medicamentos comercializados possui fonte primária, com destaque para as plantas medicinais. Óleos essenciais derivados de plantas exibem uma diversidade de propriedades, como: ansiolíticos, anticonvulsivantes, antinociceptivo, dentre outras. Esses efeitos são atribuídos aos monoterpenos e fenilpropanóides, que são os principais componentes químicos destes óleos essenciais. Os fenilpropanóides e derivados são formados a partir do ácido chiquímico (Do Amaral, 2007; Souza 2011).

Devido ao grande número de propriedades biológicas dos terpenos e fenilpropanoides, como: anti-hiperglicêmico, analgésico, anti-inflamatório, atividades antiparasitárias, efeito antitumoral, antimicrobiano, antifúngico e antiviral. Há um crescente interesse na sua aplicação clínica (Sousa, 2011; Oliveira 2014). A busca continua por novas drogas contribui de maneira relevante para a saúde da população, podendo respaldar o uso empírico de algumas substâncias.

2.6 Álcool cinâmico

O álcool cinâmico é um fenilpropanóide de fórmula molecular $C_9H_{10}O$, cor branca para amarelo sólido naturalmente encontrado no óleo essencial da casca da canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) e de outras árvores/arbustos do gênero *Cinnamomum* (PubChem, 2018).

Estudos mostraram que o ácido cinâmico e seus derivados possuem uma variedade de atividades biológicas, incluindo; anticancerígenos, anti-inflamatórios, anti-hepatotóxicos, antimicrobianos e antivirais (Cuan et al., 2017). No entanto, o

álcool cinâmico ainda não havia sido investigado, quanto aos seus efeitos farmacológicos no SNC.

No estudo de Cuan et al., (2017) foram examinados derivados de ácido cinâmico na atividade antiepiléptica e neurotoxicidade, obtendo-se resultados que mostraram uma excelente atividade anticonvulsivante em comparação com os outros derivados. Os compostos ativos foram selecionados para avaliar a atividade antiepiléptica no modelo de convulsão induzida por PTZ em camundongos, nas doses de 100, 200 e 300 mg/kg. Os resultados evidenciaram que os compostos exibiram atividade anticonvulsivante nas crises induzidas por PTZ a depender da doses. No estudo de Gunia, et al, (2012) também observou-se atividade anticonvulsivante dos derivados do ácido cinâmico.

Em estudo realizado por Yao, *et al.* (2015) foi investigado os efeitos do aldeído cinâmico em comportamentos semelhantes a depressão em camundongos expostos a Estresse Moderado Crônico Imprevisível (CUMS) por 21 dias. Os resultados mostraram que o tratamento com aldeído cinâmico em uma dose diária de 45 e 90 mg / kg, por via oral, exibiu um potencial efeito antidepressivo.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

- Traçar o perfil psicofarmacológico do Álcool cinâmico em Camundongos (*mus musculus*) Swiss utilizando modelos animais.

3.2 Específicos

- Realizar Triagem farmacológica comportamental
- Estimar a DL₅₀ do álcool cinâmico
- Avaliar uma possível atividade ansiolítica do álcool cinâmico em modelos animais:
- Investigar uma possível atividade antidepressiva do álcool cinâmico em modelos animais:
- Realizar ensaio farmacológico, afim de se avaliar uma possível atividade antinociceptiva do álcool cinâmico em modelos animais.

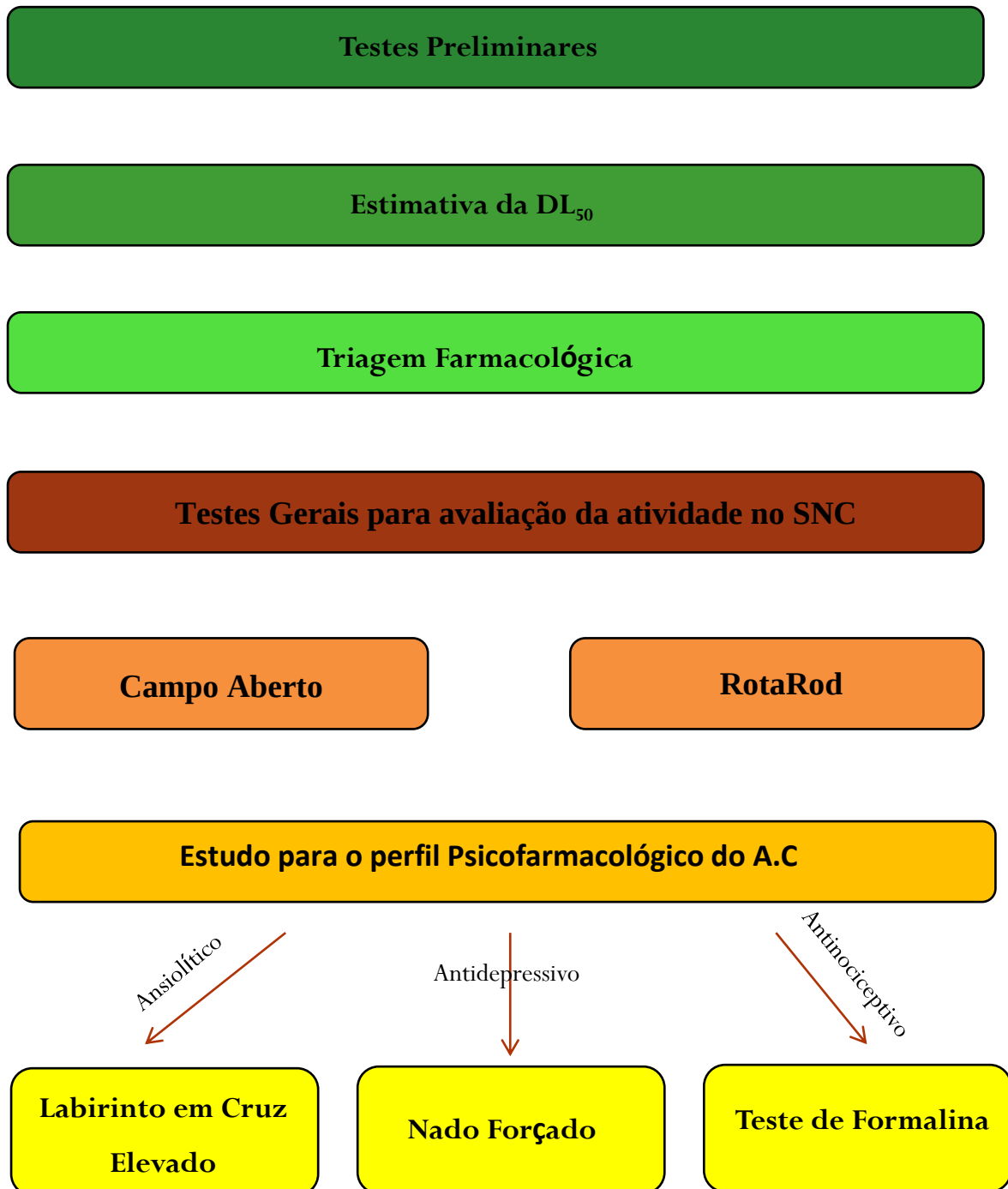
MATERIAL

e

MÉTODOS

MATERIAL e MÉTODOS

O esquema 01 ilustra a metodologia experimental utilizada para os estudos do álcool cinâmico em camundongos.



Esquema 01. Metodologia experimental

4. MATERIAL e MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Para a realização da triagem farmacológica comportamental e DL_{50} , foram utilizados camundongos (*mus musculus*) albinos da linhagem suíça, machos, 3 meses de idade, pesando entre 25 a 35 g (Figura 2), provenientes do biotério Prof. Dr. George Thomas do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba.

No biotério, os animais foram alojados em gaiolas de polietileno, contendo no máximo 06 camundongos por gaiola, mantidos sob condições monitoradas de temperatura de $21 \pm 2^\circ \text{C}$, com livre acesso a uma dieta controlada a base de ração tipo pellets (Purina®) e água. Os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12 horas, sendo a fase clara da 6:00 às 18:00 horas.



Figura 2. Camundongo (*mus musculus*) albino.

4.1.1 Condições experimentais

O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório de Psicofarmacologia, juntamente com o biotério Prof. Dr. Thomas George. Os camundongos eram previamente alojados em gaiolas de polietileno, contendo seis animais cada, com um dia (24h) de antecedência à execução dos testes, visando minimizar as possíveis alterações comportamentais dos animais decorrentes da mudança de ambiente, bem como permitir uma adaptação à sala de experimentação. Os camundongos foram privados de água e ração apenas 60 min antes dos testes.

Antecedendo cada procedimento foi realizada a higienização do(s) aparelho(s) teste com álcool a 70% e durante os experimentos foi utilizado álcool a 10% (de baixa graduação). Todos os experimentos foram realizados no período da tarde (12h00 as 17h00), e em seguida os animais foram eutanasiados. Todos os procedimentos experimentais foram analisados e previamente aprovados pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA) do Iperfarm/UFPB, sob a certidão nº 084/2017.

4.1.2 Substâncias utilizadas

- ✓ Álcool cinâmico
- ✓ Solução Salina 0,9%
- ✓ Tween 80
- ✓ Morfina
- ✓ Diazepam
- ✓ Formalina
- ✓ Imipramina

4.1.3 Especificações do álcool cinâmico

O álcool cinâmico (cinamol, álcool cinnamílico ou 3-fenilprop-2-en-1-ol; 104-54-1; 3-fenil-2-propen-1-ol) é um fenilpropanóide de cor branca para amarelo sólido naturalmente encontrado no óleo essencial da casca da canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) e de outras árvores/arbustos do gênero *Cinnamomum*. De fórmula molecular $C_9H_{10}O$ é um componente pouco solúvel em água (PubChem, 2018).

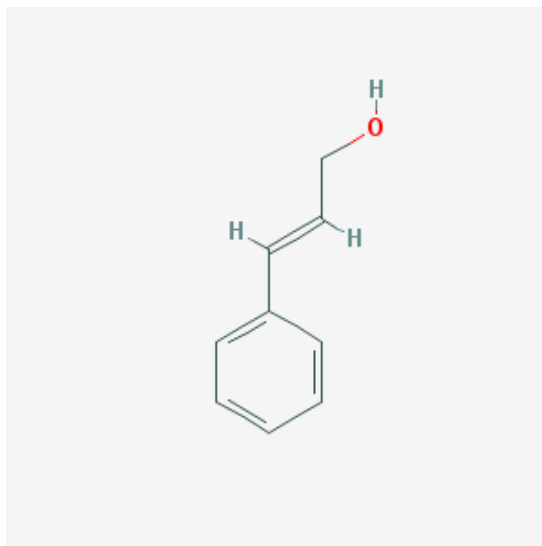


Figura 3. Estrutura química do álcool cinâmico (PubChem, 2018).

4.1.4 Preparação do Álcool Cinâmico

Antecedendo a realização dos testes, o álcool cinâmico foi dissolvido em Tween 80 (Polissorbato 80) à 0,2% e em solução salina 0,9%. As doses utilizadas foram 12,5, 25, 50 e 100 e 200 mg/kg álcool cinâmico para a administração pela via intraperitoneal (i.p.). Como controle negativo, foi utilizado Tween 80 a 0,2% em solução salina 0,9% (i.p.). Todas as doses das substâncias, que foram administradas por via i.p. foram

calculadas de forma a possibilitar a injeção de 0,1 mL/10 g de peso do camundongo. A única exceção ocorreu com a formalina, que foi injetada, por via intraplantar.

4.1.5 Aparelho Utilizado no Teste do Rota-rod

Consiste em uma barra de 5,5 cm de diâmetro e 40 cm de comprimento, que gira a uma velocidade ajustável, dividida em segmentos iguais por 5 discos de acrílico. O modelo de aparelho de rotarod utilizado foi o EFF 412 – Rotarod para camundongos – Insight® (Figura 4).



Figura 4. Aparelho utilizado no teste RotaRod.

4.1.6 Aparelho Utilizado no Teste do Campo Aberto

O aparelho consiste de uma base dividida em 12 segmentos e um cilindro transparente de 30 cm de diâmetro x 30 cm de altura. Utilizou-se o aparelho da marca Insight®, modelo EP 154C (Figura 5).

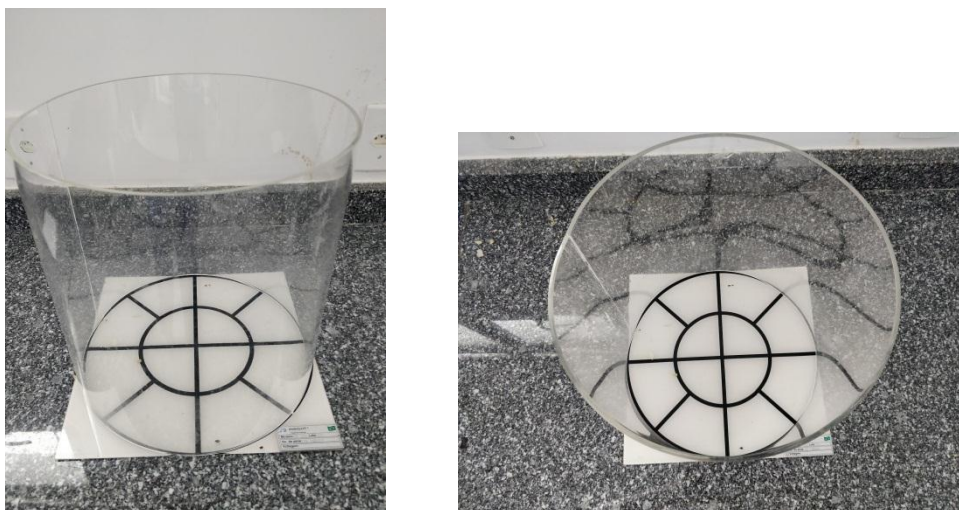


Figura 5. Aparelho utilizado no Teste do Campo Aberto.

4.1.7 Aparelho utilizado no Teste do Labirinto em Cruz Elevada

O labirinto consiste de um aparato feito em acrílico, de cor cinza com quatro braços, sendo dois braços abertos e dois braços fechados por paredes de 30 cm de altura. Cada braço mede 15 cm de comprimento por 5 cm de largura. O labirinto é apoiado sob um suporte com 40 cm elevado em relação ao solo (figura 6).



Figura 6. Aparelho utilizado no Teste do Labirinto em Cruz Elevada.

4.1.8 Aparelho utilizado no teste do Nado Forçado

O recipiente consiste em um cilindros de vidro ou acrílico transparente, medindo 18 cm de altura e 14 cm de diâmetro, com volume total de 2 L, contendo 1,5 L de água a 27° C.



Figura 7. Aparelho utilizado para o teste do nado forçado.

4.1.9 Aparelho utilizado no Teste da Formalina

O aparato consiste em um encaixe de metal que forma uma caixa triangular em ângulo de 45°, com os lados e altura medindo 25 cm cada, sendo duas paredes espelhadas e uma de vidro transparente, dando ao observador um maior campo de visão (Figura 8). Este aparelho foi desenvolvido no Laboratório de Psicofarmacologia/UFPB.



Figura 8. Aparelho Utilizado no Teste da Formalina

4.2 MÉTODO

4.2.1 Estimativa da DL₅₀

A Estimativa da DL₅₀ viabiliza averiguar os possíveis efeitos tóxicos de substâncias e extratos, para estimar a dose responsável pela morte de 50% dos animais em estudo (Litchfield; Wilcoxon, 1949), permitindo a realização dos testes farmacológicos utilizando doses com uma margem de segurança (Gracioso et al., 1998).

O protocolo requer a observação dos animais que foram submetidos à triagem farmacológica comportamental, por um período de 04 horas. Os camundongos foram mantidos no biotério com livre acesso a água e comida, sendo monitorados a cada 24 horas durante um período de até 14 dias, para o registro de possíveis mortes, a fim de estimar da DL₅₀.

O método de classificação de toxicidade aguda é um procedimento faseado uso de 3 animais de um único sexo por etapa. Dependendo da mortalidade e / ou do estado moribundo dos animais, em média, 2-4 etapas podem ser necessárias para permitir o julgamento da toxicidade aguda da substância de ensaio. Este procedimento é reproduzível, usa muito poucos animais e é capaz de classificar substâncias de modo semelhante aos outros métodos de ensaio de toxicidade aguda (Diretrizes de ensaio 420 e 425). O método de classificação de toxicidade aguda baseia-se em avaliações biométricas com doses, adequadamente separadas para permitir classificar uma substância para fins de avaliação de risco.

4.2.2 Triagem farmacológica comportamental

A triagem farmacológica comportamental é realizada pelo emprego de alguns critérios comparativos entre uma série de comportamentos apresentados pelos animais. É uma metodologia preliminar que avalia o possível efeito de uma droga no SNC e SNA, e que possibilita caracterizar o efeito central da substância (Almeida; Oliveira, 2006b; Almeida, 1999).

Os experimentos foram realizados de acordo com o protocolo experimental descrito por Almeida e colaboradores (1999), adotado pelo Laboratório de Psicofarmacologia. Os efeitos observados em cada período de tempo eram registrados como ausentes ou presentes. Caso o efeito estivesse presente, um escore de intensidade era marcado com um sinal positivo (efeito aumentado) ou dois sinais positivos (efeito intenso). Se os comportamentos observados estivessem reduzidos ou ausentes, o efeito da substância era computado como um sinal negativo (efeito diminuído) ou através do número zero (ausente).

Foram utilizados camundongos machos ($n = 8$) separados em dois grupos, onde o grupo experimental recebeu Álcool cinâmico nas doses de 12,5, 25, 50, 100 e 200 mg/kg e o grupo controle recebeu o veículo utilizado nas preparações (solução salina 0,9% e tween 80) via intraperitoneal. Os grupos de animais foram observados durante um período de 04 horas, em que os diversos comportamentos ou alterações ocorridas que indicassem atividade farmacológica no SNC, tomando como referência os camundongos do grupo controle, foram registrados de acordo com a metodologia descrita por (Almeida et al. 1999).

Parâmetros comportamentais foram observados durante as 4 primeiras horas nos intervalos de 30, 60, 120, 180 e 240 minutos, conforme descritos no protocolo experimental (figura 9). Tal metodologia possibilita conduzir o estudo farmacológico

para utilização de testes que levem à caracterização de um efeito específico (Franco, 2003).

Protocolo experimental da Triagem Farmacológica Comportamental

Substância: _____ Dose: _____ Via: _____ Data: ____/____/____
 Horário: _____ Animal / Sexo / Idade: _____
 Resp. pela administração: _____ Resp. pela observação: _____

ATIVIDADE FARMACOLÓGICA	Quantificação dos efeitos (0) sem efeito, (-) efeito diminuído, (+) efeito presente, (++) efeito intenso				
	até 30'	1h	2h	3h	4h
1 – SNC					
a – Estimulante					
Agressividade					
Ambulação aumentada					
Andar em círculo					
Autolimpeza					
Bocejo					
Contorções abdominais					
Convulsões					
Escalar					
Estereotipia					
Initabilidade					
Levantar					
Movimentação intensa das vibrissas					
Pedalar					
Sacudir a cabeça					
Saltos					
Tremores					
Vocalização					
b – Depressora					
Abdução das patas do trem posterior					
Ambulação diminuída					
Analgesia					
Anestesia					
Ataxia					
Catatonía					
Cauda de <u>Straub</u>					
Hipnose					
Perda do reflexo auricular					
Perda do reflexo <u>corneal</u>					
Ptoze palpebral					
Reflexo do <u>endireitamento</u>					
Resposta ao toque diminuída					
Sedação					
2 - SNA					
Constipação					
Defecação					
Diarréia					
Micção					
Lacrimejamento					
Salivação					
Respiração					
Cianose					
Piloereção					
Força para agarrar					
Tônus muscular					
3- Mortes					

Obs.: _____

Figura 9. Protocolo experimental da triagem comportamental

4.2.3 Avaliação da coordenação motora (teste do rota-rod)

O teste do Rota-rod foi proposto por Dunham e Miya (1957). É realizado para detectar o efeito neurotóxico/miorrelaxante ou de incoordenação motora produzido por agentes farmacológicos, tais como relaxantes musculares esqueléticos ou depressores do SNC (Carlini; Burgos, 1979; Mattei; França, 2006).

Consiste em colocar camundongos sobre uma barra que gira a uma velocidade constante de 7 r.p.m e verificar a capacidade do animal equilibrar-se sobre a mesma (Mattei; França, 2006). Um dia antes (24h) do teste foi realizada uma pré-seleção dos animais, na qual foram considerados aptos ao teste os animais que permaneceram na barra giratória durante 3 minutos.

No experimento, os camundongos foram divididos em grupos de 6 animais, e tratados com álcool cinâmico nas dose de 200 mg/kg. O grupo controle recebeu solução salina 0.9% e Tween 80 a 5%. Passados 30 minutos das administrações, os animais foram colocados no aparelho individualmente. Para cada animal foi registrado o tempo de permanência total na barra, em um período de até 3 minutos, sendo o limite máximo de três quedas para cada animal (Dunham; Miya, 1957). Este procedimento foi repetido com 60 e 120 minutos após os tratamentos.

4.2.4 Teste do Campo Aberto

O Teste do Campo Aberto é um procedimento adequado para mensurar não apenas comportamento de ansiedade, mas também sedação ou atividade exploratória do animal (Prut; Belzung, 2003). Consiste em uma arena circular com a finalidade de testar os efeitos de ambientes não familiares sobre a emocionalidade em roedores (Hall, 1934). O animal apresenta como características quando exposto a um ambiente novo, a exploração, apesar do estresse e do conflito provocado pelo mesmo (Montgomery, 1955). O teste baseia-se em submeter o animal a um ambiente desconhecido, do qual a fuga é impedida por paredes circundantes (Walsh; Cummins, 1976; Prut; Belzung, 2003).

Foram utilizados 5 grupos de 6 camundongos cada, onde o grupo experimental foi tratado com Álcool cinâmico nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg e o grupo controle foi tratado com o veículo (Solução Salina 0,9% e tween 80).

Trinta minutos após os respectivos tratamentos por via intraperitoneal (i.p) os animais foram colocados individualmente no centro da arena para explora-la livremente por um período de 5 minutos.

Adotou-se como parâmetros: a ambulação (número de cruzamentos dos seguimentos pelo animal com as quatro patas), número de comportamentos de levantar (*rearing*) e tempo de comportamento de autolimpeza (*grooming*) (Montgomery, 1955; Leite; Siqueira, 2006).

Inicialmente o aparelho foi limpo com álcool a 70% e entre a colocação de cada animal, o aparelho foi limpo com álcool a 10% a fim de se eliminar possíveis odores deixados por animais anteriores.

4.2.5 Teste do Labirinto em Cruz Elevada (LCE)

O LCE foi desenvolvido para a avaliação de ratos (Pellow et al., 1985) e, posteriormente, adaptado para camundongos (Lister, 1987). Trata-se de uma combinação de ambientes abertos e altura, no objetivo de gerar alterações no comportamento do animal, comumente relacionadas à sensação de ansiedade em humanos (Schmitt; Hiemke, 1998). Baseia-se no comportamento natural dos roedores em procurar permanecer em ambientes sombrios, perto de paredes e em evitar locais elevados (Bradley et al., 2007a).

Foram utilizados cinco grupos de 6 camundongos tratados nas doses de 12,5, 25 e 50 mg/kg, por via i.p, um grupo controle tratado com o veículo (Tween 80 e salina, i.p) e outro grupo tratado com diazepam (1 mg/kg, i.p.), utilizado como padrão. Passados 30 minutos após os respectivos tratamentos os camundongos foram submetidos à avaliação no labirinto. Os animais foram colocados individualmente na plataforma central, voltado para um braço aberto. O número de entradas nos braços abertos e fechados, o tempo de permanência dos animais nos braços abertos e fechados e o número de cruzamentos entre os braços do labirinto foram registrados durante um período de 5 min. Foi considerada como entrada no braço, quando todas as quatro patas do animal estavam dentro do mesmo (Biala; Kruk, 2008).

4.2.6 Teste do Nado Forçado

O modelo animal mais utilizado para triagem de novas drogas antidepressivas é o nado forçado (Cryan; Holmes, 2005). Apesar deste modelo não reproduzir adequadamente a sintomatologia da depressão observada em humanos, ele apresenta um alto valor preditivo na procura por substâncias antidepressivas (Willner, 2005), uma vez que antidepressivos clássicos reduzem o tempo de imobilidade neste protocolo (Cryan; Page; Lucki, 2002).

Ao forçar os animais a nadar em um ambiente onde não há possibilidade de escapar, eventualmente param a luta (tentar sair) e cedem à estressante condição. Este comportamento de imobilidade é considerado como um desespero comportamental, o qual pode ser interpretado como um estado depressivo (Porsolt, 1977). Assim, estudos sugerem que drogas que diminuem o tempo de imobilidade (TI), no modelo do nado forçado, podem sugerir possível ação tipo antidepressiva (Silva, 2007; Melo, 2006).

Os animais foram divididos em grupos (n=6) e tratados via intraperitoneal com Salina (solução fisiológica 0,9% – 0,1 mL/10 g), imipramina (30 mg/kg), e os grupos experimentais (álcool cinâmico) nas doses de 25, 50 e 100mg/kg. Após 30 minutos da administração, cada animal foi colocado para nadar individualmente no cilindro por 6 minutos, sendo os 2 primeiros minutos de adaptação e durante os últimos 4 minutos foi cronometrado o tempo de imobilidade (em segundos), parâmetro utilizado para avaliar o efeito da droga neste modelo experimental (Porsolt et al, 1978).

4.2.7 Teste da Formalina

O teste da formalina foi descrito por Vaz et al., (1996), que representa uma modificação do modelo original de Hunskaar, Fasmar e Hole, (1985). Nesta metodologia administra-se 20µL de uma solução de formalina 2,5% na região subplantar da pata posterior direita do animal, o que induz à estimulação dos nociceptores, sendo o tempo de lambida da pata considerado indicativo de resposta nociceptiva (Souza et al., 2000). Avaliado durante duas fases (Shibata et al., 1989).

A primeira fase ocorre nos 5 primeiros minutos após a injeção da formalina e, provavelmente, é resultante da estimulação direta dos nociceptores, levando a uma resposta neurogênica. A inibição dessa fase é indicativa de drogas analgésicas que atuam em nível central. Em seguida, há um período chamado de interfase (5-15 min), que é caracterizado pelos mecanismos endógenos de supressão da dor (Gaumond, 2007). A segunda fase (15-30 minutos) é caracterizada por um processo inflamatório, gerada tanto pela estimulação de nociceptores como pela liberação de mediadores inflamatórios (Hunskaar; Hole, 1987).

Cinco grupos de 6 camundongos receberam, por via i.p., o pré-tratamento com 50, 100 e 200 mg/kg de álcool cinâmico, além de um grupo que recebeu o veículo e outro tratado com morfina 10 mg/kg (solubilizado em salina) que funcionou como padrão positivo.

Transcorrido 30 minutos dos tratamentos, injetou-se a solução de formalina na pata do animal e em seguida foram colocados na caixa de observação sendo então registrado o tempo de lambida da pata que recebeu a formalina nas duas fases supracitadas. Uma redução dessa resposta dolorosa nos animais tratados com o óleo

essencial em estudo, quando comparado ao grupo controle, indicará uma atividade antinociceptiva.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1 Estimativa da dose letal 50% (DL₅₀)

O álcool cinâmico, administrado via i.p. na dose de 300 mg/kg, não promoveu mortalidade nos camundongos (n=3) no período de 14 dias. Seguindo o protocolo OECD 423 (Figura 10), foi administrado a dose de 2000 mg/kg, que promoveu mortalidade em todos os animais. Baseando-se nesses resultados, de acordo com o protocolo seguido, pôde-se estimar a DL₅₀, em aproximadamente 500mg/kg. Sendo assim, admite-se preliminarmente que utilizando doses aproximadas a 1/3 da DL₅₀ pode-se ter uma margem de segurança em relação a toxicidade mediante estudos agudos.

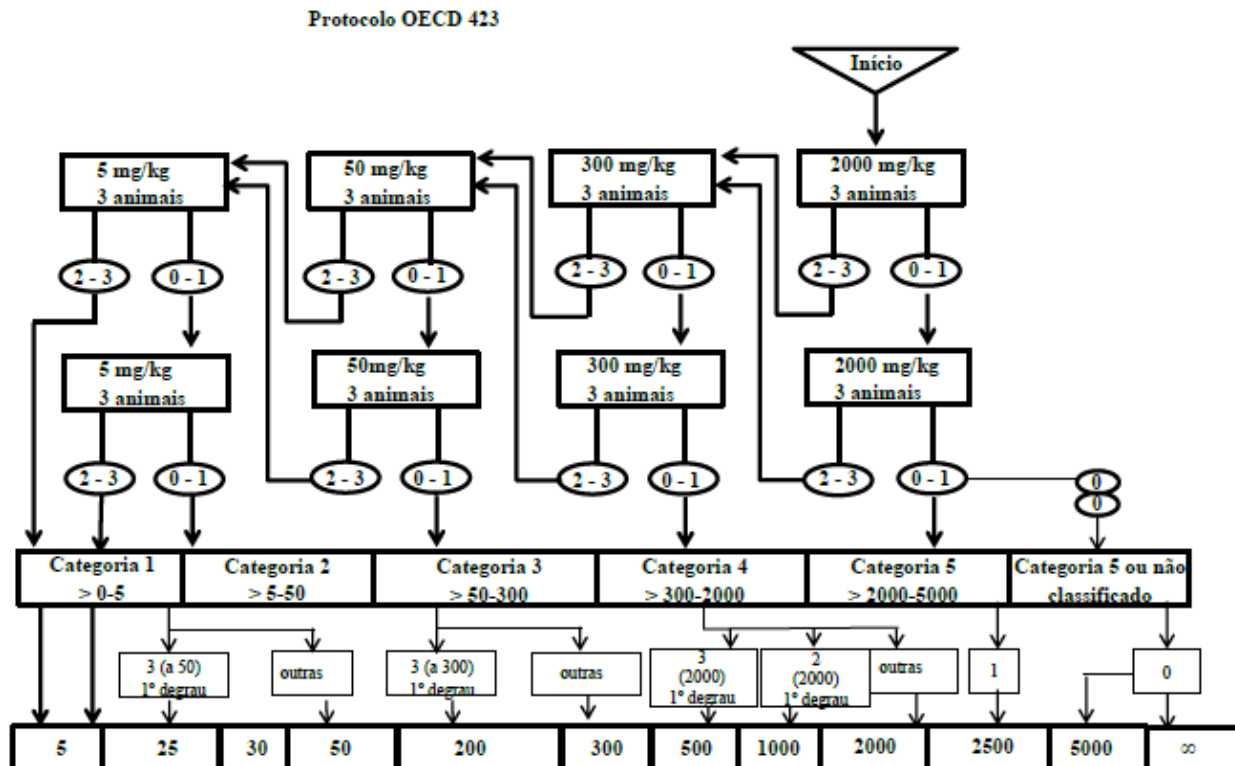


Figura 10. Protocolo OECD 423. Procedimento de ensaio com dose inicial de 2000 mg / kg peso corporal.

5.2 Efeito do Álcool cinâmico na triagem farmacológica comportamental

As alterações comportamentais (Tabela 2) nos camundongos tratados com álcool cinâmico via i.p, apresentaram diferenças marcantes em relação ao grupo controle, em termos de atividade depressora do SNC.

Os animais tratados com a dose de 12.5, 25 e 50 mg/kg de álcool cinâmico apresentaram analgesia moderada nos primeiros 30 minutos. Outros comportamentos depressores ou em nível de sistema nervoso autônomo não foram registrados nas respectivas doses.

Na dose de 100 mg/kg os animais tratados continuaram apresentando analgesia em relação ao grupo controle, nos primeiros 60 minutos de observação, sendo com uma menor intensidade no minuto 60. Observou-se também, perda do reflexo auricular e ambulação diminuída de forma menos intensa.

Na dose de 200 mg/kg, observou-se nos primeiros 30 minutos, analgesia, perda do reflexo corneal e resposta ao toque diminuída de maneira intensa. Registraram-se também, perda do reflexo auricular e ambulação diminuída de forma menos intensa. Com 60 e 120 minutos observou-se analgesia discreta. Não foram presenciados efeitos estimulantes ou em nível de sistema nervoso autônomo, na referida dose.

Com base nos resultados observados, pode-se constatar a atividade psicofarmacológica tipo depressora, do álcool cinâmico. Diante disso as doses escolhidas foram, 12,5, 25, 50, 100 e 200 mg/kg. Dessa forma, procedeu-se com a continuidade dos experimentos, onde os estudos foram direcionados para atividades gerais no sistema nervoso central e, posteriormente, para atividades específicas (antinociceptiva, ansiolítica, depressora), afim de traçar o perfil psicofarmacológico da substância.

Tabela 2 - Alterações comportamentais observadas nos animais tratados com álcool Cinâmico nas doses de 500, 200, 100, 50, 25 e 12,5 mg/kg. [(0) sem efeito, (-) efeito diminuído, (+) efeito presente, (++) efeito intenso] n=8.

Dose (mg/kg; i.p.)	Tempo de observação (min)	Efeitos comportamentais
Álcool Cinâmico 12.5, 25 e 50	Até 30	(+) analgesia,
	60	(-) analgesia
	120	-
	180	-
	240	-
Álcool Cinâmico 100	Até 30	(++) analgesia, (+) Perda de reflexo auricular, (++) Perda do reflexo corneal, (+) Resposta ao toque diminuída, (+) ambulação diminuída.
	60	(+) analgesia
	120	(0) analgesia
	180	(0) analgesia
	240	(0) analgesia
Álcool Cinâmico 200	Até 30	(++) analgesia, (+) Ataxia, (+) Perda de reflexo auricular, (++) Perda do reflexo corneal, (+) Reflexo do endireitamento, (++) Resposta ao toque diminuída, (+) ambulação diminuída.
	60	(+) analgesia
	120	(-) analgesia
	180	(-) analgesia
	240	(0) analgesia

5.3 Testes gerais para avaliação da atividade no SNC

5.3.1 Teste do Rota rod

Conforme os resultados apresentados no teste do rota Rod, os camundongos tratados com álcool cinâmico na dose 200 mg/kg não apresentaram alteração significativa no tempo de permanência na barra giratória (coordenação motora), em relação aos animais do grupo controle (Gráfico 1). Esta constatação se deu nos três tempos de observação, ou seja, aos 30' (200 mg/kg: 180 ± 0.00 vs. 178 ± 1.24), 60' (200 mg/kg: 180 ± 0.00 vs. 180 ± 0.00) e 120' (200 mg/kg: 179 ± 1.15 vs 177 ± 2.61) após os tratamentos.

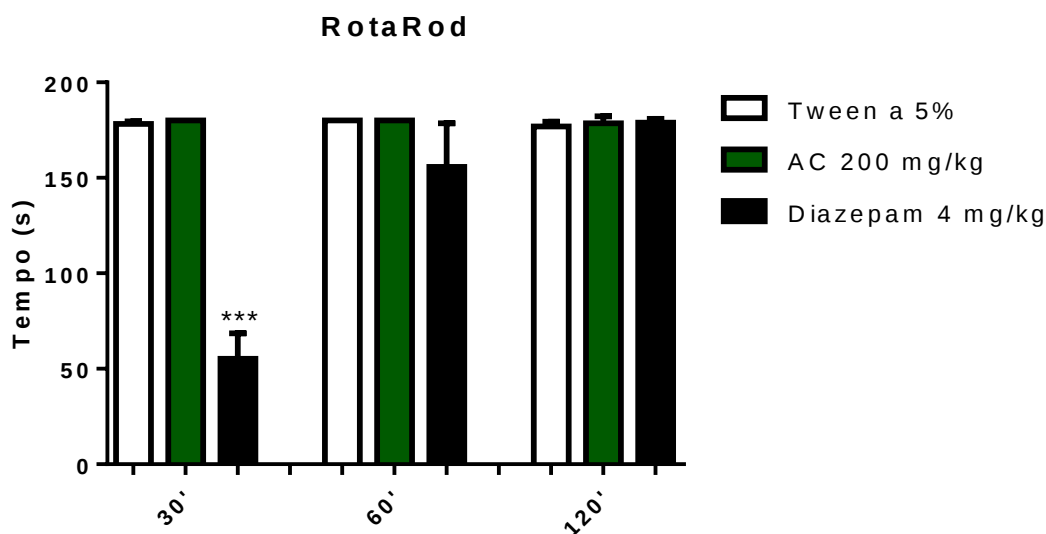


Gráfico 1 - Efeito do álcool cinâmico na dose de 200 mg/kg (i.p.) sobre o tempo de permanência na barra giratória no teste do rota rod em camundongos. Os valores estão expressos como média $\pm$ e.p.m. (n=6). ***p<0,001 vs grupo controle. ANOVA "one way" – Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn.

5.3.2 Teste do Campo Aberto

No gráfico 2, os animais que receberam álcool cinâmico nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg via i.p, apresentaram uma diminuição significativa do parâmetro ambulação nas doses de 100 mg/kg: 29.5 ± 2.87 e 200 mg/kg: 26.7 ± 4.09) em relação ao grupo controle (56.2 ± 6.45).

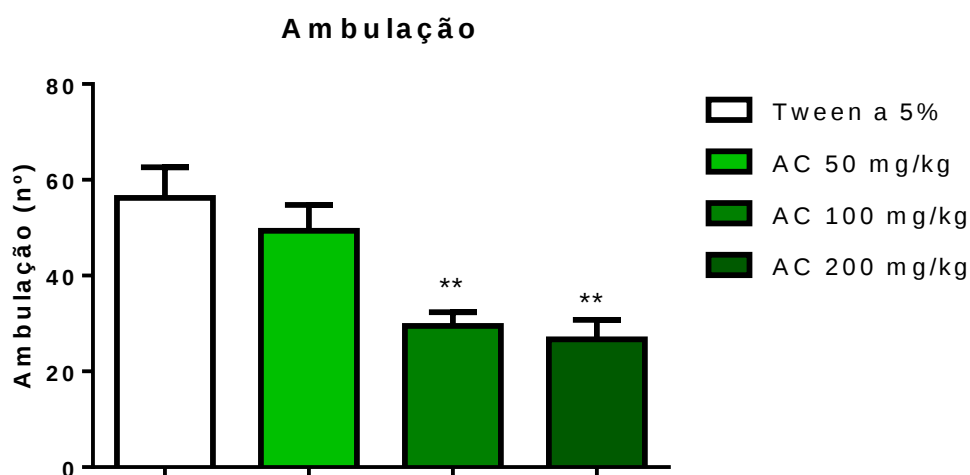


Gráfico 2 - Efeito do álcool cinâmico nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg na ambulação no teste do campo aberto em camundongos. Os valores estão expressos como média $\pm$ e.p.m. (n=6). **p<0,01 vs grupo controle. ANOVA “one way” – Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn.

Em relação ao tempo de autolimpeza (*grooming*), no gráfico 3, não houve uma diferença significativa ao comparar os animais tratados com álcool cinâmico nas doses de 50 mg/kg (7.17 ± 1.40); 100 mg/kg (12.2 ± 1.99) e 200 mg/kg (2.00 ± 0.77) em relação ao grupo controle (7.80 ± 0.70).

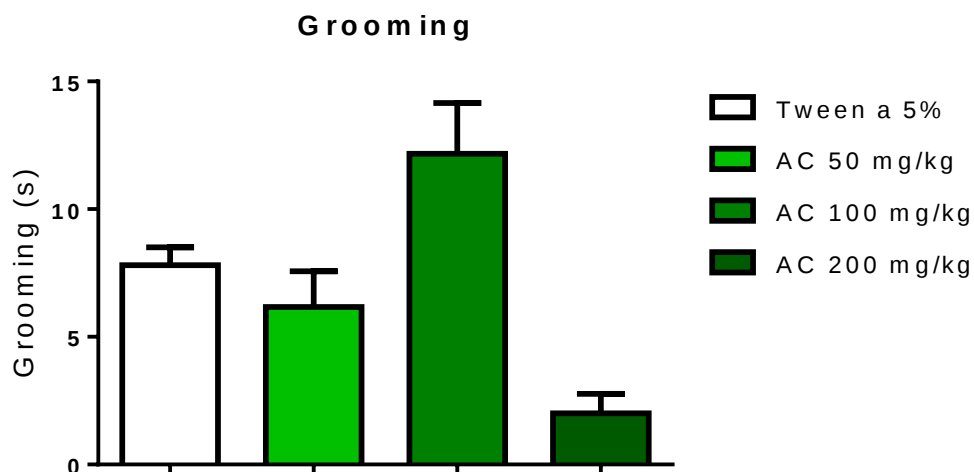


Gráfico 3 - Efeito do álcool cinâmico nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (i.p.) sobre número de grooming no teste do campo aberto. Os valores estão expressos como média $\pm$ e.p.m. (n=6). ANOVA “one way” – Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn.

O parâmetro levantar (*rearing*), apresentado no gráfico 4, observou-se nas doses de 100 e 200 mg/kg uma redução no número de vezes em que este comportamento ocorreu, em relação ao grupo controle (7.80 ± 0.70).

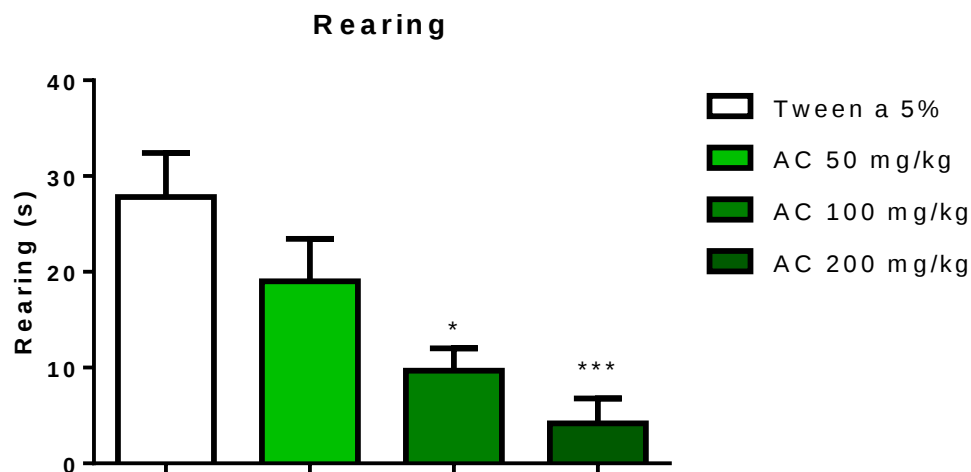
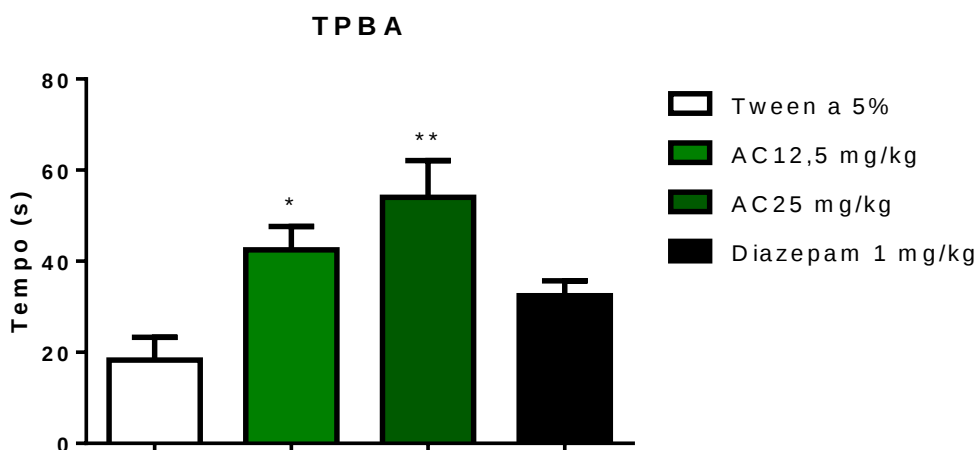


Gráfico 4- Efeito do álcool cinâmico nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (i.p.) sobre número de rearing no teste do campo aberto. Os valores estão expressos como média $\pm$ e.p.m. (n=6). ***p<0,001 vs grupo controle. ANOVA “one way” – Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn.

5.4 Teste do labirinto em cruz elevado

O tempo de permanência e o número de entrada nos braços abertos nos animais tratados com álcool cinâmico nas doses de 12,5 mg/kg (42.5 ± 5.15) e 25 mg/kg (54 ± 8.09) via i.p, não interferiram de maneira significativa, no número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos, quando comparados da substância de referência (padrão), diazepam, na dose de 1 mg/kg (32.4 ± 3.27).

Os resultados apresentados nos gráficos 5 e 6 demonstram que os animais tratados com álcool cinâmico nas doses de 12,5 mg/kg (5.50 ± 0.64) e 25 mg/kg (5.57 ± 0.71), via i.p, apresentaram alterações significativas no número de entradas e no tempo de permanência nos braços abertos quando comparados ao controle negativo ($2.33 \pm$



0.40).

Gráfico 5 - Efeito do álcool cinâmico nas doses de 12,5 e 25 mg/kg (i.p.) sobre o tempo permanência nos braços abertos. Os valores estão expressos como média $\pm$ e.p.m. (n=6). **p<0,01 vs grupo controle ANOVA “one way” – Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn.

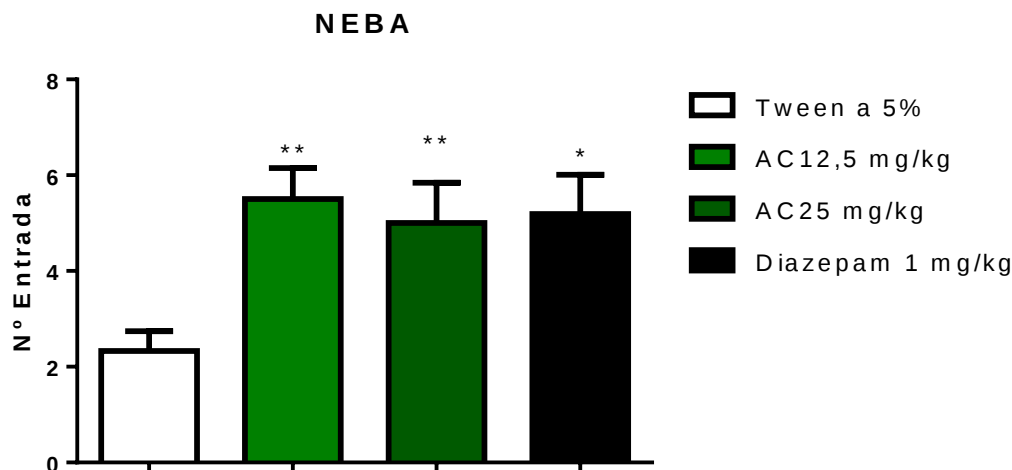


Gráfico 6 - Efeito do álcool cinâmico nas doses de 12,5 e 25 mg/kg (i.p.) número de entrada nos braços abertos. Os valores estão expressos como média ± e.p.m. (n=6). **p<0,01 vs grupo controle. ANOVA “one way” – Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn.

5.5 Nado Forçado

O tempo de imobilidade dos animais tratados com Álcool cinâmico (Gráfico 7), em três doses 25 mg/kg (122 ± 16.4), 50 mg/kg (129 ± 18.5) e 100 mg/kg 159 ± 21.0), via i.p. apenas a dose de 100 mg apresentou um maior tempo de imobilidade quando comparado ao grupo controle (salina) (91.5 ± 24.5), bem como ao grupo tratado com substância de referência (padrão), imipramina 30 mg/kg (26.7 ± 16.5).

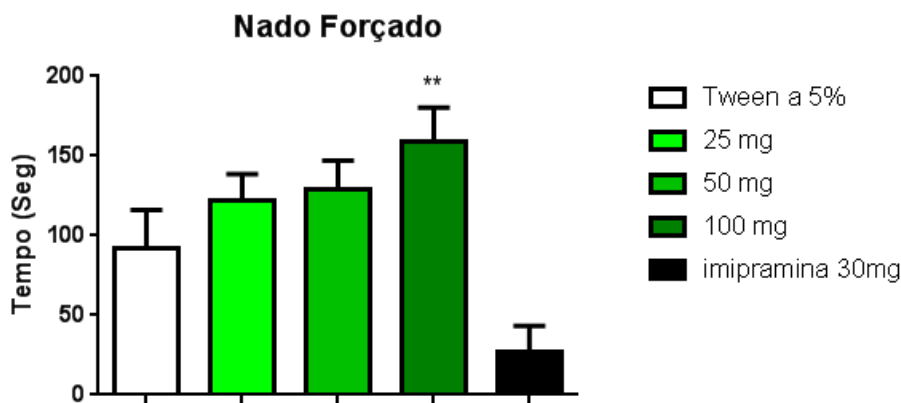


Gráfico 7 - Efeito do álcool cinâmico nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg (i.p.) sobre o tempo de imobilidade no teste do nado forçado. Os valores estão expressos como média ± e.p.m. (n=6). **p<0,01 vs grupo controle. ANOVA “one way” – Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn.

5.6 Teste de Formalina

Na primeira fase do teste (Gráfico 8), correspondente aos cinco primeiros minutos após a administração intraplantar da solução de formalina, verificou-se que os animais tratados com Álcool cinâmico, nas doses de 100 mg/kg (37.5 ± 4.76) e 200 mg/kg (14.8 ± 4.59) diminuíram significativamente o tempo de lambida da pata, em relação ao grupo controle (93.7 ± 10.9). Além do mais, os resultados obtidos foram semelhantes aos da substância de referência (padrão), morfina, na dose 10 mg/kg (9.83 ± 2.12).

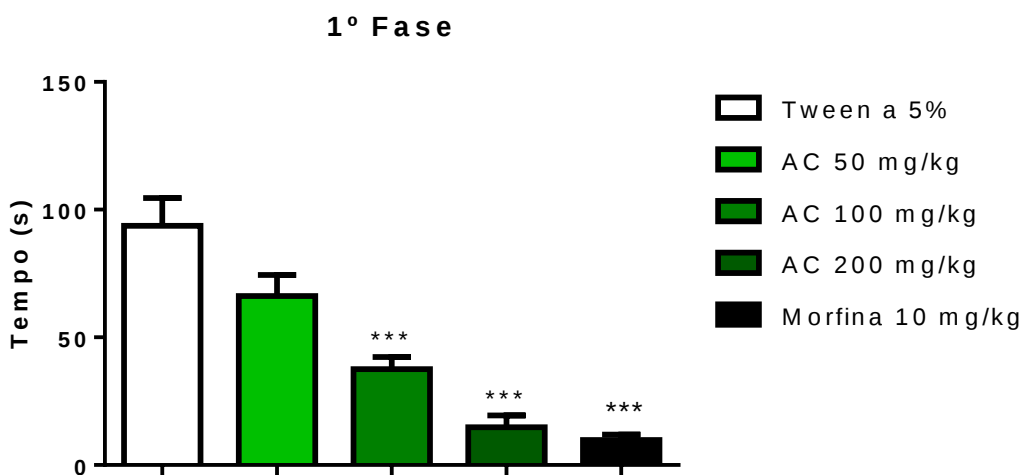


Gráfico 8 - Efeito do álcool cinâmico nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (i.p.) sobre o tempo de lambida pata no teste da formalina (1ª fase) em camundongos. Os valores estão expressos como média $\pm$ e.p.m. (n=8). ***p<0,001 vs grupo controle. ANOVA “one way” – Tukey's seguido do teste de Dunnet.

O comportamento de lamber a pata, assim como na primeira fase do teste, também ocorreu uma diminuição na segunda fase (Gráfico 9), que corresponde aos quinze minutos finais do experimento. Os animais que receberam álcool cinâmico nas doses de 50 mg/kg (187 ± 23.2), 100 mg/kg (107 ± 24.0) e 200 mg/kg (30 ± 14.2) tiveram o tempo de lambida da pata reduzido significativamente em relação ao grupo controle (299 ± 22.7) e semelhantemente à morfina (5.17 ± 1.30).

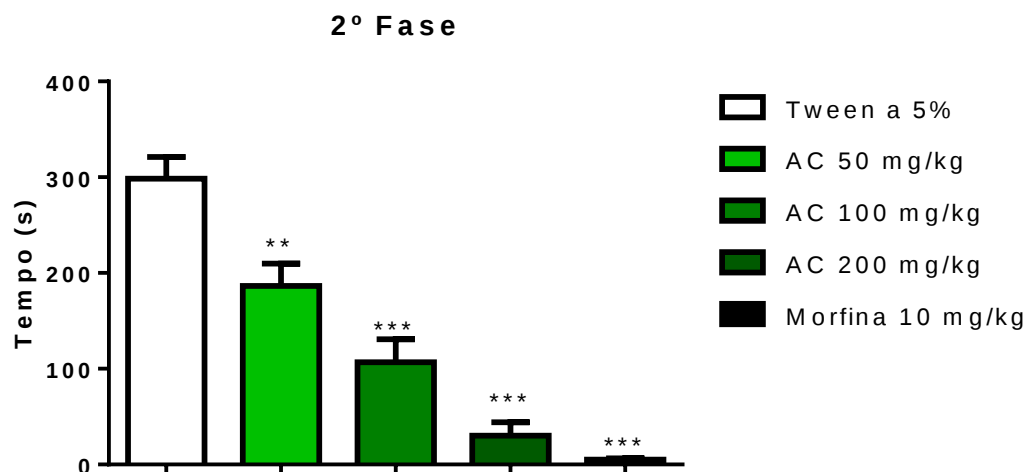


Gráfico 9 - Efeito do álcool cinâmico nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (i.p.) sobre o tempo de lambida pata no teste da formalina (2ª fase) em camundongos. Os valores estão expressos como média $\pm$ e.p.m. (n=8). ***p<0,001 vs grupo controle. ANOVA “one way” – Tukey's seguido do teste de Dunnet.

DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

O interesse de estudar o álcool cinâmico surgiu a partir dos efeitos no SNC apresentado por substâncias análogas relatados na literatura, como: antidepressivo (Cuan et al., 2017; Gunia, *et al*, 2012) e anticonvulsivante (Yao *et al*, 2015). Este histórico estimulou as investigações do perfil psicofarmacológico do álcool cinâmico.

A via de administração adotada foi a i.p. que é a via parenteral mais utilizada em pesquisas com animais, devida à facilidade do procedimento e sua rápida absorção, atingindo o efeito esperado em tempo equiparado ao da via endovenosa (Lukas, 1971).

Inicialmente foi realizada uma pesquisa sobre a toxicidade aguda do álcool cinâmico, onde temos a estimativa da DL_{50} como sendo o indicador de toxicidade aguda, representando assim, o primeiro passo da análise toxicológica (Lorke, 1983). O objetivo de estimar a DL_{50} consiste na avaliação dos possíveis efeitos tóxicos da substância em estudo, além de obter doses com uma margem de segurança que possam ser utilizadas, evitando-se assim a administração de doses tóxicas, que mascaram os efeitos observados em relação à verdadeira ação psicofarmacológica da substância em análise (Salgado, 2011). Fundamentando-se nos resultados, de acordo com o protocolo seguido, pôde-se estimar a DL_{50} , em aproximadamente 500mg/kg de peso corporal, o que forneceu uma boa margem de segurança para a padronização das doses de 12.5, 25, 50, 100 e 200 mg/kg a serem utilizadas nos camundongos, pela via i.p., nos testes subsequentes.

A triagem farmacológica comportamental viabiliza averiguar o perfil farmacológico de uma substância, pela avaliação preliminar de atividade sobre o SNC e autônomo (Almeida et al., 1999; Almeida; Oliveira, 2006). Analgesia foi o principal efeito apresentado pelo álcool cinâmico nos camundongos, durante o período de triagem. Este parâmetro foi observado em todas as doses administradas via i.p.,

sugerindo um perfil antinociceptivo do álcool cinâmico. Pôde-se observar também outros parâmetro como: perda do reflexo corneal, resposta ao toque diminuída, perda do reflexo auricular, sedação e ambulação diminuída.

Baseando-se nos resultados observados na triagem farmacológica comportamental, indicativos de efeito depressor da substância, partiu-se para a realização dos testes gerais que confirmariam a atividade psicodpressora do álcool cinâmico, onde foi elencado o Teste do Campo Aberto (Hall, 1934).

O teste do campo aberto é indicado para medir a ansiedade ou atividade exploratória do animal (Prut & Belzung, 2003). Ao ser introduzido em um ambiente desconhecido a tendência natural do animal é a de explorá-lo, mesmo com o estresse do conflito causado pela repulsa ao desconhecido (Montgomery, 1955). O principal fator ansiogênico deste modelo é a retirada do animal do ambiente em que está familiarizado e transferi-lo para ambiente do teste (campo aberto) (Ennaceur, et al, 2006).

Apesar deste modelo animal ser utilizado frequentemente para avaliar o comportamento de ansiedade, não se caracteriza como um método específico, visto que não tem sido estudado apenas drogas ansiolíticas (benzodiazepínicos), mas também substâncias estimulantes (anfetaminas), epileptogênicas e sedativas (neurolépticos) (Prut & Belzung, 2003), justificando, assim, seu uso como teste geral.

No teste anunciado, foram observados os seguintes parâmetros: ambulação (comportamento exploratório horizontal), tempo de autolimpeza (*grooming*), número de vezes em que o animal levantava (*rearing* – comportamento exploratório vertical).

A atividade locomotora do animal em um ambiente novo, representada pela ambulação, está diretamente relacionada com o grau de excitabilidade do SNC, onde se tem que o aumento da atividade exploratória é observado após o tratamento dos animais

com drogas ansiolíticas, enquanto a redução desse comportamento é indicativo de atividade sedativa (Franco et al., 2005).

Para avaliação da atividade exploratória leva-se em consideração número total de cruzamentos no campo aberto. Podendo ser modulado por fármacos que apresentem atividade no SNC ou atuem como relaxantes musculares periféricos (Salgado, P. 2011).

Diante de situações estressantes, como a exposição a um ambiente desconhecido, também se avalia o grau de ansiedade do roedor, o comportamento de *rearing*, onde se contabiliza o número de vezes em que o animal se ergue, apoiando-se apenas sobre suas patas posteriores. O número de *rearing* tende a aumentar com a utilização de substâncias com atividade ansiolítica, a redução deste parâmetro é indicativa de drogas sedativas (Johansson, 1989; Shaw et al., 2007).

No presente estudo, os animais tratados com álcool cinâmico, no comportamento exploratório horizontal (ambulação), no comportamento exploratório vertical (*rearing*) e no comportamento de *grooming*, na dose de 50 mg/kg não foi observado alterações significativas, corroborando com o estudo de Cosentino (2004) e Norte (2005), onde se avaliou os fenilpropanóides estragole e metil eugenol, respectivamente, não observando-se alterações nestes parâmetros no teste do campo aberto.

Nas doses de 100 e 200 mg/kg, observou-se uma redução do parâmetro ambulação e *rearing*, insinuando que a substância teste tem efeito similar ao apresentado por substâncias depressoras do SNC. Estes achados sugerem que nestas doses o álcool cinâmico apresenta um perfil de droga psicodpressora.

O *grooming* é tido como um comportamento natural do animal, em situações de estresses, mostra-se exacerbado. O tempo de *grooming* no teste do campo aberto diminui em animais tratados com drogas ansiolíticas (Kalueff & Tuohimaa, 2005), situações de medo ou ansiedade tendem a aumentar este comportamento (Shaw et al.,

2007). Nos animais tratados com álcool cinâmico, em todas as doses testadas, não houve alteração significativa neste parâmetro em relação aos animais do grupo controle.

Durante o estudo de uma nova substância, uma etapa relevante é a investigação de possíveis reações adversas, as quais estão presentes em algumas classes de medicamentos já comercializados. Os benzodiazepínicos (BZDs) são medicamentos amplamente utilizados por seus efeitos ansiolíticos e anticonvulsivantes (Kavvadias et al., 2004). Entretanto, podem causar efeitos considerados indesejáveis em um ansiolítico, como a sedação e o miorrelaxamento (Almeida et al., 2009; Almeida et al., 2010).

Uma Metodologia bastante utilizada nesta fase da pesquisa é o teste da barra giratória (rotarod), visto que pode-se detectar algum comprometimento motor causados por agentes farmacológicos (Pultrini et al., 2006). Podendo-se também avaliar a integridade da coordenação motora dos animais, levando em consideração a capacidade do animal caminhar na barra giratória durante um intervalo de tempo pré-determinado. (Capasso et al., 1996). Quando os animais tratados com a droga a ser investigada, apresentam um desempenho semelhante aos animais do grupo controle, significa a falta de comprometimento motor (Blanco et al., 2009).

Os animais tratados com álcool cinâmico na dose de 200 mg/kg, via i.p, não apresentaram alteração significativa no tempo de permanência na barra giratória em relação aos animais do grupo controle, descartando algum efeito miorelaxante ou neurotóxico. É importante a avaliação da função motora, após um tratamento, para não gerar resultados falso-positivos nos modelos animais de nocicepção, uma vez que distúrbios na atividade locomotora do animal podem levar a conclusões errôneas, tais como efeito “pseudo-antinociceptivo” (Wilhelm et al., 2009).

O teste do Labirinto em Cruz elevado (LCE) é um modelo amplamente utilizado para o estudo do comportamento de ansiedade em ratos e camundongos. Substâncias que apresentem atividade ansiolítica tendem a aumentar o número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos. (Santos et al., 2006; Daza-losada et al., 2008). O teste é baseado na aversão natural que os roedores apresentam a áreas abertas e elevadas (Raupp et al., 2008), sendo o mais utilizado na procura de novas substâncias com atividade semelhante aos benzodiazepínicos (Chen et al., 2004). O comportamento natural dos roedores é preferencialmente ambientes fechados, pela sensação de segurança que eles proporcionam e menor claridade (Almeida et al., 2004).

Neste trabalho, os parâmetros observados neste teste foram: número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos (Almeida, 2006). O álcool cinâmico aumentou significativamente o número de entradas e o tempo de permanência dos camundongos nos braços abertos do labirinto, nas duas doses testadas. Estes resultados indicam uma atividade ansiolítica da substância em estudo. Corroborando com (Deng et al, 2010) onde substâncias com atividade ansiolítica apresentam resultado semelhante aos de animais tratados com diazepam (que é a droga utilizada com padrão positivo), aumentando o número de entrada e o tempo de permanência nos braços abertos.

A depressão é um transtorno psicológico que apresenta registros, porém ainda não é completamente conhecida, sendo caracterizada como uma perturbação de ordem emocional cujas alterações envolvem esferas da cognição, fisiologia, comportamentos e emoção (de Araújo Pinheiro, 2018) assim modelos animais foram desenvolvidos com a finalidade de investigar a depressão (Fernandes, 2012). O modelo animal escolhido para avaliar um possível efeito antidepressivo do álcool cinâmico foi o teste do Nado Forçado. Este modelo apresenta um alto valor preditivo para drogas antidepressivas,

mesmo o modelo não reproduzindo adequadamente a sintomatologia da depressão em humanos (Willner, 2005).

Esse teste é baseado na observação de roedores ao ser colocados dentro de um cilindro com água, de forma a não haver possibilidade de fuga. Ao forçar os animais a nadar em um ambiente onde não há possibilidade de escapar, os mesmos apresentam comportamentos passivos (flutuação) (Fernandes, 2012). Este comportamento de imobilidade é considerado como um desespero comportamental, o qual pode ser interpretado como um estado depressivo (Porsolt, 1977). Nesta perspectiva, estudos sugerem que drogas que diminuem o tempo de imobilidade, no modelo do nado forçado, podem sugerir possível ação tipo antidepressiva (Silva, 2007; Melo, 2006). Os antidepressivos clássicos reduzem o tempo de imobilidade neste protocolo (Cryan; Page; Lucki, 2002).

O tempo de imobilidade dos animais tratados com álcool cinâmico via i.p. nas doses de 25 e 50 mg/kg não apresentaram alterações significativas, diferentemente dos tratados na dose de 100 mg/kg, que aumentaram significativamente o tempo de imobilidade quando comparado ao grupo controle e ao grupo tratado com imipramina. Demonstrando assim que a substância não apresenta ação antidepressiva, diferindo do aldeído cinâmico (substância análoga ao álcool cinâmico), que apresentou um potencial efeito antidepressivo em camundongos (Yao, et al., 2015).

O álcool cinâmico, durante a triagem farmacológica comportamental, apresentou perfil de droga antinociceptiva. Entretanto a triagem trata-se de um teste geral, sendo assim, para análise de uma possível atividade antinociceptiva foi escolhido o teste da formalina, a metodologia é amplamente utilizada como modelo de dor persistente,

apresentando boa correlação com a dor clínica (Tjolsen et al., 1992; Campos et al., 2002).

Inicialmente, este modelo era utilizado para análise da dor em ratos e gatos, posteriormente houve uma adaptação desta metodologia para camundongos (Hunskar, et al, 1985), onde observa-se um padrão de resposta pelos animais tratados.

O parâmetro observado neste teste consiste na intensa atividade de lamber a pata que recebeu o estímulo nocivo em dois períodos distintos. A primeira fase, com duração de 5 minutos é iniciada logo após a administração da formalina. A segunda fase consiste dos 15 aos 30 minutos após a administração do estímulo químico.

As fases do teste apresentam mecanismos nociceptivos distintos, onde a primeira caracteriza-se por uma resposta neurogênica ou aguda (ação direta da formalina sobre os nociceptores) e a segunda fase envolve respostas inflamatórias (Hunskar; Hole, 1987).

Quando a formalina é administrada na região intraplantar do camundongo, há um estímulo das fibras nociceptivas aferentes, causando a liberação de substâncias como glutamato, GABA, substância P, peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (Sevostianova et al., 2003; Shields et al., 2010).

Na primeira fase do teste, o mecanismo de ação nociceptiva caracteriza-se pela excitação direta das fibras C sensoriais, através da ativação de receptores TRPA1 (Mcnamara, et al., 2007). Mediadores como substância P e bradicinina participam deste mecanismo neurogênico (le bars; Parada, et al., 2001). Fármacos que atuam via opióide, caracterizam-se por agirem nesta fase neurogênica da nocicepção (Ferreira et al., 2006).

Findada a primeira fase, dá-se um intervalo de 10 minutos para iniciar a segunda fase do teste. Neste período, não há resposta do animal ao estímulo doloroso (formalina), devido a uma diminuição da atividade das fibras C e ativação de processos inibitórios, como a liberação do neurotransmissor GABA (Kaneko, 1997).

Na segunda fase, há uma liberação de mediadores inflamatórios, como: prostaglandinas, bradicinina, serotonina, aminas simpaticomiméticas, histamina, TNF- α e interleucinas (Rujjanawate; 2003; Ferreira et al., 2006).

A diminuição do tempo de lambida em ambas as fases é característica de drogas de ação central, como os analgésicos opióides, enquanto a inibição apenas da segunda fase, é propriedade de drogas de ação periférica, como os anti-inflamatórios não-esteroidais (Farsam et al., 2000; Adeyemi, 2004).

Os resultados obtidos evidenciaram que, na primeira fase do teste, nas doses de 100 e 200 mg/kg houve uma redução significativa no tempo de lambida da pata dos animais. Na segunda fase do teste esta redução ocorreu nas três doses testadas (50, 100 e 200 mg/kg) de forma semelhante ao grupo controle positivo (morfina).

Baseado nos resultados observados sugere-se que o fenilpropanóide álcool cinâmico apresenta não apenas atividade antinociceptiva, mas também pode apresentar uma possível atividade anti-inflamatória. Em concordância com o exposto, Assis (2016) referiu que o fenilpropanóide 2-alilfenol, causava uma diminuição do parâmetro (tempo de lambida) no teste da formalina nas duas fases observadas, caracterizando uma ação antinociceptiva central. O potencial efeito anti-inflamatório foi evidenciado no estudo de (Schink et al, 2018) realizado com extrato de canela, seus compostos ativos trans-cinamaldeído, álcool cinâmico e p- cymene ou combinações, aumentando a potência dos compostos ativos centrais abrindo uma nova estratégia de tratamento para diversas doenças inflamatórias.

CONCLUSÃO

7. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados apresentados, podemos concluir que o álcool cinâmico:

- Apresenta um perfil psicodepressor do SNC, sem comprometimento da atividade motora;
- A DL_{50} foi estimada em 500 mg/kg;
- Apresentou atividade ansiolítica no teste do labirinto em cruz elevado;
- Não apresentou atividade antidepressiva no teste do nado forçado;
- Promove antinocicepção no teste de formalina;

Os resultados obtidos no presente trabalho demonstram que o fenilpropanóide álcool cinâmico apresenta perfil de substância com atividade ansiolítica e antinociceptiva, por apresentar resultados no teste do labirinto em cruz elevado e em metodologias comportamentais específicas de ação central (formalina), baseada em estímulo nocivo químico. Porém, os mecanismos de ação central envolvidos nestas atividades permanecem desconhecidos. Os sistemas GABAérgico, opióide, serotoninérgico, adrenérgico, entre outros, são alguns dos possíveis alvos de atuação, sendo necessários mais estudos com ferramentas farmacológicas apropriadas, que levem à elucidação de tais mecanismos.

8. REFERÊNCIAS

- Abreu, M. H. N. G. D., Acúrcio, F. D. A., & Resende, V. L. S. (2000). Utilização de psicofármacos por pacientes odontológicos em Minas Gerais, Brasil. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 7, 17-23.
- Adeyemi, O. O., Okpo, S. O., & Okpaka, O. (2004). The analgesic effect of the methanolic extract of *Acanthus montanus*. *Journal of ethnopharmacology*, 90(1), 45-48.
- André, W. P. P., Ribeiro, W. L. C., de Oliveira, L. M. B., Macedo, I. T. F., Rondon, F. C. M., & Bevilaqua, C. M. L. (2018). Óleos essenciais e seus compostos bioativos no controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. *Acta Scientiae Veterinariae*, 46, 1522.
- Almeida, T. F., Roizenblatt, S., & Tufik, S. (2004). Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. *Brain research*, 1000(1-2), 40-56.
- Almeida, R. N., & Barbosa-Filho, J. M. (2006). Drogas psicotrópicas. *Psicofarmacologia—Fundamentos Práticos*, 3-24.
- Almeida, R. N., Motta, S. C., de Brito Faturi, C., Catallani, B., & Leite, J. R. (2004). Anxiolytic-like effects of rose oil inhalation on the elevated plus-maze test in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 77(2), 361-364.
- Amaral, J. F., Silva, M. I. G., de Aquino Neto, M. R. A., Neto, P. F. T., Moura, B. A., de Melo, C. T. V., ... & de Sousa, F. C. F. (2007). Antinociceptive effect of the monoterpene R-(+)-limonene in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(7), 1217-1220.
- American Psychiatric Association. (2014). *DSM-5: Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais*. Artmed Editora.
- Andreatini, R., Boerngen-Lacerda, R., & Filho, D. Z. (2001). Tratamento farmacológico do transtorno de ansiedade generalizada: perspectivas futuras. *Revista brasileira de psiquiatria*, 23(4), 233-242.
- Araújo Pinheiro, E., de Sabóia Sousa, L., da Silva, A. A., de Paiva Farias, C., Vasconcelos, S. M. M., & Júnior, J. E. R. H. (2018). Efeito da rutina em modelo de depressão crônico induzido por corticosterona em camundongos. *Journal of Health & Biological Sciences*, 6(2), 145-151.
- Assis, D. B. (2016). Efeito antinociceptivo do fenilpropanóide 2-alilfenol.
- Barreiro, E. J., & Bolzani, V. D. S. (2009). Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. *Química nova*, 679-688.
- Bastos, G. N. T., Santos, A. R. S., Ferreira, V. M. M., Costa, A. M. R., Bispo, C. I., Silveira, A. J. A., & Do Nascimento, J. L. M. (2006). Antinociceptive effect of the aqueous extract obtained from roots of *Physalis angulata* L. on mice. *Journal of ethnopharmacology*, 103(2), 241-245.

- Berton, O., & Nestler, E. J. (2006). New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(2), 137.
- Biala, G., & Kruk, M. (2008). Calcium channel antagonists suppress cross-tolerance to the anxiogenic effects of D-amphetamine and nicotine in the mouse elevated plus maze test. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 32(1), 54-61.
- Bomfim, T. L. (2017). Avaliação da dor e o seu processo de cuidado pós trauma cranioencefálico.
- Blanco, M. M., Costa, C. A. R. A., Freire, A. O., Santos Jr, J. G., & Costa, M. (2009). Neurobehavioral effect of essential oil of *Cymbopogon citratus* in mice. *Phytomedicine*, 16(2-3), 265-270.
- Bradley, B. F., Starkey, N. J., Brown, S. L., & Lea, R. W. (2007). Anxiolytic effects of *Lavandula angustifolia* odour on the Mongolian gerbil elevated plus maze. *Journal of ethnopharmacology*, 111(3), 517-525.
- Brentini, L. C., Brentini, B. C., Araújo, E. C. S., Aros, A. C. S. P. D. C., & Aros, M. S. (2018). Generalized Anxiety Disorder in the Clinical and Social Context in the Field of Mental Health. *Nucleus*, 15(1), 237-248. <https://doi.org/10.3738/1982.2278.2700>
- Brunello, N., Mendlewicz, J., Kasper, S., Leonard, B., Montgomery, S., Nelson, J. C., ... & Racagni, G. (2002). The role of noradrenaline and selective noradrenaline reuptake inhibition in depression. *European Neuropsychopharmacology*, 12(5), 461-475.
- Capasso, A., De Feo, V., De Simone, F., & Sorrentino, L. (1996). Pharmacological effects of aqueous extract from *Valeriana adscendens*. *Phytotherapy Research*, 10(4), 309-312.
- Carlini, E. A. (1979). Screening farmacológico de ansiolíticos: metodologia laboratorial e comparação entre o diazepam eo clorobenzapam. *Revista da Associação Brasileira de Psiquiatria*, 1, 25-31.
- Costa, C. A., Cury, T. C., Cassettari, B. O., Takahira, R. K., Flório, J. C., & Costa, M. (2013). *Citrus aurantium* L. essential oil exhibits anxiolytic-like activity mediated by 5-HT 1A-receptors and reduces cholesterol after repeated oral treatment. *BMC complementary and alternative medicine*, 13(1), 1.
- Cryan, J. F., Page, M. E., & Lucki, I. (2002). Noradrenergic lesions differentially alter the antidepressant-like effects of reboxetine in a modified forced swim test. *European journal of pharmacology*, 436(3), 197-205.
- Cryan, J. F., & Holmes, A. (2005). Model organisms: the ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nature reviews Drug discovery*, 4(9), 775.

- Cosentino, R. M., Norte, M. C., & Lazarini, C. A. (2004). Estragole-induced behavioural changes in rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(11), 921-924.
- Cuan, Y., He, X., Zhao, Y., Yang, J., Bai, Y., Sun, Y., ... Zheng, X. (2017). Anticonvulsant Activity of Halogen-Substituted Cinnamic Acid Derivatives and Their Effects on Glycosylation of PTZ-Induced Chronic Epilepsy in Mice. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(1). <https://doi.org/10.3390/molecules23010076>
- Daza-Losada, M., Rodríguez-Arias, M., Maldonado, C., Aguilar, M. A., & Miñarro, J. (2008). Behavioural and neurotoxic long-lasting effects of MDMA plus cocaine in adolescent mice. *European journal of pharmacology*, 590(1-3), 204-211.
- Deng, J., Zhou, Y., Bai, M., Li, H., & Li, L. (2010). Anxiolytic and sedative activities of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 128(1), 148-153.
- de Fátima Cunha, M., & de Cássia Gandini, R. (2018). Adesão e não-adesão ao tratamento farmacológico para depressão. *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, 25(3), 409-418.
- De Sousa, D. P. (2011). Analgesic-like activity of essential oils constituents. *Molecules*, 16(3), 2233-2252
- Depino, A. M., Tsetsenis, T., & Gross, C. (2008). GABA homeostasis contributes to the developmental programming of anxiety-related behavior. *Brain research*, 1210, 189-199.
- Diagnostic and Statistical Manual of Mental disorders - DSM-5. (2013). 5th.ed. Washington: American Psychiatric Association.
- Dunham, N. W., & Miya, T. S. (1957). A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 46(3), 208-209.
- Elhwuegi, A. S. (2004). Central monoamines and their role in major depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 28(3), 435-451.
- Ennaceur, A., Michalikova, S., & Chazot, P. L. (2006). Models of anxiety: responses of rats to novelty in an open space and an enclosed space. *Behavioural Brain Research*, 171(1), 26-49.
- Farsam, H., Amanlou, M., Dehpour, A. R., & Jahaniani, F. (2000). Anti-inflammatory and analgesic activity of *Biebersteinia multifida* DC. root extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 71(3), 443-447.

- Fein, A., Petrov, P., Francischi, J. N., & Ferreira, S. H. (2011). Nociceptores: As células que sentem dor. Petrov P, Francischi JN, Ferreira SH, et al. tradutores. Ribeirão Preto–SP: Dor On Line.
- Fernandes, H. B., da Silva Lopes, L., Marques, R. B., da Silva Pereira, S., Ayres, M. C., Chaves, M. H., & Almeida, F. R. (2012). Mechanisms of the antinociceptive action of (–) Epicatechin obtained from the hydroalcoholic fraction of *Combretum leprosum* Mart & Eic in rodents. *Journal of biomedical science*, 19(1), 68.
- Fernandes, E. V., de Paula Ramos, S., Estanislau, C., & Venancio, E. J. (2012). Efeitos comportamentais e imunológicos da fluoxetina em ratos submetidos ao nado forçado. *Psicologia: teoria e pesquisa*, 28(4), 409-415.
- Ferreira, V. M. M., Bastos, G. N. T., Santos, A. R. S., Costa, A. M. R., Bispo, C. I., Silveira, A. J. A., & Do Nascimento, J. L. M. (2006). Antinociceptive effect of the aqueous extract obtained from roots of *Physalis angulata* L. on mice. *Journal of ethnopharmacology*, 103(2), 241-245.
- Fleck, M. P. D. A., Lafer, B., Sougey, E. B., Del Porto, J. A., Brasil, M. A. A., & Jurueña, M. F. (2003). Diretrizes da Associação Médica Brasileira para o tratamento da depressão (versão integral). *Revista brasileira de psiquiatria= Brazilian journal of psychiatry*. São Paulo, SP. Vol. 25, n. 2 (jun. 2003), p. 114-122.
- Franco, C. Estudo da atividade farmacológica no sistema nervoso central de *Sida cordifolia* L.(Malvaceae) em roedores. 2003. 129 f (Doctoral dissertation, Dissertação (Mestrado)).
- Frangou, S. (2006). Functional neuroimaging in mood disorders. *Psychiatry*, 5(5), 176-179.
- Gaumont, I., Spooner, M. F., & Marchand, S. (2007). Sex differences in opioid-mediated pain inhibitory mechanisms during the interphase in the formalin test. *Neuroscience*, 146(1), 366-374.
- Golan, D., Junior, T., Armen, H., Armstrong, E. J., & Armstrong, A. W. (2009). Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia. In Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia.
- Gracioso, J. S., Paulo, M. Q., Lima, C. A. H., & Brito, A. R. S. (1998). Natural Products: Antinociceptive Effect in Mice of a Hydroalcoholic Extract of *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. and its Organic Fractions. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 50(12), 1425-1429.
- Graeff, F. G. (1984). Drogas psicotrópicas e seu modo de ação. In *Drogas psicotrópicas e seu modo de ação*.
- Graeff, F. G., & Del-Ben, C. M. (2008). Neurobiology of panic disorder: from animal models to brain neuroimaging. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 32(7), 1326-1335.

- Graeff, F. G., & Guimarães, F. S. (2000). Fundamentos de psicofarmacologia. In Fundamentos de psicofarmacologia.
- Gunia, A. ; Waszkielewicz, AM; Cegla, M. ; Marona, H. Avaliação preliminar da atividade anticonvulsivante de alguns derivados de aminoácidos e aminoácidos de ácido cinamino. Lett. Drug Des. Discov. 2012 , 9 , 37-43.
- Hall, C. S. (1934). Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. Journal of Comparative psychology, 18(3), 385.
- Hashimoto, K. (2011). The role of glutamate on the action of antidepressants. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 35(7), 1558-1568.
- Hunskar, S., & Hole, K. (1987). The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. Pain, 30(1), 103-114.
- Hunskar, S., Fasmer, O. B., & Hole, K. (1985). Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. Journal of neuroscience methods, 14(1), 69-76.
- IASP, I. (1979). subcommittee on taxonomy. Pain terms. A list with definitions and notes on usage. Pain, 6(3), 249-52.
- Jardim, M. C., Nogueira, R. L., Graeff, F. G., & Nunes-de-Souza, R. L. (1999). Evaluation of the elevated T-maze as an animal model of anxiety in the mouse. Brain research bulletin, 48(4), 407-411.
- Johansson, C., & Ahlenius, S. (1989). Evidence for the involvement of 5-HT_{1A} receptors in the mediation of exploratory locomotor activity in the rat. Journal of Psychopharmacology, 3(1), 32-35.
- Jones, S. L. (1996). Dipyrone into the nucleus raphe magnus inhibits the rat nociceptive tail-flick reflex. European journal of pharmacology, 318(1), 37-40.
- Julius, D., & Basbaum, A. I. (2001). Molecular mechanisms of nociception. Nature, 413(6852), 203.
- Kaneko, M., & Hammond, D. L. (1997). Role of Spinal γ -Aminobutyric Acid Receptors in Formalin-Induced Nociception in the Rat. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 282(2), 928-938.
- Kalueff, A. V., & Tuohimaa, P. (2005). The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neurobehavioural stress research. Journal of neuroscience methods, 143(2), 169-177.
- Klaumann, P. R., Wouk, A. F. P. F., & Sillas, T. (2008). Patofisiologia da dor. Archives of Veterinary Science, 13(1).
- Kupers, R., & Kehlet, H. (2006). Brain imaging of clinical pain states: a critical review and strategies for future studies. The Lancet Neurology, 5(12), 1033-1044.

- Le Bars, D., Gozariu, M., & Cadden, S. W. (2001). Animal models of nociception. *Pharmacological reviews*, 53(4), 597-652.
- Leite, J., & Siqueira, J. (2006). Métodos para avaliar drogas ansiolíticas. ALMEIDA, RN Psicofarmacologia: fundamentos práticos. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 154-160.
- Litchfield, J. J., & Wilcoxon, F. (1949). A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 96(2), 99-113.
- Loeser, J. D., & Melzack, R. (1999). Pain: an overview. *The Lancet*, 353(9164), 1607-1609.
- Loeser, J. D., & Treede, R. D. (2008). The Kyoto protocol of IASP Basic Pain Terminology☆. *Pain*, 137(3), 473-477.
- Linck, V., da Silva, A. L., Figueiro, M., Caramao, E. B., Moreno, P. R. H., & Elisabetsky, E. (2010). Effects of inhaled Linalool in anxiety, social interaction and aggressive behavior in mice. *Phytomedicine*, 17(8-9), 679-683.
- Lister, R. G. (1987). The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology*, 92(2), 180-185.
- Lukas, G., Brindle, S. D., & Greengard, P. (1971). The route of absorption of intraperitoneally administered compounds. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 178(3), 562-566.
- Machado, B. F. M. T., & Fernandes Júnior, A. (2011). Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. *Cadernos Acadêmicos*, 105-127.
- Marquez, J. O. (2004). Bases de anatomia e fisiopatologia. *Dor, Diagnóstico & Tratamento*, 1, 3-10.
- Mattei, R., & Franca, C. I. F. (2006). Testes gerais para confirmar a ação central. ALMEIDA, RN Psicofarmacologia: fundamentos práticos, 1, 138-142.
- Maurício, C., Costa, D. C., & Siqueira, J. T. T. De. (2009). I " 1 e Prática Onofre Alves Neto.
- McNamara, C. R., Mandel-Brehm, J., Bautista, D. M., Siemens, J., Deranian, K. L., Zhao, M., ... & Fanger, C. M. (2007). TRPA1 mediates formalin-induced pain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(33), 13525-13530.
- Melo, C. T. V. D. (2006). Estudo dos efeitos farmacológicos de (O-METIL)-N-2, 6-Dihidroxi-benzoil Tiramina (Riparina III) de Aniba Riparia (NEES) mez (Lauraceae) em modelos comportamentais de ansiedade e depressão em camundongos.

- Millstein, R. A., Quintiliani, L. M., & Sharpe, A. L. (2018). Society of Behavioral Medicine (SBM) position statement: Increasing funding for the NIH OBSSR to promote timely and effective behavioral medicine research. *Translational Behavioral Medicine*, 4. <https://doi.org/10.1093/TBM/IBX022>
- Montgomery, S. A. (1999). Predicting response: noradrenaline reuptake inhibition. *International clinical psychopharmacology*, 14, S21-6.
- Montgomery, K. C. The relationship between fear induced by novel stimulation and exploration behavior. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, v. 48, p. 254-260, 1955.
- Moraes Pultrini, A., Galindo, L. A., & Costa, M. (2006). Effects of the essential oil from *Citrus aurantium* L. in experimental anxiety models in mice. *Life Sciences*, 78(15), 1720-1725.
- Morilak, D. A., & Frazer, A. (2004). Antidepressants and brain monoaminergic systems: a dimensional approach to understanding their behavioural effects in depression and anxiety disorders. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 7(2), 193-218.
- Neis, V. B. (2013). Avaliação do efeito tipo-antidepressivo da agmatina em um modelo animal de depressão.
- Nestler, E. J., Barrot, M., DiLeone, R. J., Eisch, A. J., Gold, S. J., & Monteggia, L. M. (2002). Neurobiology of depression. *Neuron*, 34(1), 13-25.
- Neto, O. A. (2009). *Dor: princípios e prática*. Artmed Editora.
- Norte, M. C. B., Cosentino, R. M., & Lazarini, C. A. (2005). Effects of methyl-eugenol administration on behavioral models related to depression and anxiety, in rats. *Phytomedicine*, 12(4), 294-298.
- Nutt, D., & Lingford-Hughes, A. (2004). Key concepts in psychopharmacology. *Psychiatry*, 3(7), 1-4.
- Oliveira, M., Barreto, A., Júnior, L. Q., & Guimarães, A. (2014). Aplicação de terpenos como agentes analgésicos: Uma prospecção tecnológica. *Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias*, 4(4), 1292-1298.
- Oliveira, K. L. D., Santos, A. A. A. D., Cruvinel, M., & Néri, A. L. (2006). Relação entre ansiedade, depressão e desesperança entre grupos de idosos. *Psicologia em Estudo*.
- Passos, C. S., Arbo, M. D., Rates, S. M. K., & Von Poser, G. L. (n.d.), 2009. Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 19(1A), 140–149. Retrieved from <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/20898/000730095.pdf?sequence=1>

- Pellow, S., Chopin, P., File, S. E., & Briley, M. (1985). Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of neuroscience methods*, 14(3), 149-167.
- Pimentel, V. P., Vieira, V. A. M., Mitidieri, T. L., Oliveira, F. F. S., & Pieroni, J. P. (2015). Biodiversidade brasileira como fonte da inovação farmacêutica: uma nova esperança?.
- Pubchem. (2018). Cinnamyl alcohol, National Center for Biotechnology Information. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5315892#section=Top>
- Seo, J. J., Park, J. H., Cha, H. Y., Hong, J. T., Han, K., & Oh, K. W. (2005). Anxiolytic-like effects of ginseng in the elevated plus-maze model: comparison of red ginseng and sun ginseng. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 29(6), 895-900.
- Posso, I. D. P., Palmeira, C. C. D. A., & Vieira, É. B. D. M. (2016). Epidemiology of neuropathic pain. *Revista Dor*, 17, 11-14.
- Porsolt, R. D., Bertin, A., & Jalfre, M. (1978). Behavioral despair in rats and mice. Strain differences and effects of imipramine. *Eur J Pharmacol*, 512, 291-294.
- Porsolt R.D, Anton N.B, Jalfre M 1977a. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol* 47: 379-391.
- Porsolt, R. D., Le Pichon, M., & Jalfre, M. L. (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266(5604), 730.
- Prata, H. L., Alves Junior, E. de D., Paula, F. L., & Ferreira, S. M. (2011). Envelhecimento, depressão e quedas: um estudo com os participantes do Projeto Prev-Quedas. *Fisioterapia Em Movimento*, 24(3), 437-443. <https://doi.org/10.1590/S0103-51502011000300008>
- Prut, L.; Belzung, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behavior: a review. *European Journal of Pharmacology*, v. 463, p. 18-27, 2003.
- Rao, P. V., & Gan, S. H. (2014). Cinnamon: A Multifaceted Medicinal Plant. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2014/642942>
- Rang, H. P; Dale, M. M. *Farmacologia*. 7ª ed Rio de Janeiro: Elsevier, p. 768, 2012.
- Raupp, I. M., Sereniki, A., Virtuoso, S., Ghislandi, C., e Silva, E. C., Trebien, H. A., ... & Andreatini, R. (2008). Anxiolytic-like effect of chronic treatment with *Erythrina velutina* extract in the elevated plus-maze test. *Journal of ethnopharmacology*, 118(2), 295-299.
- Rujjanawate, C., Kanjanapothi, D., & Panthong, A. (2003). Pharmacological effect and toxicity of alkaloids from *Gelsemium elegans* Benth. *Journal of ethnopharmacology*, 89(1), 91-95.

- Sadock, B. J., Sadock, V. A., & Ruiz, P. (2016). *Compêndio de Psiquiatria-: Ciência do Comportamento e Psiquiatria Clínica*. Artmed Editora.
- Salgado, P. (2011). Avaliação da atividade antinociceptiva central de HPA-05: um derivado imidazolidínico. 2011. 138f (Doctoral dissertation, Dissertação (Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Farmacologia)–UFPB/CCS/LTF, João Pessoa).
- Sarmiento-Neto, J., do Nascimento, L., Felipe, C., & de Sousa, D. (2015). Analgesic Potential of Essential Oils. *Molecules*, 21(12), 20. <https://doi.org/10.3390/molecules21010020>
- Santos, A. K. F. D. S. (2015). investigação da atividade psicofarmacológica do extrato etanólico bruto de *Sargassum polyceratum* em modelos animais UTILIZANDO ROEDORES Trabalho. Universidade Federal da Paraíba. Retrieved from <http://rei.biblioteca.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/923/1/AKFSS18052015.pdf>
- Savić, M. M., Obradović, D. I., Ugrešić, N. D., Cook, J. M., Yin, W., Van Linn, M., & Bokonić, D. R. (2006). Benzodiazepine site inverse agonists and locomotor activity in rats: bimodal and biphasic influence. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 84(1), 35-42.
- Schanaider, A., & Silva, P. C. (2004). Uso de animais em cirurgia experimental. *Acta Cir Bras*, 19(4), 441-7.
- Scholz, J., & Woolf, C. J. (2002). Can we conquer pain?. *Nature neuroscience*, 5, 1062.
- Schnakers, Caroline et al. (2012). What about pain in disorders of consciousness?. *The AAPS journal*, v. 14, n. 3, p. 437-444.
- Schmitt, U., & Hiemke, C. (1998). Strain differences in open-field and elevated plus-maze behavior of rats without and with pretest handling. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 59(4), 807-811.
- Schink, A., Naumoska, K., Kitanovski, Z., Kampf, C. J., Fröhlich-Nowoisky, J., Thines, E., ... & Lucas, K. (2018). Anti-inflammatory effects of cinnamon extract and identification of active compounds influencing the TLR2 and TLR4 signaling pathways. *Food & function*, 9(11), 5950-5964.
- Sevostianova, N., Zvartau, E., Beshpalov, A., & Danysz, W. (2003). Effects of morphine on formalin-induced nociception in rats. *European journal of pharmacology*, 462(1-3), 109-113.
- Serretti, A., & Mandelli, L. (2010). Antidepressants and body weight: a comprehensive review and meta-analysis.
- Seo, J. J., Lee, S. H., Lee, Y. S., Kwon, B. M., Ma, Y., Hwang, B. Y., ... & Oh, K. W. (2007). Anxiolytic-like effects of obovatol isolated from *Magnolia obovata*: involvement of GABA/benzodiazepine receptors complex. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 31(7), 1363-1369.

- Shaw, K., Johnston, L. J., Bennett, C., & Smits, R. J. (2007). Identifying the relationship of gilt rearing characteristics to lifetime sow productivity. *Manipulating Pig Production XI*. Australasian Pig Science Association, 39.
- Shields, S. D., Cavanaugh, D. J., Lee, H., Anderson, D. J., & Basbaum, A. I. (2010). Pain behavior in the formalin test persists after ablation of the great majority of C-fiber nociceptors. *PAIN®*, 151(2), 422-429.
- Shibata, M., Ohkubo, T., Takahashi, H., & Inoki, R. (1989). Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *pain*, 38(3), 347-352.
- Silva, M. I. G., de Aquino Neto, M. R., Neto, P. F. T., Moura, B. A., do Amaral, J. F., de Sousa, D. P., ... & de Sousa, F. C. F. (2007). Central nervous system activity of acute administration of isopulegol in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 88(2), 141-147.
- Silva, A. B., Santos, T. C., Marques, M. S., Menezes, I. A., Dias, K. S., Mello, I. C., ... & Marçal, R. M. (2007). Antinociceptive effect and acute toxicity of the *Hyptis suaveolens* leaves aqueous extract on mice. *Fitoterapia*, 78(5), 333-336.
- Siqueira, J. T. T., & Teixeira, M. J. (2009). *Dores orofaciais: diagnóstico e tratamento*. Artmed Editora.
- Sonavane, G. S., Sarveiya, V. P., Kasture, V. S., & Kasture, S. B. (2002). Anxiogenic activity of *Myristica fragrans* seeds. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 71(1-2), 239-244.
- Souza, M. M., Madeira, A., Berti, C., Krogh, R., Yunes, R. A., & Cechinel-Filho, V. (2000). Antinociceptive properties of the methanolic extract obtained from *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. *Journal of Ethnopharmacology*, 69(1), 85-90.
- Sylvers, P., Lilienfeld, S. O., & LaPrairie, J. L. (2011). Differences between trait fear and trait anxiety: Implications for psychopathology. *Clinical psychology review*, 31(1), 122-137.
- Teixeira, R. C., Zangrossi Jr, H., & Graeff, F. G. (2000). Behavioral effects of acute and chronic imipramine in the elevated T-maze model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 65(4), 571-576.
- Teixeira, M. J., Correa, C. F., & Pimenta, C. A. (1994). Dor: conceitos gerais. In *Dor: conceitos gerais*.
- Tjølsen, A., Berge, O. G., Hunskaar, S., Rosland, J. H., & Hole, K. (1992). The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*, 51(1), 5-17.
- Vale, F. M. (2000). Dor. Novos aspectos fisiopatológicos e consequentes estratégias farmacológicas. *Revista da Faculdade de Medicina de Lisboa*, 5(5), 291-304.
- Van Hecke, O., Torrance, N., & Smith, B. H. (2013). Chronic pain epidemiology and its clinical relevance. *British journal of anaesthesia*, 111(1), 13-18.

- Van Hecke, O., Torrance, N., & Smith, B. H. (2013). Chronic pain epidemiology and its clinical relevance. *British Journal of Anaesthesia*, 111(1), 13–18. <https://doi.org/10.1093/bja/aet123>
- Vitor, P. V., Mitidieri, T., França, F., & João Paulo Pieroni. (2015). Biodiversidade brasileira como fonte da inovação farmacêutica: uma nova esperança?, 41–89. Retrieved from https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/5602/1/RB_43_Biodiversidade_brasileira_como_fonte_da_inova%C3%A7%C3%A3o_P.pdf
- Walsh, R. N.; Cummins, R. A. The open field test: a critical review. *Psychological Bulletin*, v. 83, p. 481-504, 1976.
- Willner, P. (2005). Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology*, 52(2), 90-110.
- Wilhelm, E. A., Jesse, C. R., Bortolatto, C. F., Nogueira, C. W., & Savegnago, L. (2009). Antinociceptive and anti-allodynic effects of 3-alkynyl selenophene on different models of nociception in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 93(4), 419-425.
- Wong, M. L., & Licinio, J. (2001). Research and treatment approaches to depression. *Nature Reviews Neuroscience*, 2(5), 343.
- Yaksh, T. L. (2006) Central pharmacology of nociceptive transmission. In: Wall, P.D.; Melzack, R. (Eds). *Textbook of Pain*, 4 ed. Edinburgo: Elsevier Churchill Livingston, p. 371-414.
- Yao, Y., Huang, H. Y., Yang, Y. X., & Guo, J. Y. (2015). Cinnamic aldehyde treatment alleviates chronic unexpected stress-induced depressive-like behaviors via targeting cyclooxygenase-2 in mid-aged rats. *Journal of ethnopharmacology*, 162, 97-103.
- Zalta, A. K. (2011). A meta-analysis of anxiety symptom prevention with cognitive-behavioral interventions. *Journal of anxiety disorders*, 25(5), 749-760.