

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**DEPARTAMENTO DE PSICOLOGIA**

**CURSO DE FARMÁCIA**

**DIEGO DE CALDAS LACERDA**

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DA ATIVIDADE  
ANSIOLÍTICA-SÍMILE DO 2-ALILFENOL**

JOÃO PESSOA – PB

NOVEMBRO – 2021

**DIEGO DE CALDAS LACERDA**

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DA ATIVIDADE ANSIOLÍTICA-  
SÍMILI DO 2-ALILFENOL**

**Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Coordenação do Curso  
de Graduação em farmácia, do Centro  
de Ciências da Saúde, da Universidade  
Federal da Paraíba, como parte dos  
requisitos para obtenção do grau de  
Bacharel em Farmácia.**

**ORIENTADORA: DRA. MIRIAN GRACIELA DA SILVA STIEBBE SALVADORI**

**JOÃO PESSOA – PB**

**NOVEMBRO – 2021**

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catálogo e Classificação**

L131a Lacerda, Diego de Caldas.

Avaliação comportamental da atividade  
ansiolítica-símile do 2-alilfenol / Diego de Caldas  
Lacerda. - João Pessoa, 2021.

50 f. : il.

Orientação: Mirian Graciela da Silva S.Salvadori.  
TCC (Graduação) - UFPB/CCS.

1. 2-alilfenol. 2. Ansiedade. 3. Camundongos. 4.  
Fenilpropanói. I. Salvadori, Mirian Graciela da Silva  
Stiebbe. II. Título.

UFPB/CCS

CDU 547-3

**DIEGO DE CALDAS LACERDA**

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DA ATIVIDADE ANSIOLÍTICA-  
SÍMILI DO 2-ALILFENOL**

**Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Coordenação do Curso  
de Graduação em farmácia, do Centro  
de Ciências da Saúde, da Universidade  
Federal da Paraíba, como parte dos  
requisitos para obtenção do grau de  
Bacharel em Farmácia.**

Aprovado em 22 de novembro de 2021.



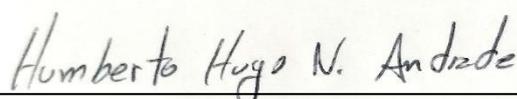
---

Profa. Dra. Mirian Graciela da Silva Stiebbe Salvadori  
Universidade Federal da Paraíba- UFPB



---

Profa. Dra. Temilce Simões de Assis Cantalice  
Universidade Federal da Paraíba- UFPB



---

Me. Humberto Hugo Nunes de Andrade  
Universidade Federal da Paraíba- UFPB

## Dedicatória

*À minha família, minha maior riqueza, meus pais, Francisco Salatias Pimenta de Lacerda e Maria Verlania de Caldas, aos meus irmãos Maria Everlene de Caldas e Douglas Emanuel de Caldas Lacerda, família abençoada e que esteve comigo em todos os passos dados nessa caminhada*

## Agradecimentos

A **Deus** por ter segurado a minha mão e por não ter soltado em todas as tempestades durante a graduação e em toda a minha vida, por manter a minha fé e minha esperança, me dar discernimento e coragem para superar todas as batalhas e por ter cuidado de mim.

Aos meus pais, **Francisco Salatiel Pimenta de Lacerda** e **Maria Verliana de Caldas**, que sempre me apoiaram e me incentivaram estudar, me ensinaram a lutar pelos meus sonhos, que estiveram sempre ao meu lado me apoiando e me dando coragem. A minha irmã **Maria Everlene de Caldas** que é minha amiga desde sempre e sempre esteve comigo em todas as situações e que sempre acreditou que eu seria capaz de voltar a estudar, ao meu irmão **Douglas Emanuel de Caldas Lacerda**, ao qual eu me esforço para de alguma forma poder inspirar e mostrar que a educação é o melhor caminho. Vocês são a minha maior benção, amo muito vocês.

A minha companheira, meu amor, minha namorada, **Ana Caroline Evangelista de Lacerda**, por acreditar em mim mesmo quando eu não acreditava, por me escutar, me entender e apoiar, por segurar minha mão e me dar forças sempre que precisei, te amo.

Ao meu amigo **Lucas Fernandes dos Santos**, que me ajudou muito desde a minha chegada em João Pessoa até o dia em que estive aqui, que me acolheu, me ajudou nas questões da graduação.

A todos os colegas da **turma de Farmácia 2016.1**, mais uma coisa em que fui abençoado em cair em uma turma tão acolhedora e amiga. E aos amigos que se tornaram mais próximos durante esse processo e que quero levar pra toda a vida, **Eurípedes Targino Neto** e **João Batista de Oliveira**.

A todos os professores da Universidade Federal da Paraíba, que contribuíram com o a minha formação como aluno, profissional e como pessoa. Em especial a professora **Walleri Christini Torelli Reis**, que desde o início se mostrou ser uma amiga, e sempre que um aluno precisou, sempre foi muito solícita.

Aos meus orientadores **Reinaldo Nóbrega de Almeida** e **Mirian Graciela da Silva Stiebbe Salvadori**, obrigado por me receberem no laboratório de Psicofarmacologia, por todos os conhecimentos passados, e mesmo com tantas tarefas, sempre foram muito presentes no laboratório e nas orientações.

Aos membros da banca examinadora, **Temilce Simões de Assis Cantalice** e **Humberto Hugo Nunes de Andrade** por todas as contribuições feitas para a versão final desse trabalho.

A **Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências da Saúde e Departamento de Ciências Farmacêuticas**, onde nesses 5 anos e meio foi a minha segunda casa, que me acolheu e me proporcionou todo o apoio para que pudesse concluir essa graduação, com certeza a universidade pública forma profissionais de excelência.

## Resumo

LACERDA, D. C. **Avaliação comportamental da atividade ansiolítica-símile do 2-alilfenol**, Coordenação do Curso de Farmácia, Trabalho de conclusão de Curso, CCS/UFPB (2021).

A busca por novas moléculas que possam ser incorporadas no manejo clínico dos transtornos de ansiedade vem aumentando nos últimos anos, o que se justifica pela alta prevalência e incidência global, bem como, pelo prejuízo causado na qualidade de vida de grande parte da população acometida por este transtorno. Há também, lacunas deixadas pelos fármacos utilizados para o tratamento dos transtornos de ansiedade como, efeitos adversos graves, principalmente a dependência farmacológica, além de que muitos pacientes são refratários aos tratamentos disponíveis. Nesse contexto, as plantas aromáticas, que são ricas em Óleos Essenciais, são uma fonte de potenciais moléculas para o estudo da atividade ansiolítica, dentre elas, estão os terpenóides e fenilpropanóides. O 2-alilfenol (2-AF) é um fenilpropanóide que já possui na literatura atividade antifúngica, antinociceptiva, modelador inflamatório e antioxidante. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do 2-AF sobre a atividade locomotora no teste do campo aberto e sua possível atividade ansiolítica nos testes do labirinto em cruz elevado e teste de esconder esferas. Para tanto, utilizamos camundongos *Swiss (mus musculus)* machos, pesando entre 25 e 30g, provenientes da Unidade de Produção Animal/UFPB. Nos resultados observamos que a administração do 2-AF nas doses de 75 e 100 mg/kg levou a uma diminuição significativa na ambulação ( $p < 0,05$ ) e no comportamento de levantar (rearing) ( $p < 0,05$ ) no teste do campo aberto. No teste do labirinto em cruz elevado (LCE) o tratamento com 2-AF na dose de 12,5 teve um aumento significativo no tempo de permanência ( $p < 0,05$ ) e no número de vezes em que entrou nos braços abertos ( $p < 0,05$ ), efeito semelhante ao tratamento com a droga padrão Diazepam e no teste de esconder esferas (EE) ambas as doses do 2-AF atenuou o comportamento de enterramento das esferas ( $p < 0,05$ ), efeito também semelhante ao do grupo Diazepam. Assim, concluímos que o 2-AF apresenta um efeito ansiolítico-símile nos animais submetidos aos testes comportamentais do LCE e EE.

Palavras-chave: 2-alilfenol; ansiedade; camundongos; fenilpropanóide.

## Abstract

LACERDA, D. C. **Behavioral assessment of anxiolytic-like activity of 2-allylphenol**, Coordenação do Curso de Farmácia, Trabalho de conclusão de Curso, CCS/UFPB (2021).

The search for new molecules that can be incorporated into the clinical management of anxiety disorders has increased in recent years, which is justified by the high prevalence and global incidence, as well as the damage caused to the quality of life of a large part of the population affected by this disorder. There are also gaps left by drugs used to treat anxiety disorders, such as serious adverse effects, especially drug dependence, in addition to the fact that many patients are refractory to available treatments. In this context, aromatic plants, which are rich in Essential Oils, are a source of potential molecules for the study of anxiolytic activity, among them are terpenoids and phenylpropanoids. 2-Allylphenol (2-AF) is a phenylpropanoid that already has antifungal, antinociceptive, inflammatory and antioxidant activity in the literature. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of 2-AF on locomotor activity in the open field test and its possible anxiolytic activity in the elevated plus-maze and hidden sphere tests. For that, we used male Swiss mice (*mus musculus*), weighing between 25 and 30g, from the Animal Production Unit/IPeFarM. In the results, we observed that the administration of 2-AF at doses of 75 and 100 mg/kg led to a significant decrease in ambulation ( $p < 0.05$ ) and in the behavior of rising (rearing) ( $p < 0.05$ ) in the test of the open field. In the elevated plus-maze (EPM) test, treatment with 2-AF at a dose of 12.5 had a significant increase in length of stay ( $p < 0.05$ ) and in the number of times it entered the open arms ( $p < 0.05$ ), similar effect to the treatment with the standard drug Diazepam and in the marble burying test (MB) both doses of 2-AF attenuated the burying behavior of the spheres ( $p < 0.05$ ), an effect also similar to from the Diazepam group. Thus, we conclude that 2-AF has an anxiolytic-like effect in animals submitted to behavioral tests of EPM and MB.

Keywords: 2-allylphenol; anxiety; mice; phenylpropanoid.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: interações entre os sistemas neuroendócrinos e de neurotransmissores na fisiopatologia da ansiedade

Figura 2: Estruturas químicas da fluoxetina, sertralina, paroxetina e citalopram

Figura 3: Estruturas químicas da Venlafaxina e Duloxetina

Figura 4: Estrutura química do Diazepam e clonazepam

Figura 5: Estrutura química do 2-alilfenol, ácido salviânico e ácido sinápico

Figura 6: Camundongo (*Mus musculus*) machos albinos da linhagem Swiss

Figura 7: Aparelho utilizado no teste do Campo Aberto

Figura 8: Aparelho utilizado no teste do LCE

Figura 9: Aparelho usado no teste de esconder esferas

Figura 10: Efeito do 2-alilfenol 75 e 100 mg/kg, I.P. e Diazepam 1 mg/kg, I.P. sobre a Ambulação dos camundongos durante o teste do Campo aberto.

Figura 11: Efeito do 2-alilfenol 75 e 100 mg/kg, I.P. e Diazepam 1 mg/kg, I.P. sobre o comportamento de levantar (*Rearing*) dos camundongos durante o teste do Campo aberto.

Figura 12: Efeito do 2-alilfenol 12,5 e 25 mg/kg, I.P. e Diazepam 1 mg/kg, I.P. sobre o Tempo de Permanência dos camundongos nos braços abertos do aparelho durante o teste do Labirinto em Cruz Elevado.

Figura 13: Efeito do 2-alilfenol 12,5 e 25 mg/kg, I.P. e Diazepam 1 mg/kg, I.P. sobre o número de entradas dos camundongos nos braços abertos do aparelho durante o teste do Labirinto em Cruz Elevado.

Figura 14: Efeito do 2-alilfenol 12,5 e 25 mg/kg, I.P. e Diazepam 1 mg/kg, I.P. sobre o número de esferas escondidas pelos camundongos, durante o teste de Esconder Esferas.

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

2-AF - 2-alilfenol

ACTH - Hormônio adrenocorticotóico

ADTs - Antidepressivos Tricíclicos

CA - Campo Aberto

CRF - Fator de Liberação de Corticotropina

DSM-5 - Manual diagnóstico e estatístico de Transtornos Mentais

EE - Esconder Esferas

HPA - Hipotálamo-pituitária-Adrenal

IRSN - Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina-Noradrenalina

ISRSs - Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina

LCE - Labirinto em Cruz Elevado

OEes - Óleos Essenciais

SNC - Sistema Nervoso Central

TAG - Transtorno de Ansiedade Generalizada

TAS - Transtorno de Ansiedade de Separação

TP - Transtorno de pânico

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>16</b>
2.1 Patogenia dos Transtornos de ansiedade.....	16
2.2 Interações entre os sistemas neuroendócrinos e de neurotransmissores na ansiedade.....	17
2.3 Transtorno de Ansiedade Generalizada .....	19
2.4 Farmacoterapia dos transtornos de ansiedade .....	19
2.4.1 Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina (ISRSs) .....	19
2.4.2 Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina-Noradrenalina (IRSNs) .....	21
2.4.3 Benzodiazepínicos .....	22
2.5 Modelos animais .....	23
2.6 Plantas medicinais .....	25
2.7 2-Alilfenol (2-AF) .....	26
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>28</b>
3.1 Geral .....	28
3.2 Específicos .....	28
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>29</b>
4.1 Substancia teste (2-alilfenol) .....	29
4.2 Animais .....	29
4.3 Condições experimentais .....	30
4.4 Substâncias utilizadas .....	30
4.5 Equipamentos .....	31
4.5.1 Aparelho utilizado no teste do campo aberto .....	31
4.5.2 Aparelho utilizado no teste do labirinto em Cruz elevado .....	32
4.5.3 Aparelho utilizado no teste de esconder esferas .....	32
4.6 Testes comportamentais .....	33
4.6.1 Teste do campo aberto .....	33
4.6.2 Teste do labirinto em cruz elevado .....	34
4.6.3 Teste de esconder esferas .....	34

4.6.4	Análise estatística .....	35
5.	RESULTADOS .....	36
5.1	Teste do campo aberto .....	36
5.2	Teste do labirinto em cruz elevado .....	38
5.3	Teste de esconder esferas .....	40
6.	DISCUSSÃO .....	41
7.	CONCLUSÕES .....	43
	REFERÊNCIAS .....	44

## 1. INTRODUÇÃO

A ansiedade e o medo são sentimentos naturais e evolutivos que se sobrepõem e ao mesmo tempo se diferenciam, onde a ansiedade se caracteriza pela antecipação de ameaça futura, e o medo por uma resposta emocional iminente real ou percebida. Dessa forma, o medo está frequentemente associado a períodos de excitabilidade autonômica aumentada, necessária para luta ou fuga, com pensamentos de perigo imediato e comportamentos de fuga, e a ansiedade sendo mais frequentemente associada a tensão muscular e vigilância em preparação para perigo futuro e comportamentos de cautela ou esquiva (HAMM, 2019.; FREDRICK; LUEBBE, 2020).

No entanto, esses estados podem perder o seu caráter adaptativo pela desregulação dos circuitos fisiológicos de ansiedade por causas genéticas e/ou ambientais, como, estresse crônico ou lesão cerebral traumática, que vão dar origem a transtornos de ansiedade patológicos. O Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5, 2013) subdividiu clinicamente os transtornos de ansiedade em várias categorias, como: transtorno de ansiedade de separação, transtorno de ansiedade social (Fobia Social), transtorno de pânico, agorafobia e transtorno de ansiedade generalizada.

Esses transtornos estão entre as condições psiquiátricas mais comuns e prevalentes em todo o mundo, chegando a afetar cerca de 13% da população, no decorrer da vida, e esse número pode estar até subnotificado principalmente pela dificuldade de diagnóstico, situação que pode ser pior em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento (THIBAUT, 2017). Dessa forma, essa doença causa prejuízos significativos, na qualidade de vida de grande parcela da população mundial, visto que tem um impacto direto na saúde, tanto física, quanto mental, prejudicando suas atividades cotidianas de trabalho e lazer (LOCKE; KIRST; SHULTZ, 2015).

A farmacoterapia usada no tratamento dos Transtornos de Ansiedade é composta por inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRSs), inibidores seletivos da recaptação da serotonina-noradrenalina (IRSNs), antidepressivos atípicos, antidepressivos multimodais, benzodiazepínicos, entre outros (BANDELOW, 2020). As terapias citadas, continuam a ser o tratamento de base

para transtornos de ansiedade. No entanto, eles causam uma série de efeitos colaterais, que incluem sedação, miorelaxamento, ataxia, amnésia e dependência farmacológica (BANDELOW, 2020) dessa forma, se faz necessário a busca por novas alternativas que tenham eficácia ansiolítica, segurança, sejam mais específicas e idealmente com o custo financeiro menos elevado.

Existem uma diversidade de modelos e testes animais comportamentais bastante utilizados para pesquisa no estudo das bases neurobiológicas da ansiedade e de *Screenings* Farmacológicos para triagem de novos compostos com possível atividade ansiolítica. Dentre eles, podemos citar, o teste de campo aberto, o teste do labirinto em cruz elevado, e o teste de esconder esferas. Esses testes são utilizados na pesquisa para avaliação desta atividade farmacológica, tanto em ratos quanto em camundongos (ENNACEUR, 2014; NICOLAS; KOLB; PRINSEN, 2006).

Desde as suas origens, a humanidade tem utilizado das plantas para alimentação, cura, e sobrevivência, e com essa ligação homem-natureza, a prática do tratamento de suas doenças com plantas medicinais se tornou tradicional entre os povos, e foi passando de geração em geração, sendo utilizados até os dias atuais (ŠANTIĆ *et al.*, 2017).

As plantas aromáticas possuem uma grande variedade de compostos bioativos, dentre esses, os Óleos Essenciais (OEs) se destacam por desempenharem importantes atividades farmacológicas no SNC, como anticonvulsivante (DA FONSÊCA, *et al.*, 2019), antidepressiva (DOS SANTOS, *et al.*, 2018) e ansiolítica (DE SOUSA, *et al.*, 2015). Os OEs são líquidos altamente complexos e concentrados, constituídos de moléculas voláteis e de baixo peso molecular, sendo os principais constituintes, os terpenóides e fenilpropanóides.

Os fenilpropanóides são formados a partir da via do ácido chiquímico, sua estrutura central é composta por um grupo fenil ligado a uma cadeia de três carbonos. Este esqueleto característico é obtido a partir da desaminação enzimática do aminoácido aromático fenilalanina (GARCÍA; PÉREZ-URRIA, 2009). Essa classe de metabólitos secundários se destaca, principalmente, pela sua atividade antioxidante (SHARMA; SHARMA; PANDEY, 2016), anti-inflamatória (DE

SILVEIRA E SÁ *et al.*, 2014), possuindo também atividade antitumoral, antinociceptiva e ansiolítica (CARVALHO *et al.*, 2015.; ARAGÃO NETO *et al.*, 2019.; KWON *et al.*, 2014).

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Patogenia dos Transtornos de ansiedade

A patogênese dos transtornos de ansiedade é complexa, e envolve uma relação de interações entre fatores biológicos, influências ambientais e mecanismos psicológicos. Afim de estabelecer uma compreensão acerca de uma pré-disposição em desenvolver a ansiedade patológica, muitos estudos foram realizados na pesquisa da hereditariedade como um fator de risco desse distúrbio. Hettema *et al* (2001) demonstraram que os transtornos de ansiedade estão intimamente relacionados as famílias, onde pessoas da mesma família tem chances quatro a seis vezes maiores de também sofrer de um transtorno de ansiedade em parentes de primeiro grau de pacientes com transtorno de pânico e transtorno de ansiedade generalizada.

Os estudos tem se concentrado principalmente na identificação de variantes em genes que, potencialmente, estão relacionadas as vias de neurotransmissores e hormônios associados com a ansiedade adaptativa, por exemplo, genes relacionados a funções serotoninérgicas, noradrenérgicas, dopaminérgica, gabaérgica e, ao sistema hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), onde alterações nesses genes, podem resultar no desenvolvimento dos transtornos de ansiedade (BANDELOW *et al.*, 2016.; SMOLLER, 2016).

Embora tenha importância significativa no surgimento dos transtornos de ansiedade, a hereditariedade não consegue explicar ao todo a origem desses transtornos. Os fatores ambientais tem influência considerável, no processo de desenvolvimento dessa doença, onde muitas vezes pode ser o gatilho para o seu surgimento (FARAVELLI *et al.*, 2007). Em humanos, as alterações provocadas pelos fatores ambientais podem ter início, inclusive, durante a gestação. Stein *et al.*, (2014) relataram que mães que passam por altos níveis de estresse durante a gravidez, sendo acometidas por depressão e ansiedade, por exemplo, podem ter consequências a longo prazo nos seus filhos, podendo ter prejuízos na saúde física, problemas de cognição, transtornos de ansiedade e depressão.

A infância representa, em particular, uma fase crítica, pois o SNC ainda está em desenvolvimento, e certas experiências traumáticas, podem levar a mudanças irreversíveis no cérebro dessas crianças, fatores ambientais nos transtornos de ansiedade por exemplo, maus-tratos à criança, abuso emocional, abuso sexual, abuso físico e negligência), eventos de vida estressantes (como família e conflitos matrimoniais, relações interpessoais interrompidas, problemas de trabalho, eventos relacionados à saúde física adversa, eventos de perda, dificuldades financeiras, legais e criminais e condições perinatais), bem como o próprio estresse (FAVARELLI *et al.*, 2012).

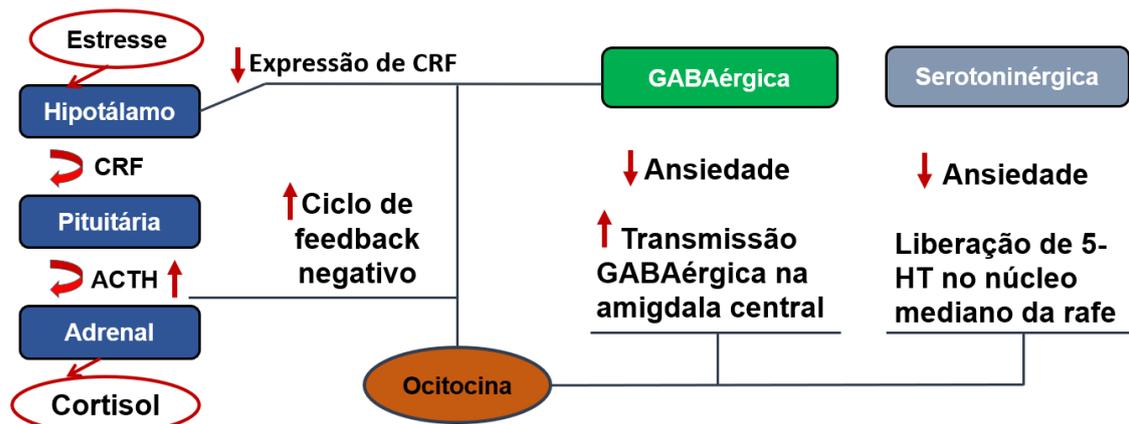
## **2.2 Interações entre os sistemas neuroendócrinos e de neurotransmissores na ansiedade**

A fisiopatologia dos transtornos de ansiedade é bastante complexa, e envolve a participação de vários sistemas de neurotransmissores e neuroendócrinos (figura 1). O estresse é o principal fator desencadeante ou agravante em vários transtornos psiquiátricos, em especial nos transtornos de ansiedade, o eixo HPA direciona a resposta neuroendocrinológica ao estresse, que é mediada pelo fator de liberação de corticotropina (CRF), hormônio adrenocorticotóico (ACTH) e corticosteroides, e tem como produto, o aumento da liberação do cortisol (GOLDSTEIN; KOPIN, 2007; SELYE, 1950).

Além do eixo HPA, alterações nos sistemas serotoninérgicos e gabaérgicos, tem papel fundamental no surgimento dos transtornos de ansiedade, e dessa forma, são alvos das principais drogas ansiolíticas atualmente em uso. O sistema serotoninérgico é o principal alvo do tratamento em pacientes com transtorno de ansiedade. Inibidores seletivos da recaptação da serotonina e inibidores seletivos da serotonina norepinefrina têm sido usados com excelente eficácia em vários transtornos de ansiedade, incluindo transtorno do pânico, transtorno de ansiedade generalizada e transtorno de ansiedade social (BANDELOW; MICHAELIS; WEDEKIND, 2017). O sistema GABAérgico é importante para a neurotransmissão inibitória no sistema nervoso central por meio do receptor GABA<sub>A</sub>. E os benzodiazepínicos exercem efeitos ansiolíticos através do aumento

das correntes pós-sinápticas inibitórias mediadas pelo receptor GABA<sub>A</sub> dentro da amígdala central (KANG-PARK; WILSON; MOORE, 2004).

**Figura 1:** interações entre os sistemas neuroendócrinos e de neurotransmissores na fisiopatologia da ansiedade (Fonte: O AUTOR, 2021)



Esses sistemas se comunicam de forma dinâmica, e a ocitocina parece ser um comunicante em comum a todos eles. A modulação do sistema serotonérgico pela ocitocina foi demonstrada em estudos com animais e sugere-se que esteja relacionada à ansiedade e à cognição social (YOSHIDA *et al.*, 2009). Um estudo com camundongos demonstrou que a infusão de ocitocina foi relacionada à redução do comportamento relacionado à ansiedade e à facilitação da liberação de serotonina no núcleo mediano da rafe. A infusão adicional de um antagonista do receptor 5-HT<sub>2a/2c</sub> inibiu os efeitos ansiolíticos da ocitocina infundida, sugerindo que esses efeitos ansiolíticos são mediados pelo sistema serotonérgico (YOSHIDA *et al.*, 2009).

Com relação ao sistema gabaérgico, um estudo demonstrou que a administração de um agonista da ocitocina, aumentou a transmissão gabaérgica dentro da amígdala central, exercendo um efeito ansiolítico semelhante ao dos benzodiazepínicos (HUBER; VEINANTE; STOOP, 2005). Além disso, outras

regiões do cérebro também estão relacionadas ao efeito ansiolítico da ocitocina por meio da ativação do GABA<sub>A</sub>. Pois, outro estudo mostrou que injeções de ocitocina no núcleo paraventricular hipotalâmico resultou em um efeito ansiolítico pelo aumento da transmissão gabaérgica e diminuição da ativação do eixo HPA, e esse efeito foi prejudicado pelo antagonista do receptor GABA<sub>A</sub> (SMITH *et al.*, 2016).

A ocitocina pode atuar diretamente no eixo HPA, ela é liberada após o estresse e pode modular a reatividade do eixo HPA, reduzindo a resposta ao estresse do eixo HPA pelo aumento do ciclo de feedback negativo do eixo HPA através de um efeito potencializador na secreção de ACTH induzida por CRF. A ocitocina também diminui a expressão de CRF de duas maneiras, indiretamente via GABA e diretamente via inibição de um coativador da transcrição do gene CRF, CRT3 (WINTER; JUREK, 2019).

### **2.3 Transtornos de ansiedade generalizada (TAG)**

Os transtornos de ansiedade generalizada (TAG) é uma condição psiquiátrica grave, bastante prevalente e altamente incapacitante, que pode ocorrer em qualquer fase da vida, mas acomete principalmente jovens e adultos, suas características principais são, ansiedade e preocupação persistentes e excessivas acerca de vários domínios, mas, principalmente por tarefas cotidianas incluindo desempenho no trabalho e escolar, onde o indivíduo encontra dificuldade em controlar. Além disso, são experimentados sintomas físicos, incluindo inquietação ou sensação de irritabilidade constante; fadiga; dificuldade de concentração; tensão muscular; e perturbação do sono (CROCCO, 2017.; LOCKE; KIRST; SHULTZ, 2015).

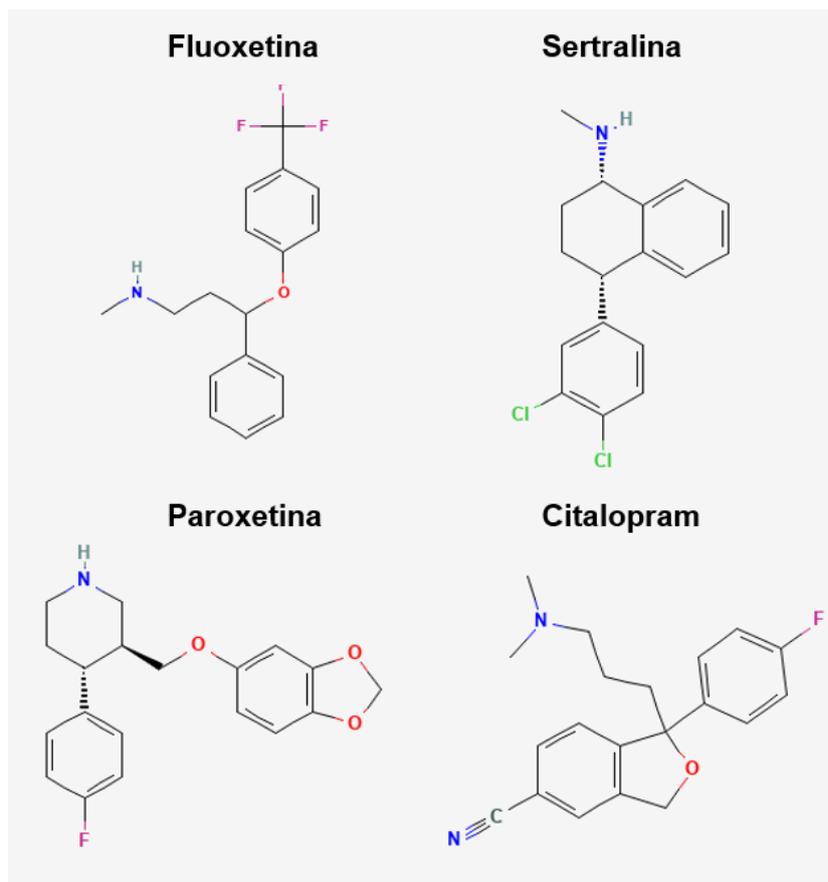
## **2.4 Farmacoterapia dos transtornos de Ansiedade**

### **2.4.1 Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina (ISRSs)**

São o tratamento de primeira linha no manejo dos transtornos de ansiedade, e devido a sua ação seletiva sobre esses neurotransmissores, apresentam uma relação risco/benefício favorável. No entanto, eles têm um intervalo de resposta relativamente grande, onde os seus efeitos ansiolíticos podem ter início apenas depois 2 a 4 semanas e em alguns casos chegando a 6 semanas, esse fato deve ser reportado ao paciente, e nesse intervalo, os efeitos colaterais podem surgir de forma mais intensa, comprometendo a adesão ao tratamento. uma maneira de diminuir esses efeitos, é iniciar o tratamento com uma dose reduzida, e após o período de adaptação, fazer o ajuste de dose (BANDELOW; MICHAELIS; WEDEKIND, 2017.; LOCHER *et al.*, 2017).

Os ISRSs agem bloqueando competitivamente a ligação do substrato ao transportador de serotonina (SERT), que é responsável por regular a homeostase de neurotransmissores por meio da reciclagem de serotonina dependente de sódio e cloreto para os neurônios pré-sinápticos, dessa forma, ele irá aumentar a concentração de serotonina na fenda sináptica, prolongando a ação do neurotransmissor. Na figura 2, estão as estruturas químicas dos ISRS: Fluoxetina, Sertralina, Paroxetina e Citalopram.

**Figura 2:** Estruturas químicas da fluoxetina, sertralina, paroxetina e citalopram  
(Fonte: adaptado de PubChem, 2021)



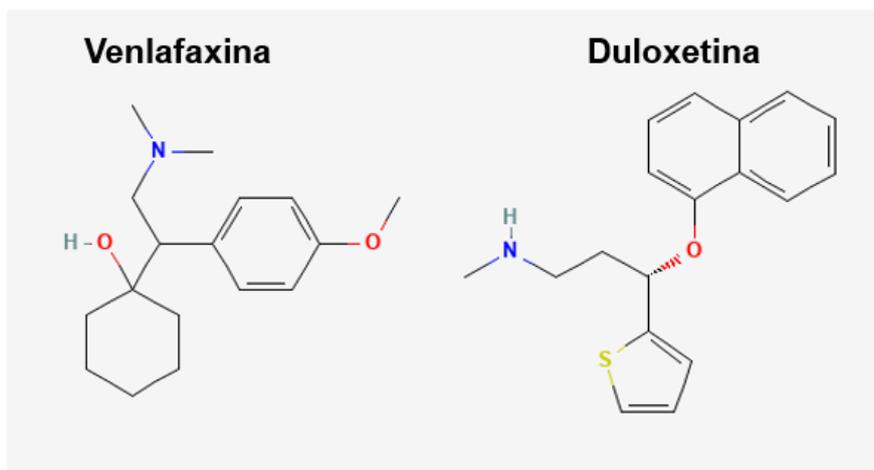
#### 2.4.2 Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina-Noradrenalina (IRSNs)

Os IRSNs são considerados os tratamentos de segunda para o tratamento dos transtornos de ansiedade, tendo em vista, a limitação dos dados disponíveis que apoiem o seu uso. Esses fármacos agem de forma semelhante aos IRSNs, no entanto, ele apresenta maior inibição sobre a recaptação da noradrenalina, e alguns metabólitos ativos podem inibir fracamente a recaptação também da dopamina (STRAWN *et al.*, 2017; BANDELOW; MICHAELIS; WEDEKIND, 2017).

Dentre os antidepressivos IRSNs já utilizados na clínica para o tratamento dos transtornos de ansiedade, estão: A Venlafaxina (figura 3) foi o primeiro antidepressivo a ser liberado pelo Food and Drug Administration (FDA) para tratamento do TAG, em adultos, ela possui um metabólito ativo *o*-desmetilvenlafaxina, que pode aumentar o seu tempo de ação e/ou seu efeito farmacológico. A Duloxetina (figura 3) é também bastante utilizada nos transtornos

de ansiedade é o único antidepressivo aprovado pela FDA para uso em crianças e adolescentes (STRAWN et al., 2015).

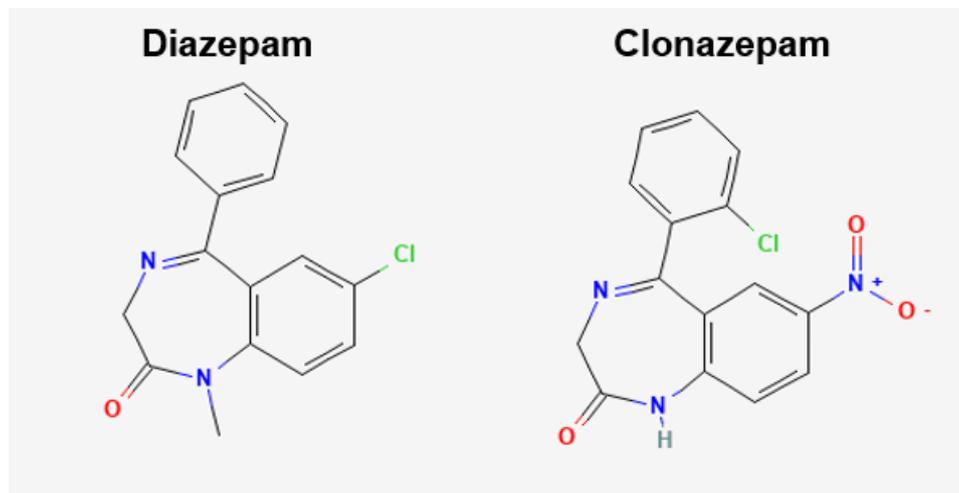
**Figura 3:** estruturas químicas da Venlafaxina e Duloxetina (Fonte: adaptado de PubChem, 2021)



### 2.4.3 Benzodiazepínicos

Os benzodiazepínicos como, Diazepam e clonazepam (figura 4) já foram o tratamento de primeira escolha para o tratamento dos transtornos de ansiedade. O início dos seus efeitos ansiolíticos começa logo após a aplicação oral ou parenteral. E em contraste com os antidepressivos, os benzodiazepínicos não causam aumento inicial de nervosismo e insônia. No entanto, o tratamento com benzodiazepínicos pode estar associado à depressão do sistema nervoso central, resultando em fadiga, tontura, aumento do tempo de reação, dificuldade de direção ao dirigir e outros efeitos adversos. As funções cognitivas podem ser prejudicadas, principalmente em pacientes idosos (BANDELOW, 2020).

**Figura 4:** estruturas químicas do Diazepam e clonazepam (Fonte: adaptado de PubChem, 2021)



Assim, os riscos e benefícios devem ser cuidadosamente considerados antes do tratamento com benzodiazepínicos. As diretrizes atuais não recomendam benzodiazepínicos como tratamentos de primeira linha. Os benzodiazepínicos também podem ser usados em combinação com ISRSs / IRSNs durante as primeiras semanas antes do início da eficácia dos antidepressivos. Em contraste com os ISRSs e os IRSNs, os benzodiazepínicos não tratam a depressão, que é uma condição comórbida comum nos transtornos de ansiedade (GOMEZ.; BARTHEL.; HOFMANN, 2018).

## 2.5 Modelos animais

Os modelos animais são amplamente utilizados na pesquisa das bases neurobiológicas das doenças psiquiátricas e na busca por substâncias com atividades farmacológicas no SNC. Dessa forma, esses modelos buscam relacionar os sinais e sintomas de tais condições que, geralmente refletem motivações, emoções e processos de pensamento que sejam atribuíveis a essas espécies. Os estudos não-clínicos de ansiedade com roedores geralmente se concentram em

modelos comportamentais com foco no comportamento natural dessas espécies que muitas vezes é um comportamento evolutivamente adaptativo, utilizados muitas vezes para avaliar a eficácia de drogas usadas para tratar a ansiedade em humanos (STEIMER, 2011.; LEZAK; MISSING; CARLEZON JR, 2017).

Essas abordagens são consideradas clássicas, validadas e bem estabelecidas, sendo projetadas para identificar novos produtos químicos ou manipulações que produzem efeitos semelhantes aos de medicamentos ansiolíticos (por exemplo, benzodiazepínicos), muito utilizados como droga padrão na maioria desses modelos. Assim, na interpretação dos resultados, deve-se ter cuidado com exageros, por exemplo, descrever um camundongo que passa menos tempo no braço aberto de um labirinto como estando "ansioso" em vez de (mais apropriadamente) expressando um comportamento "semelhante à ansiedade" (LEZAK; MISSING; CARLEZON JR, 2017).

A ansiedade e o medo produzem respostas comportamentais semelhantes, incluindo aumento da vigilância, congelamento e/ou hipoatividade, aumento da frequência cardíaca e diminuição do consumo de alimentos e, em animais, se diz que são comportamentos semelhantes a ansiedade, porque se assemelham com comportamentos de ansiedade em humanos (WALKER; TOUFEXIS; DAVIS, 2003). As áreas cerebrais que medeiam medo versus ansiedade também são comuns aos humanos e roedores, sugerindo-se que a amígdala medeia comportamentos semelhantes ao medo para estímulos aversivos curtos e discretos, enquanto o núcleo da estria terminal medeia comportamentos semelhantes aos de ansiedade ou de preocupação (WALKER; DAVIS, 2008.; WALKER; MILES; DAVIS, 2009).

Os modelos comportamentais clássicos em roedores se concentram em ensaios que avaliem seus comportamentos naturais, como: abordagem *versus* evitação, vigilância de base ou comportamentos defensivos. Os comportamentos de evitação exploram cenários que os estímulos pelo qual o animal é submetido podem ser percebidos como ameaçadores, por exemplo, um comportamento de enterrar um objeto novo para o animal ou a latência para se aproximar é quantificado e usado como uma medida de um comportamento semelhante a ansiedade. Dessa forma, há uma variedade de modelos comportamentais que são amplamente utilizados para avaliação da atividade ansiolítica, como: o teste do

labirinto em cruz elevado, teste de esconder esferas, campo aberto, teste da caixa claro/escuro, interação social, placa perfurada, alimentação suprimida pela novidade. Em cada ensaio, as condições do teste podem ser alteradas para serem mais sensíveis às manipulações que produzem efeitos ansiolíticos ou semelhantes aos ansiogênicos, incluindo níveis de iluminação, habituação ao ambiente antes do teste e ruído de fundo (BOURIN, 2015).

## 2.6 Plantas medicinais

O estilo de vida contemporâneo cada vez mais corrido e tenso, vem sendo cada vez mais associado ao uso excessivo de substâncias para tratamento da ansiedade, principalmente as da classe dos benzodiazepínicos. Essa classe de fármacos ansiolíticos é uma das mais utilizadas na terapêutica dos transtornos de ansiedade e estresse. No entanto, o seu uso está associado a uma série de riscos, como dependência farmacológica, síndrome de abstinência e prejuízos nos reflexos motores, que pode atrapalhar tarefas comuns do cotidiano. Portanto, as plantas medicinais vêm sendo cada vez mais prescritas e aceitas entre médicos e pacientes (BANDELOW, 2020).

O uso de produtos naturais em especial das plantas medicinais se iniciou há milhares de anos por populações de todo o mundo com o intuito de tratar diversas enfermidades. E antes da utilização de fármacos sintéticos, elas constituíam a principal alternativa terapêutica no tratamento das doenças e nos dias atuais ainda são bastante utilizados pela população como forma alternativa ou complementar aos medicamentos sintéticos. As plantas medicinais têm um importante papel na saúde mundial, pois além do seu uso de forma direta, elas são apresentadas como um grande potencial para a origem de novos fármacos, sendo muitas vezes o ponto de partida para a síntese também de substâncias semissintéticas, estima-se que, cerca de 25% a 30% de todas as drogas avaliadas como agentes terapêuticos são derivados de produtos naturais (CALIXTO, 2005.; VEIGA-JUNIOR; MELLO *et al.*, 2008).

Muitas plantas medicinais podem ser prescritas e utilizadas para o tratamento dos transtornos de ansiedade, como *Piper methysticum* (kaka-kava),

*Passiflora incarnata* (maracujá), *Valeriana officinalis* (erva de são Jorge), *Matricaria recutita* (camomila), *Ginkgo biloba* (ginkgo) (FAUSTINO; ALMEIDA; ANDREATINI, 2010). O efeito ansiolítico que essas plantas desempenham, muitas vezes são atribuídos a biomoléculas ou metabólitos secundários que elas possuem, como flavonóides, terpenóides e fenilpropanóides, que podem exercer seus efeitos de forma sinérgica ou em separado (SOUSA *et al.*, 2008)

## 2.7 2-Alilfenol (2-AF)

O 2-alilfenol (2-AF) (Figura 5) é um fenilpropanóide sintético, estruturalmente relacionado ao cardanol, timol e orto-eugenol. É um fungicida amplamente comercializado na China sob o nome de *Yinguo*, onde estudos atribuem sua atividade pela indução da respiração resistente ao cianeto, causando diminuição do ATP e inibindo a respiração do fungo patógeno (QU *et al.*, 2014). Além da atividade antifúngica, um estudo recente mostrou um efeito modulador inflamatório pela diminuição da interleucina-1-*beta* (IL-1  $\beta$ ) e do Fator de Necrose Tumoral-*alfa* (TNF-  $\alpha$ ) e antinociceptivo por mecanismos adenosinérgicos, anti-inflamatório e antioxidantes (ARAGÃO NETO *et al.*, 2019).

**Figura 5:** Estrutura química do 2-alilfenol, ácido salviânico e ácido sinápico  
(fonte: adaptado de PubChem, 2021)



O interesse pelo estudo da atividade ansiolítica do 2-AF se deu pela falta de estudos dessa atividade com essa molécula e também pela semelhança estrutural com outros fenilpropanóides com atividade ansiolítica como, Ácido Salviânico e Ácido Sinápico (KWON *et al.*, 2014; YOON *et al.*, 2007). Há também relatado na literatura, outros fenilpropanóides com atividade ansiolítica (MONTEIRO *et al.*, 2021.; SIVAL *et al.*, 2021.; DE ANDRADE *et al.*, 2020), possuindo também importantes atividades farmacológicas como, atividade neuroprotetora (TALAREK *et al.*, 2017) e anticonvulsivante (DA FONSÊCA *et al.*, 2019).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

- ✓ Investigar o possível efeito ansiolítico-símile do fenilpropanóide 2-alilfenol em camundongos *Swiss*.

#### **3.2 Específicos**

- ✓ Avaliar o efeito do 2-alilfenol na atividade locomotora dos camundongos utilizando o teste do campo aberto.
- ✓ Investigar a possível atividade ansiolítica do 2-alilfenol por meio do teste de labirinto em cruz elevado e teste de esconder esferas.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Substância teste (2-alilfenol)

A substância sintética 2-alilfenol (2-AF) foi obtida da Sigma-Aldrich®-EUA. A mesma foi diluída em solução salina e tween 80 a 5%. ASSIS *et al.*, (2016) determinaram a  $DL_{50} = 603$  mg/kg e utilizaram as doses 50, 75 e 100 mg/kg no seu trabalho. Dessa forma, no teste do Campo aberto utilizamos a dose de 75 e 100 mg/kg que foram as maiores doses utilizadas nos trabalhos anteriores e tinha uma boa margem com relação a  $DL_{50}$ . Observamos então, uma atividade depressora do SNC, com diminuição da atividade locomotora do animal, dessa forma, nos testes seguintes de avaliação da atividade ansiolítica, utilizamos doses menores de 12,5 e 25 mg/kg.

### 4.2 Animais

No desenvolvimento do presente estudo, foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) machos albinos da linhagem *Swiss*, com 2 a 3 meses de idade, pesando entre 25 a 35 g (Figura 4), provenientes da Unidade de Produção Animal do Instituto de Pesquisa de Fármacos e Medicamentos - IPeFarM da Universidade Federal da Paraíba.

No biotério, os animais foram alojados em gaiolas de polietileno, contendo 10 camundongos cada, mantidos sob condições monitoradas de temperatura equivalente a  $25 \pm 1^{\circ}$  C. Os animais tiveram livre acesso a uma dieta controlada à base de ração tipo *pellets* (Purina®) e água disponível em garrafas de polietileno com bicos de inox, encaixadas na parte superior da grade metálica da gaiola. Os mesmos foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12 horas, sendo a fase clara de 6:00 às 18:00 horas. Todos os animais foram utilizados uma única vez.

**Figura 6:** Camundongo (*Mus musculus*) machos albinos da linhagem *Swiss*  
(Fonte: SERVIER MEDICAL ART, 2021)



### **4.3 Condições experimentais**

Todos os testes foram realizados no Setor de Experimentação Comportamental do Laboratório de Psicofarmacologia - IPeFarM/UFPB no período compreendido entre as 08:00 e 12:00 h.

No dia anterior ao experimento, os animais foram transferidos para o local de realização dos testes, a fim de permitir sua ambientalização e minimizar o estresse provocado pela exposição a um novo ambiente. E em seguida os mesmos foram pesados e identificados (por meio de marcações feitas em sua cauda com caneta hidrográfica) e separados em grupos de no máximo 6 animais por gaiola.

Tanto a bancada quanto os aparelhos utilizados durante os testes eram higienizados previamente com álcool 70%, e no decorrer do experimento, após a observação de cada animal, era utilizado álcool 10% para limpar a aparelhagem e eliminar odores que pudessem interferir no comportamento dos animais.

Todos os procedimentos experimentais foram analisados e previamente aprovados pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do IPeFarM /UFPB, sob a certidão nº 027/2017.

### **4.4 Substâncias utilizadas**

- ✓ 2-Alilfenol (Sigma - EUA);
- ✓ Etanol (IPeFarM / UFPB – Brasil);
- ✓ Diazepam (Sigma - EUA)
- ✓ Tween 80 (polioxetileno sorbitano monoleato) (Vetec – Brasil);
- ✓ Solução salina 0,9 % (Medic Delivery - Brasil);

Cerca de 30 minutos antes da realização dos testes, as soluções a serem utilizadas eram dissolvidas em solução salina 0,9% e tween 80 a 5% e

administradas pela via intraperitoneal (i.p.) na proporção de 0,1 mL para cada 10 g de peso do animal.

## 4.5 Equipamentos

### 4.5.1 Aparelho utilizado no teste do Campo Aberto

Utilizou-se o aparelho da marca Insight® Equipamentos, Pesquisa e Ensino, modelo EP 154C (Figura 7), confeccionado em acrílico transparente, 5 mm. Consiste de uma base quadrada de 30 cm x 30 cm, dividida em 12 segmentos e um cilindro transparente de 30 cm de diâmetro x 30 cm de altura.

**Figura 7:** Aparelho utilizado no teste do Campo Aberto



Fonte: <https://www.insightltda>

#### 4.5.2 Aparelho utilizado no teste do Labirinto em Cruz Elevado

Foi utilizado o aparelho da marca Insight® Equipamentos, Pesquisa e Ensino, modelo EP151 (Figura 8), confeccionado em acrílico, o Labirinto fica elevado 40 cm do chão, com dois braços, laterais elevados (fechados), em 50 cm e dois braços (abertos), com moldura de acrílico de 1 cm de altura.

**Figura 8:** Aparelho utilizado no teste do LCE (Fonte: Laboratório da psicofarmacologia, IPeFarM/UFPB)



#### 4.5.3 Aparelho utilizado no teste de Esconder Esferas

O aparelho consiste em caixa de polipropileno, com dimensões aproximadas de 30 cm de comprimento, por 19 cm de largura e, 13 cm de altura (Figura 9) contendo maravalha suficiente para o enterramento das esferas, onde eram espalhas de forma uniforme 25 esferas de vidro maciço ('bolas de gude').

**Figura 9:** Aparelho usado no teste de esconder esferas (Fonte: Laboratório da psicofarmacologia, IPeFarM/UFPB)



## 4.6 Testes Comportamentais

### 4.6.1 Teste do Campo Aberto

Descrito por Hall (1934), o teste é feito em uma arena circular para testar os efeitos de ambientes não familiares sobre a emocionalidade em roedores, o Teste do Campo Aberto é um procedimento conveniente para medir não apenas comportamento de ansiedade, mas também sedação ou atividade exploratória do animal (PRUT; BELZUNG, 2003). A tendência natural do animal em um ambiente novo é a de explorá-lo, apesar do estresse e do conflito provocado pelo mesmo (WALSH; CUMMINS, 1976). O procedimento baseia-se em submeter o animal a um ambiente desconhecido, do qual a fuga é impedida por paredes circundantes (PRUT; BELZUNG, 2003).

No teste em questão foram utilizados 4 grupos de 6 camundongos cada, onde o grupo experimental foi tratado com 2-alilfenol nas doses de 75 e 100 mg/kg, o grupo controle foi tratado com o veículo utilizado (salina e tween 80, e grupo padrão positivo foi tratado com Diazepam 1 mg/kg). Todos os tratamentos foram realizados através da via i.p. Trinta minutos após os respectivos tratamentos, os

animais foram colocados individualmente no centro da arena para explorar livremente o ambiente novo durante um período de 5 minutos. Observaram-se os seguintes parâmetros: ambulação (número de cruzamentos dos seguimentos pelo animal com as quatro patas) e o número de comportamentos de levantar (*rearing*), (ALMEIDA *et al.*, 2006).

#### **4.6.2 Teste do Labirinto em Cruz Elevado**

O teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE) é uma ferramenta simples para avaliação da ansiedade em roedores que não requer a indução de estímulos nocivos (WALF; FRYE, 2007). Este teste baseia-se na tendência natural do animal de preferência por espaços escuros fechados e seu medo incondicionado de alturas / espaços abertos. Além disso, o teste LCE é um modelo que detecta eficientemente os efeitos ansiolíticos mediados por compostos que atuam na via GABAérgica, como o Diazepam (HANDLEY; MITHANI, 1984).

Para realização desse experimento foram utilizados 04 grupos de 06 animais, um controle, onde foi administrado o veículo (salina e tween 80); um grupo padrão que foi administrado Diazepam (1mg/kg); e dois grupos experimentais onde foram administrados 2-alilfenol nas doses de 12,5 e 25 mg/kg. 30 (Trinta) minutos após os respectivos tratamentos, cada animal foi colocado individualmente no centro da plataforma, voltados para o braço aberto, e durante 5 minutos e foi então foram avaliado o número de entradas e o tempo de permanência de cada animal nos braços abertos. A entrada em um braço foi considerada válida somente quando todas as quatro patas do animal estavam dentro daquele braço (WALF; FRYE, 2007).

#### **4.6.3 Teste de Esconder Esferas**

O teste de esconder esferas foi descrito previamente em ratos por POLING *et al.* (1981), depois vindo a ser aplicado também em camundongos. Um dos comportamentos característicos dos roedores, tanto em seu habitat natural quanto

em condições de laboratório, é chamado de enterramento defensivo, que se refere ao comportamento de mover o material que cobre a superfície da gaiola, com movimentos anteriores característicos, como que para cobrir as fontes localizadas de estímulo aversivo ou perigo potencial (NICOLAS; KOLB; PRINSSEN, 2006). Este comportamento espontâneo de enterrar materiais aversivos presentes em seu ambiente, como objetos, alimentos desagradáveis e pequenos predadores, são caracterizados como um comportamento defensivo que reflete o estado de ansiedade dos animais.

Na realização desse experimento foram utilizados 04 grupos de 06 animais, um controle, onde foi administrado o veículo (salina e tween 80), um grupo padrão que foi administrado Diazepam (1mg/kg); e dois grupos experimentais onde foram administrados 2-alilfenol nas doses de 12,5 e 25 mg/kg. Todos os tratamentos foram realizados através da via i.p. 30 (trinta) minutos após os respectivos tratamentos, cada animal foi colocado individualmente na caixa e o deixou explorar durante 10 (dez) minutos, e após esse tempo foi registrado o número de esferas enterradas (LAPA *et al.*, 2008). Sendo considerado o enterramento quando 2/3 ou mais do tamanho da esfera tinha sido coberta.

#### **4.7 Análise estatística**

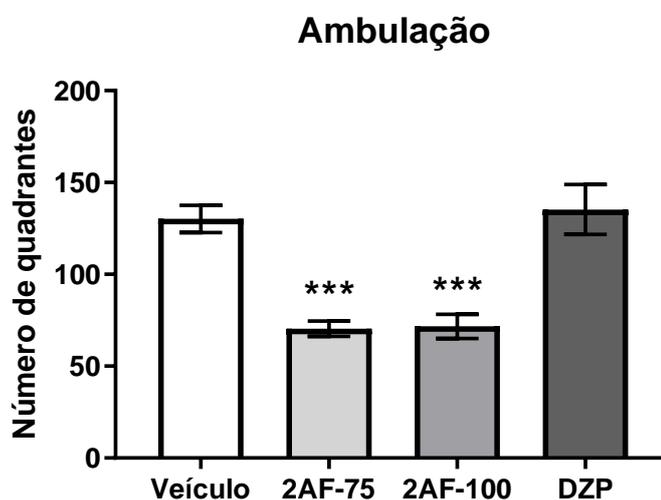
Todos os resultados obtidos foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (e.p.m.) e analisados estatisticamente empregando-se o ANOVA de uma via seguido do teste de Tukey, e foram considerados significativos os valores de  $*p < 0.05$ .

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Teste do Campo aberto

Os dados referentes a ambulação ou número de segmentos percorridos dos camundongos no teste do campo aberto, estão expressos na figura 10, e como pode ser observado, ambos os grupos tratados com 2-alilfenol nas doses de 75 e 100 mg/kg, tiveram uma redução significativa dessa movimentação horizontal ( $70,4 \pm 4,1$  e  $71,7 \pm 6,6$  respectivamente), quando comparadas ao grupo veículo ( $130,2 \pm 7,4$ ). Já o grupo controle positivo, tratado com a substância padrão, Diazepam 1,0 mg/kg ( $135,3 \pm 13,6$ ), não teve alteração significativa desse parâmetro quando, também comparado ao grupo controle.

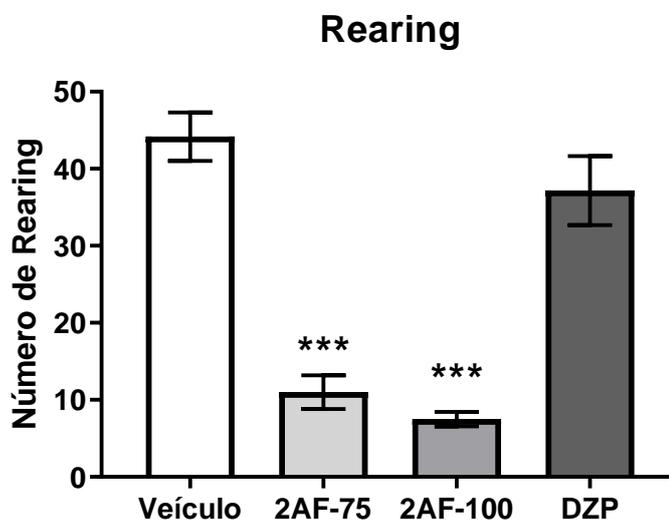
**Figura 10:** Efeito do 2-alilfenol 75 e 100 mg/kg e Diazepam 1 mg/kg, sobre a Ambulação dos camundongos durante o teste do Campo aberto.



**Legenda:** 2AF-75: 2-alilfenol 75 mg/kg; 2AF-100: 2-alilfenol 100 mg/kg; DZP: Diazepam 1 mg/kg. Valores expressos como a média  $\pm$  e. p. m. (n = 6). ANOVA de uma via seguido do teste de *Tukey's*. \*\*\*( $p < 0,001$ ).

Na figura 11 estão expressos os dados relacionados ao número de comportamentos de levantar (*rearing*), que é a movimentação vertical que os animais fazem durante o teste. Onde pode-se observar que os camundongos tratados com 2-alilfenol 75 e 100 mg/kg também tiveram uma redução significativa ( $11,0 \pm 2,2$  e  $7,5 \pm 0,9$  respectivamente), se comparados ao grupo controle negativo ( $44,2 \pm 3,2$ ). O grupo tratado com Diazepam ( $37,2 \pm 4,5$ ) na dose de 1 mg/kg teve um efeito semelhante ao observado no parâmetro da ambulação, não tendo diminuição significativa na movimentação vertical dos animais quando comparado ao grupo controle.

**Figura 11:** Efeito do 2-alilfenol 75 e 100 mg/kg e Diazepam 1 mg/kg, sobre o comportamento de levantar (*Rearing*) dos camundongos durante o teste do Campo aberto.

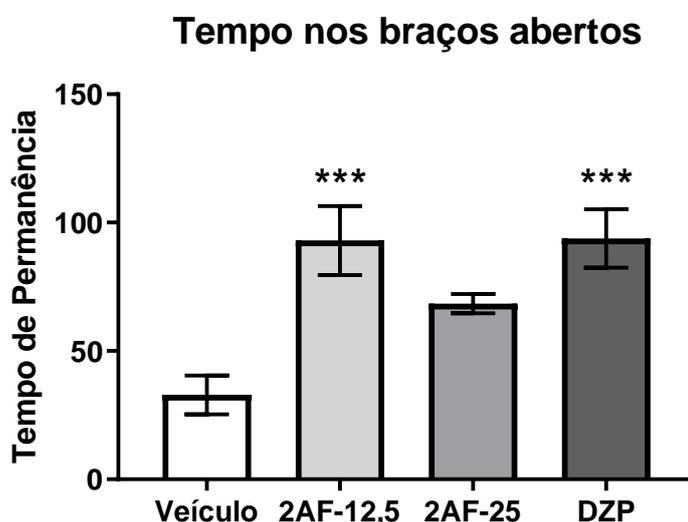


**Legenda:** 2AF-75: 2-alilfenol 75 mg/kg; 2AF-100: 2-alilfenol 100 mg/kg; DZP: Diazepam 1 mg/kg. Valores expressos como a média  $\pm$  e. p. m. (n = 6). ANOVA de uma via seguido do teste de *Tukey's*. \*\*\*( $p < 0,001$ ).

## 5.2 Teste do Labirinto em Cruz Elevado

Com relação aos resultados do teste do LCE, na figura 12 estão plotados os dados do tempo de permanência dos camundongos nos braços abertos do aparelho, onde, o tratamento com 2-alilfenol na dose de 12,5 mg/kg ( $93,0 \pm 13,5$ ) teve um aumento significativo desse tempo nos braços abertos, quando comparados ao grupo controle negativo - veículo ( $32,9 \pm 13,5$ ), esse efeito foi semelhante ao observado no tratamento com o Diazepam 1,0 mg ( $93,8 \pm 11,4$ ) padrão positivo, já o tratamento com 2-alilfenol na dose de 25 mg ( $68,4 \pm 3,7$ ) não teve alteração significativa desse parâmetro quando também comparado ao grupo veículo.

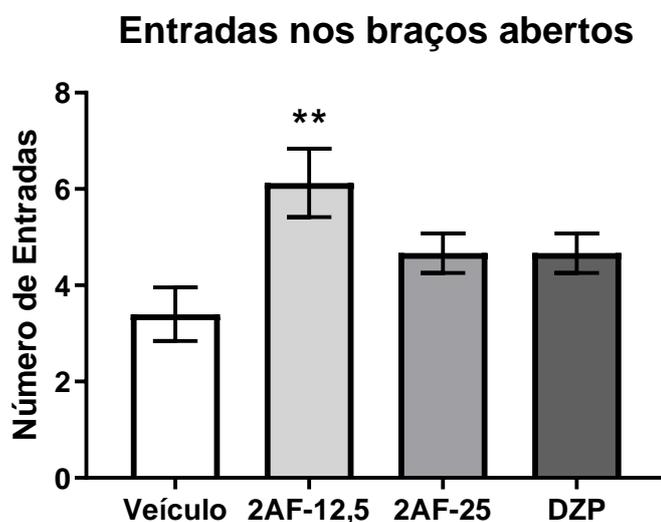
**Figura 12:** Efeito do 2-alilfenol 12,5 e 25 mg/kg e Diazepam 1 mg/kg, sobre o Tempo de Permanência dos camundongos nos braços abertos do aparelho durante o teste do Labirinto em Cruz Elevado.



**Legenda:** 2AF-12,5: 2-alilfenol 12,5 mg/kg; 2AF-25: 2-alilfenol 25 mg/kg; DZP: Diazepam 1 mg/kg. Valores expressos como a média  $\pm$  e. p. m. (n = 6). ANOVA de uma via seguido do teste de *Tukey's*. \*\*\*( $p < 0,001$ ).

Os dados referentes ao número de entradas dos camundongos nos braços abertos do aparelho durante o teste do LCE são mostrados na figura 13, onde pode ser observado que o tratamento com o 2-alilfenol 12,5 mg/kg ( $6,1 \pm 0,7$ ) teve um aumento significativo no número de vezes em que os animais entraram nos braços abertos do aparelho, se comparado ao grupo veículo ( $3,4 \pm 0,6$ ), já o 2-alilfenol 25 mg/kg ( $4,7 \pm 0,4$ ) e o Diazepam 1,0 mg/kg ( $4,7 \pm 0,4$ ) não apresentaram diferenças significativas desse parâmetro quando também comparados ao grupo veículo.

**Figura 13:** Efeito do 2-alilfenol 12,5 e 25 mg/kg, e Diazepam 1 mg/kg, sobre o número de entradas dos camundongos nos braços abertos do aparelho durante o teste do Labirinto em Crus Elevado.

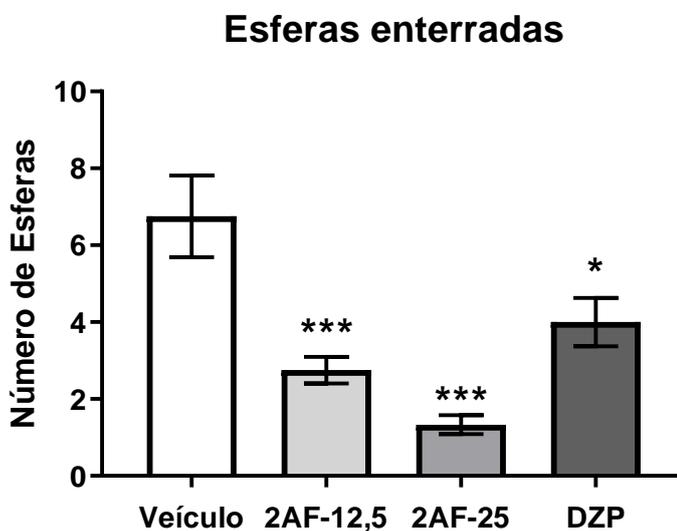


**Legenda:** 2AF-12,5: 2-alilfenol 12,5 mg/kg; 2AF-25: 2-alilfenol 25 mg/kg; DZP: Diazepam 1 mg/kg. Valores expressos como a média  $\pm$  e. p. m. (n = 6). ANOVA de uma via seguido do teste de *Tukey's*. \*\*( $p < 0,01$ ).

### 5.3 Teste de Esconder esferas

Na figura 14 estão expressos os resultados do teste de esconder esferas, onde o parâmetro avaliado foi o número de esferas escondidas pelos camundongos durante o teste. Podemos observar que o tratamento com 2-alilfenol nas doses de 12,5 e 25 mg/kg ( $2,6 \pm 0,3$  e  $1,3 \pm 0,2$ , respectivamente), levou a uma diminuição significativa desse parâmetro quando comparados ao grupo tratado apenas com o veículo ( $6,6 \pm 1,1$ ), e o grupo controle positivo tratado com Diazepam 1 mg/kg ( $4,0 \pm 0,6$ ), também teve uma redução no número de esferas enterradas, quando, também comparado ao grupo veículo.

**Figura 14:** Efeito do 2-alilfenol 12,5 e 25 mg/kg e Diazepam 1 mg/kg, sobre o número de esferas escondidas pelos camundongos, durante o teste de Esconder Esferas.



**Legenda:** 2AF-12,5: 2-alilfenol 12,5 mg/kg; 2AF-25: 2-alilfenol 25 mg/kg; DZP: Diazepam 1 mg/kg. Valores expressos como a média  $\pm$  e. p. m. (n = 6). ANOVA de uma via seguido do teste de *Tukey's*. \*\*\*( $p < 0,001$ ) e \*( $p < 0,05$ ).

## 6 DISCUSSÃO

Os modelos animais representam uma ferramenta inestimável para a investigação da neurobiologia dos transtornos relacionados à ansiedade, bem como, para o estudo da atividade ansiolítica de novas substâncias. Entre os testes disponíveis para avaliar o comportamento semelhante à ansiedade, o teste de campo aberto, o labirinto em cruz elevado e o teste de esconder esferas são comumente utilizados (CAMPOS *et al.*, 2013). Neste estudo, avaliamos o efeito ansiolítico da administração intraperitoneal do 2-AF em diferentes testes comportamentais: campo aberto, labirinto em cruz elevado e esconder esferas.

O teste de campo aberto é um procedimento amplamente utilizado para examinar os efeitos comportamentais de drogas na atividade locomotora pela estimulação ou depressão do SNC (PRUT; BELZUNG, 2003). Para avaliar o efeito dos tratamentos (2-AF e DZP) na atividade locomotora, o número de travessias foi medido no teste de campo aberto. O DZP não causou alterações na locomoção espontânea dos animais, já o 2-AF levou a uma diminuição significativa da atividade locomotora tanto nos movimentos horizontais (ambulação), quanto na movimentos verticais (*rearing*), indicando um efeito depressor do SNC. Esse efeito pode ser responsável pelas respostas comportamentais observadas indicativas de ação ansiolítica nos testes empregados, uma vez que alguns ansiolíticos já utilizados na clínica possuem esse perfil depressor do SNC, como os benzodiazepínicos e a pregabalina (FINK *et al.*, 2002; CALCATERRA; BARROW, 2014).

Com a observação da atividade depressora do SNC, e da diminuição da atividade locomotora provocadas pelo 2-AF no teste do campo aberto, na continuação dos estudos, optamos por diminuição das doses de 100 e 75 mg/kg para 25 e 12,5 mg/kg. Pois no teste do LCE há a necessidade de locomoção espontânea do animal, e essa diminuição da ambulação poderia interferir nos resultados observados.

O LCE se destaca como um dos mais populares testes em animais atualmente em uso. É um teste validado como um modelo animal de ansiedade em bases farmacológicas, fisiológicas e comportamentais (WALF; FRYE, 2007). Além disso, o LCE é bastante empregado na triagem não-clínica para

testar novos compostos com potencial atividade ansiolítica. Semelhante ao teste de campo aberto, o labirinto em cruz elevado é baseado no conflito natural entre o desejo de explorar um novo ambiente e a tendência de evitar uma área potencialmente perigosa (RAMOS, 2008). Os índices mais clássicos de comportamento do tipo ansiolítico no teste do labirinto em cruz elevado são caracterizados pelo aumento de entradas nos braços abertos e o tempo total gasto nos braços abertos (JINDAL *et al.*, 2013.; RODGERS E DALVI, 1997).

Em nosso estudo, o 2-AF na dose de 12,5 mg/kg mostrou um possível efeito do tipo ansiolítico, pois, aumentou de forma significativa o tempo de permanência nos braços abertos e também o número de entradas nos braços abertos do aparelho, em comparação com o grupo tratado apenas com o veículo, a droga padrão utilizada DZP, também teve um aumento significativo no tempo de permanência nos braços abertos. Semelhante aos resultados deste trabalho Kwon *et al* (2014) e Yoon *et al* (2007), também investigaram a atividade ansiolítica-símile de fenilpropanóides, onde os mesmos também tiveram um aumento do tempo gasto pelos camundongos nos braços abertos do LCE.

Para reforçar que o 2-AF exibe propriedades ansiolíticas, testamos seu efeito também no teste de esconder esferas. Em condições naturais e laboratoriais, ratos e camundongos usam espontaneamente o material de cama disponível para enterrar fontes desagradáveis de desconforto presentes em seu ambiente doméstico (NICOLAS; KOLB; PRINSSSEN, 2006). O comportamento de enterrar consiste em empurrar para a frente o material sobre a fonte de aversão usando o focinho e as patas dianteiras para evitar e se proteger da ameaça localizada (POLING *et al.*, 1981). Este comportamento característico, que geralmente é direcionado a várias classes de objetos nocivos, como alimentos associados a sabores desagradáveis, pequenos predadores como escorpiões ou materiais pontiagudos e eletrificados, é descrito como um comportamento defensivo refletindo o estado de ansiedade dos animais (LONDEI *et al.*, 1998; WILKIE *et al.*, 1979). O presente estudo revelou que o 2-AF em ambas as doses (12,5 e 25 mg/kg) reduziu o comportamento de enterramento das esferas, e o efeito foi semelhante ao do DZP (1 mg/kg).

## **7 CONCLUSÕES**

Os resultados desse trabalho mostraram uma atividade depressora do 2-AF nas doses de 75 e 100 mg/kg pela diminuição da locomoção espontânea no teste do campo aberto. E que a administração aguda do 2-AF (12,5 e 25 mg/kg) provoca um efeito ansiolítico-símile em testes amplamente utilizados e bem estabelecidos, pelo aumento do tempo de permanência e número de entradas nos braços abertos no teste LCE, por atenuar o comportamento de enterramento de esferas no teste de esconder esferas. Esses são resultados animadores, e deixam espaço para mais estudos dessa atividade farmacológica, podendo se fazer estudos neuroquímicos e/ou do mecanismo de ação pelo qual ele desempenha o seu efeito.

## REFERÊNCIAS

ALVES, M. R. *et al.* Cognitive functions in patients with panic disorder: a literature review. **Brazilian Journal of Psychiatry**. v. 35 (2), p. 193-200. 2013.

American Psychiatric Association. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5)** Arlington: American Psychiatric Publishing; 2013.

ARAGÃO NETO, H. C. *et al.* 2-Allylphenol Reduces IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ , Promoting Antinociception through Adenosinergic, Anti-Inflammatory, and Antioxidant Mechanisms. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. v. 2019. 1346878. 2019.

BAKER, H. J.; WAITE, P. The identification and psychological treatment of panic disorder in adolescents: a survey of CAMHS clinicians. **Child and Adolescent Mental Health**. v. 25 (3), p. 135-142. 2020.

BALARAM, K.; MARWAHA, R. Agoraphobia. **StatPearls [Internet]**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Última atualização, março de 2021.

BALDWIN, D. S. *et al.* Pregabalin for the treatment of generalized anxiety disorder: an update. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**. v. 9, p. 883–892. 2013.

BANDELOW, B. Current and Novel Psychopharmacological Drugs for Anxiety Disorders. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. 2020, p. 1191-1347. 2020

BANDELOW, B. *et al.* Biological markers for anxiety disorders, OCD and PTSD – a consensus statement part I: Neuroimaging and genetics. *The World Journal of Biological Psychiatry*. v. 17, p. 321-365. 2016.

BANDELOW, B.; MICHAELIS, S.; WEDEKIND, D. Treatment of Anxiety Disorders. **Dialogues in Clinical Neuroscience**. v. 19 (2), p. 93-107. 2017.

BATTAGLIA, M. Separation anxiety: at the neurobiological crossroads of adaptation and illness. **Dialogues in Clinical Neuroscience**. v. 17 (3), p. 277-85. 2015.

BOURIN M. Animal models for anxiolytic-type drug screening: a perspective. **Dialogues in Clinical Neuroscience**. v. 17 (3), p. 295-303. 2015.

CALCATERRA, N. E.; BARROW, J. C. Classics in Chemical Neuroscience: Diazepam (Valium). **ACS Chemical Neuroscience**. v. 4 (5), p. 253-260. 2014.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal review. **Journal of Ethnopharmacology**. v.100, p. 131-134. 2005.

CAMPOS, A. C. *et al.* Animal models of anxiety disorders and stress. **Brazilian Journal of Psychiatry**. v. 35 (2), p. 101-111. 2013.

CARVALHO, A. A. Antitumor Phenylpropanoids Found in Essential Oils. **BioMed Research Interntional**. v. 2015. 2015.

CROCQ, M. The history of generalized anxiety disorder as a diagnostic category. **Dialogues in Clinical Neuroscience**. v. 19 (2), p. 107-116. 2017.

DA FONSÊCA, D. V. *et al.* Anticonvulsant Essential Oils and Their Relationship with Oxidative Stress in Epilepsy. **Biomolecules**, v. 9 (12). pii: E835. 2019.

DE SILVEIRA E SÁ, R. C. *et al.* A Review on Anti-Inflammatory Activity of Phenylpropanoids Found in Essential Oils. **Molecules**. v. 19 (2), p. 1459 - 1480. 2014.

DE SOUSA, D. P. *et al.* A Systematic Review of the Anxiolytic-Like Effects of Essential Oils in Animal Models. **Molecules**, v, 20(10), p. 18620-60, 2015.

EATON, W. W.; BIENVENU, O. J.; MILOYAN, B. Specific fobias. **Lancet psychiatry**. v. 5 (8), p. 678-686. 2020.

EHRENREICH, J. T.; SANTUCCI, L.C.; WEINER, C. L. Separation Anxiety Disorder in Youth: Phenomenology, Assessment, and Treatment. **Psicol Conductual**. v. 16 (3), p. 389-412. 2018.

FARAVELLI, C. *et al.* Epidemiology of life events: life events and psychiatric disorders in the Sesto Fiorentino study. **Psychotherapy and Psychosomatics**. v. 76, p. 361– 368. 2007.

FARAVELLI, C. *et al.* The role of life events and HPA axis in anxiety disorders: a review. **Current Pharmaceutical Design**. v. 18 (35), p. 5663-5674. 2012.

FEIGHNER, J. P. Mechanism of action of antidepressant drugs. **The Journal of Clinical psychiatry**. v. 60 (4), p. 4-13. 1999.

FINK, K. *et al.* Inhibition of neuronal Ca<sup>2+</sup> influx by gabapentin and pregabalin in the human neocortex. **Neuropharmacology**. v. 42, p. 229–236. 2002

FREDRICK, J. W.; LUEBBE, A. M. Fear of positive evaluation and social anxiety: A systematic review of trait-based findings. **Journal of Affective Disorders**. v. 265, p. 157-168. 2020.

GARCÍA, A. Á. E PÉREZ-URRIA, E. C. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. Serie Fisiología Vegetal., 2 (3), p. 119-145. 2009.

GARCIA, R. Neurobiology of Fear and Specific Phobias. **Learning and Memory**. v. 24 (9), p. 462-471. 2017.

GOLDSTEIN, D. S.; KOPIN, I. J. Evolution of concepts of stress. **Stress**. v. 10 (2), p. 109–120. 2007.

GOMEZ, A. F.; BARTHEL, A. L.; HOFMANN, S. G. Comparing the efficacy of benzodiazepines and serotonergic anti-depressants for adults with generalized

anxiety disorder: a meta-analytic review. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**. v. 19 (8), p. 883-894. 2018.

HALL, C. S. Emotional Behavior in the Rat. I. Defecations and Urination as Measures of Individual Differences in Emotionality. **Journal Comparative Psychology**. v. 18, p. 385-403. 1934.

HAMM, A. O. Fear, anxiety, and their disorders from the perspective of psychophysiology. **Psychophysiology**, v. (57), e 13474. 2019.

HANDLEY, S.L.; MITHANI, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour. **NaunynSchmiedeberg's archives of pharmacology** 327, 1-5. 1984.

HETTEMA, J. M.; NEALE, M. C.; KENDLER, K. S. A review and meta-analysis of the genetic epidemiology of anxiety disorders. **The American Journal of Psychiatry**. v. 158, p. 1568– 1578. 2001.

HUBER, D.; VEINANTE, P.; STOOP, R. Vasopressin and oxytocin excite distinct neuronal populations in the Central Amygdala. **Science**. v. 308 (5719):245. 2005.

JINDAL, A. MAHESH, R. BHATT, S. Etazolate rescues behavioral deficits in chronic unpredictable mild stress model: modulation of hypothalamic–pituitary–adrenal axis activity and brain-derived neurotrophic factor level. **Neurochemistry International**. v. 63, p. 465-475. 2013.

KANG-PARK, M. H.; WILSON, W. A.; MOORE, S. D. Differential actions of diazepam and zolpidem in basolateral and central amygdala nuclei. **Neuropharmacology**. v. 46 (1), p. 1-9. 2004.

KOYUNCU, A. Comorbidity in social anxiety disorder: diagnostic and therapeutic challenges. **Drugs in Context**. v. 8, 212573. 2019.

KUMAR, S.; MALONE, D. Panic Disorder. **BMJ Clinical Evidence**. v. 2008. 2008.

KWON, G. *et al.* Anxiolytic-like effect of danshensu [(3-(3,4-dihydroxyphenyl)-lactic acid)] in mice. **Life Sciences**, v. 101, p. 73-78. 2014.

LAPA, A.J. *et al.* Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais. **São Paulo: Editora da Universidade Federal de São Paulo**, 2008. 144p.

LEZAK, K. R.; MISSING, G.; CARLEZON JR, W. A. Behavioral methods to study anxiety in rodents. **Dialogues in Clinical Neuroscience**. v. 19 (2), p. 181-191. 2017.

LOCHER, C. *et al.* Efficacy and Safety of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors, Serotonin-Norepinephrine Reuptake Inhibitors, and Placebo for Common Psychiatric Disorders Among Children and Adolescents. **Jama Psychiatry**. v. 74 (10), p. 1011-1020. 2017.

LOCKE, A. B.; KIRST, N.; SHULTZ, C. G. Diagnosis and management of generalized anxiety disorder and panic disorder in adults. **American Family Physician**. v. 92 (9), p. 617-624. 2015.

LONDEI, T.; VALENTINI, A. M. LEONE, V. G. Investigative burying by laboratory mice may involve non-functional, compulsive, behavior. **Behavioural Brain Research**. v. 94, p. 249–254. 1998.

MELO, C. T. V. *et al.* Anxiolytic-like effects of (O-methyl)-N-benzoyl-tyramine (riparin III) from *Aniba riparia* (Nees) Mez (Lauraceae) in mice. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**. v. 29, p. 451-454. 2006.

NICOLAS, L. B.; KOLB, Y. PRINSSEN, E. P. A combined marble burying-locomotor activity test in mice: a practical screening test with sensitivity to different classes of anxiolytics and antidepressants. **European Journal of Pharmacology**. v. 10; 547(1-3), p. 106-15. 2006.

OKURO, R. T. *et al.* Panic disorder respiratory subtype: psychopathology and challenge tests – an update. **Brazilian Journal of Psychiatry**. v. 42 (4), p. 420-430. 2020.

POLING, A.; CLEARY, J.; MONAGHAN, M. Burying by rats in response to aversive and nonaversive stimuli. **Journal of the Experimental Analysis of Behavior**. v. 35 (1), p. 31-44. 1981

PRUT, L.; BELZUNG, C. The Open Field as a Paradigm to Measure the Effects of Drugs on Anxiety-like Behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**. v. 463, p. 3-33. 2003.

QU, T. *et al.* Metabolism of fungicide 2-allylphenol in *Rhizoctonia cerealis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 102 (1), p. 136–141. 2014.

RAMOS, A. Animal models of anxiety: do I need multiple tests? **Trends in Pharmacological Science**. v. 29, p. 493-498. 2008.

RODGERS, R. J.; DALVI, A. Anxiety, defence and the elevated plus-maze. **Neuroscience e Biobehavioral Reviews**. v. 21, p. 801-810. 1997.

ROEST, A. M. *et al.* A comparison of DSM-5 and DSM-IV agoraphobia in the World. Mental Health Surveys. **Depress Anxiety**. p. 36(6), v. 499-510. 2019

ROSE, G. M.; TADI, P. Social Anxiety Disorder. **StatPearls [Internet]**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Última atualização, junho de 2021.

ŠANTIĆ, Ž. *et al.* The historical use of medicinal plants in traditional and scientific medicine. **Psychiatria Danubina**. v. 6 (24), p. 787-792. 2017.

SELYE, H. Stress and the general adaptation syndrome. **The BMJ**. v. 1 (4667), p. 1383–1392. 1950.

SHARMA, U. K.; SHARMA, K. A.; PANDEY, A. K. Medicinal attributes of major phenylpropanoids present in cinnamon. **BMC Complementary Medicine and Therapies**. v. 16, p. 156. 2016.

SHIN, J. *et al.* Clinical Implications of Agoraphobia in Patients with Panic Disorder. *Medicine (Baltimore)*. v. 99 (30), 21414. 2020.

SMITH, A. S. *et al.* Local oxytocin tempers anxiety by activating GABAA receptors in the hypothalamic paraventricular nucleus. **Psychoneuroendocrinology**. v. 63, p. 50-58. 2016.

SMOLLER, J.W. The genetics of stress-related disorders: PTSD, depression, and anxiety disorders. **Neuropsychopharmacology**. v, 41, p. 297– 319. 2016

SOUSA, F. C. F. Plantas medicinais e seus constituintes químicos: uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios de ansiedade em modelos animais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**.v. 18 (4), p. 642-654. 2008.

STEIMER, T. Animal models of anxiety disorders in rats and mice: some conceptual issues. **Dialogues in Clinical Neuroscience**. v. 13 (4), p. 495-506. 2011.

STEIN, D. J. *et al.* Subtyping social anxiety disorder in developed and developing countries. **Depression and Anxiety**. v. 27 (4), p. 390-403. 2010.

STRAWN, J. R. *et al.* Pharmacotherapy for Generalized Anxiety Disorder in Adults and Pediatric Patients: An Evidence-Based Treatment Review. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**. v. 19 (10), p. 1057-1070. 2018.

STRAWN, J. R. *et al.* A randomized, placebo-controlled study of duloxetine for the treatment of children and adolescents with generalized anxiety disorder. **Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry**. v. 54, p. 283–293. 2015.

THIBAUT, F. Anxiety Disorders: A review of current literature. **Dialogues in Clinical Neuroscience**. v. 19 (2), p. 87-88.

VAUGHAN, J. *et al.* Separation Anxiety Disorder in School-Aged Children: What Health Care Professionals Should Know. **Journal of Pediatric Health Care**. v.31 (4), p. 433-440. 2017.

WALF, A. A. FRYE, C. A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*. v. 2 (2007), p. 322-328. 2007.

WALKER, D. L.; DAVIS, M. Role of the short-lived fearless extended amygdala versus sustained fear: an homage to Dr. Lennart Heimer. **Brain Structure and Function**. v. 213 (1-2), p. 29-42. 2008

WALKER, D. L.; MILES, L. A.; DAVIS, M. Selective participation of the stria nucleus bed terminal and CRF in sustained anxiety versus phasic fear-type responses. **Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry**. v. 33 (8), p. 1291-1308. 2009.

WALKER, D. L.; TOUFEXIS D. J.; DAVIS M. Role of the stria bed nucleus terminal against an amygdala in fear, stress, and anxiety. **European Journal of Pharmacology**. v. 463 (1-3), p. 199-216. 2003

WALSH, R. N.; CUMMINS, R. A. The Open field teste: a critical reviel. **Psychological Bulletin**. v. 83 (3), p. 481-504. 1076.

WILKIE, D. M.; MACLENNAN, A. J.; PINEL, J. P. Rat defensive behavior: Burying noxious food. **Journal of the Experimental Analylis of Behavior**. v. 31, p. 299-306. 1979.

WINTER, J.; JUREK, B. The interplay between oxytocin and the CRF system: regulation of the stress response. **Cell and Tissue Research**. v. 375 (1), p. 85-91. 2019.

YOON, B. H. *et al.* Anxiolytic-like effects of sinapic acid in mice. **Life Sciences**, v. 81, p. 234-240. 2014.

MONTEIRO, A. B. *et al.* Pharmacological studies on cinnamic alcohol and its derivatives. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 31 (1), p. 1-8. 2021.

DE ANDRADE, H. H. N. *et al.* Anxiolytic and antinociceptive-like effects of cinnamic alcohol by possible GABAergic pathway modulation: In vivo and in silico studies. **Brazilian Journal of Development**. v. 6 (7), 51372-51389. 2020.

SIYAL, F. J. *et al.* Eugenol e seu nanocarreador à base de lipossoma reduzem a ansiedade ao inibir a expressão de glioxalase 1 em camundongos. **Brazilian Journal of Biology**. v. 83, 251219. 2021.

YOSHIDA, M. *et al.* Evidence that oxytocin exerts anxiolytic effects via oxytocin receptor expressed in serotonergic neurons in mice. **The Journal of Neuroscience**. v. 29 (7), p, 2259–2271. 2009.

