

**FÁBIO FAGUNDES DA ROCHA**

**ESTUDO DA ATIVIDADE DO TIPO  
ANTIDEPRESSIVA DA *Cecropia glazioui* Sneth**

*Dissertação de Mestrado apresentada ao  
Curso de Pós-graduação em Farmacologia da  
Universidade Federal de Santa Catarina, como  
requisito parcial à obtenção do título de  
Mestre em Farmacologia.*

*Orientador: Profa. Dra. Thereza Christina  
Monteiro de Lima Nogueira*

**Florianópolis - SC**

**2000**

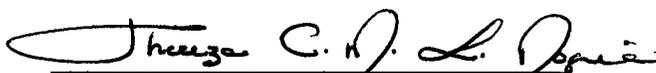
**“ ESTUDO DA ATIVIDADE DO TIPO ANTI-DEPRESSIVA  
DA *Cecropia glazioui* SNETH”.**

**POR**

**FÁBIO FAGUNDES DA ROCHA**

**Dissertação julgada e aprovada em sua  
forma final, pelo Orientador e membros  
da Banca Examinadora, composta pelos  
Professores Doutores:**

**Banca Examinadora:**



**Thereza C.M. de Lima Nogueira  
(FMC/UFSC-Membro-Titular)**



**Maria Teresa R. Lima-Landman  
(EPM/UNIFESP -Membro Titular)**



**Tadeu Lemos  
(FMC/UFSC-Membro Titular)**



**Prof. Dr. Reinaldo Naoto Takahashi  
Coordenador do Programa de  
Pós-Graduação em Farmacologia da UFSC**

**Florianópolis, 25 de Fevereiro de 2000.**

ROCHA, Fábio Fagundes. **Estudo da atividade do tipo antidepressiva da *Cecropia glazioui* Sneth.** Florianópolis, 2000, 71 pp. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Profa. Dra. Thereza Christina Monteiro de Lima Nogueira

Defesa: 25/02/2000

Esse estudo avaliou a atividade do tipo antidepressiva do extrato aquoso (EA) e de duas frações semipurificadas, fração butanólica (Fbut) e fração aquosa (Faq) da *Cecropia glazioui* Sneth, conhecida popularmente como embaúba. Para isso foi usado o modelo experimental da natação forçada (NF) em ratos. Nossos dados mostram que o EA (0,125 – 1,0 g/kg v.o.) reduz de forma dose-dependente a imobilidade na NF, sendo este efeito potencializado após tratamento repetido (6 dias). O mesmo perfil de atividade foi encontrado após administração da Fbut, porém não da Faq, sugerindo que o princípio biologicamente ativo no teste da NF está presente na Fbut. Também foi observado que o tratamento repetido com o EA e a Fbut eleva os níveis de serotonina e noradrenalina hipocâmpais. Nossos resultados indicam que o EA de *C. glazioui* apresenta uma atividade do tipo antidepressiva, sendo esta também encontrada na Fbut. Esta atividade parece estar relacionada às alterações nos níveis de monoaminas hipocâmpais induzidas pelo tratamento com *C. glazioui*, mas o mecanismo de ação responsável por essa atividade permanece a ser esclarecido.

**Eu já não sei se sei  
De tudo ou quase tudo  
Eu só sei de mim  
De nós  
De todo mundo**

**João Ricardo**

# AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho a todas as pessoas que de alguma forma lutam por uma sociedade mais justa e acreditam em seus ideais, tentando desta forma traçar sua própria história.

Agradeço:

Aos meus pais, Valter e Lúcia, pela formação moral e pelo respaldo financeiro que permitiu que eu me instalasse em Florianópolis.

Aos meus tios Geraldo e Vera, que mesmo não dando-lhes a atenção que merecem, sei que posso contar com eles a qualquer momento.

À minha orientadora, Dra. Thereza Christina Monteiro de Lima Nogueira, pela amizade, constante incentivo e constante transmissão de conhecimentos.

A todos os outros professores da **Coordenadoria Especial de Farmacologia** da UFSC.

À direção e aos funcionários do Biotério Central e aos funcionários do Biotério Setorial da Coordenadoria Especial de Farmacologia>

Aos amigos da "Turma de 98" : George, Janice, Luciana, Rodrigo, Marcelo, Sandra e especialmente à Eunice, Juliano e Márcia por me "aturarem" tanto tempo.

Aos companheiros de laboratório: Felipe, Ricardo, Raquelzinha, Raquel, Elaine, Rafaela e particularmente ao "Mineiro" pela amizade e força em alguns momentos difíceis.

Ao pessoal da Escola Paulista de Medicina, em especial ao Dr. Antônio José Lapa e Dra. Maria Teresa de Lima-Landman, aos alunos André, Mirtes,

Ingrid, Tânia, Elisabeth, Lusiele e aos funcionários Francisco, Maria do Carmo, Celso e Vilma, pelo auxílio nos trabalhos na Escola Paulista da Medicina e por tornarem minha estadia o mais agradável possível.

Aos professores do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro: Xico, Marinho, Luis e Fred, pela formação acadêmica e por me mostrarem que a criatividade muitas vezes supera a falta de recursos financeiros.

E, finalmente, queria homenagear meu avô Jadyr, falecido em dezembro de 1999.

# ÍNDICE

<b>RESUMO</b>	I
<b>ABSTRACT</b>	Iv
<b>LISTA DE TABELAS E FIGURAS</b>	V
<b>LISTA DE ABREVIACÕES</b>	Vii
<b>INTRODUÇÃO</b>	1
Depressão	1
Teoria monoaminérgica da depressão	3
Tratamento farmacológico da depressão	4
Plantas medicinais - uso e validação	7
<i>Cecropia glazioui</i> Sneth - aspectos gerais e farmacológicos	10
Química da <i>C. glazioui</i>	14
<b>OBJETIVOS</b>	16
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	17
Animais	17
Drogas, sais e solventes	17
Material botânico	18
Extração e purificação	18
Testes farmacológicos	20
Dosagem de monoaminas	22
Análise estatística	23
<b>RESULTADOS</b>	25
• Caracterização da atividade do tipo antidepressiva, do EA de <i>C. glazioui</i> Sneth após tratamento repetido (2, 6 e 21 dias )	25
• Avaliação da atividade do tipo antidepressiva pelo método da natação forçada após 90 dias de tratamento.	29
• Avaliação da atividade locomotora pelo teste do campo aberto após 21 dias de tratamento com o EA	31
• Caracterização da atividade do tipo antidepressiva do EA e de duas frações semipurificadas Fbut e Faq, utilizando o teste	

clássico de Porsolt para a natação forçada	33
• Avaliação da atividade do tipo antidepressiva pelo método da natação forçada após 6 dias de tratamento com a Fbut e a Faq	37
• Dosagem de monoaminas hipocampais por CLAE	39
<b>DISCUSSÃO</b>	<b>44</b>
<b>CONCLUSÕES</b>	<b>57</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>58</b>

**RESUMO**

## RESUMO

A embaúba (*Cecropia glazioui* Sneth) é usada popularmente como medicamento anti-hipertensivo, cardiotônico e antiasmático em vários países da América Latina (Pio Correa, 1984; Simões, 1996; Di Stasi e col., 1989; Matos, 1991). Estudos realizados com a *Cecropia glazioui* Sneth mostraram que ela apresenta efeitos cardiovasculares e ação anti-hipertensiva (Nicolau e col., 1988; Borges, 1990; Cysneiros, 1996; Lapa e col., 1999). Em ratos, nossos estudos prévios mostraram que o extrato aquoso (EA) de *C. glazioui* aumentou a latência para imobilidade no teste da natação forçada (NF), assim como promoveu um aumento de serotonina (5-HT) e noradrenalina (NA) no hipocampo de ratos após tratamento repetido por 5 dias (Lapa e col., 1999), sugerindo um efeito do tipo antidepressivo (Sunal e col., 1994).

O presente estudo investigou a atividade do tipo antidepressiva do EA e de duas frações semipurificadas, fração butanólica (Fbut) e fração aquosa (Faq) de *C. glazioui* Sneth, utilizando o teste da NF proposto por Porsolt e colaboradores, em 1977, e também verificou possíveis alterações nos níveis de 5-HT e NA hipocampais.

Ratos fêmeas foram tratados repetidamente com o EA de *C. glazioui* (0,25; 0,5; 1,0 g/kg v.o. *bid*) sendo submetidos ao teste da NF no 2º, 6º e 21º dia ou após 90 dias de tratamento. No 21º dia, antes da NF, a atividade locomotora dos animais foi avaliada no campo aberto. O tratamento com o EA reduziu o tempo de imobilidade dos animais no teste da NF. No 2º dia foi constatada uma tendência à redução deste tempo, sendo esta redução evidente após 6 dias ou 21 dias. Os

animais que receberam oralmente o EA por 90 dias também apresentaram uma diminuição do tempo de imobilidade, característica de drogas antidepressivas. Não se observou alteração na atividade locomotora dos animais, reforçando a hipótese de uma atividade específica antidepressiva da *C. glazioui*.

Para a construção de curvas dose-resposta do EA (0,125; 0,25; 0,5; 1,0 g/kg) e avaliação dos efeitos das frações Fbut e Faq (25; 50; 100; 200 mg/kg), foi adotado o esquema de tratamento clássico proposto por Porsolt e col. em 1977 para NF. O EA reduziu de forma dose-dependente o tempo de imobilidade na NF, sendo o mesmo perfil encontrado após tratamento com a Fbut numa relação de potência aproximada de 5/1, ao passo que a Faq não apresentou efeito algum no teste da NF.

Para dosagem de monoaminas hipocâmpais, ratos fêmeas foram tratados com o EA (0,5 g/kg v.o. *bid*) por 2, 6, 21 ou 90 dias e com Fbut (50 mg/kg v.o. *bid*) ou Faq (100 mg/kg v.o. *bid*) por 6 dias, sendo então, retirado o hipocampo e dosadas a NA, a 5-HT e seus metabólitos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Após 2, 6 ou 21 dias de tratamento com o EA foi observada uma elevação dos níveis de NA hipocâmpais, não sendo este aumento estatisticamente significativo após 90 dias. Os níveis de 5-HT apresentaram-se aumentados após 6 ou 21 dias de tratamento, não apresentando alterações significativas após 2 ou 90 dias. Não foram detectadas modificações dos metabólitos no hipocampo dos animais tratados nos diferentes períodos de tempo.

Após o tratamento por 6 dias com a Fbut também foi observado um aumento de 5-HT e de NA hipocâmpais, o que reforça a idéia de uma relação causal entre as alterações bioquímicas descritas e a redução da imobilidade

observada no teste da NF, visto que após 6 dias de tratamento a Fbut foi efetiva neste teste e a Faq não promoveu alterações bioquímicas ou comportamentais nos animais tratados.

Nossos resultados sugerem que a *C. glazioui* apresenta uma atividade do tipo antidepressiva. Este efeito é dependente da dose e é potencializado após tratamento repetido. Nossas observações indicam que esta atividade está provavelmente relacionada aos aumentos de NA e 5-HT hipocampais produzidos pelo tratamento oral com o EA e a Fbut de *C. glazioui*, cujo mecanismo de ação deve ser melhor investigado em estudos futuros.

**ABSTRACT**

## ABSTRACT

*Cecropia glazioui* Sneth popularly named embaúba, has been widely used in most Latin America countries as antihypertensive, cardiologic and antiasthmatic medicine (Pio Correa, 1984; Simões, 1996; Di Stasi *et al.*, 1989; Matos, 1991). Its cardiovascular effects has been well investigated and its antihypertensive / hypotensive action scientifically established (Nicolau *et al.*, 1988; Borges, 1992; Cysneiros, 1996; Lapa *et al.*, 1999). Our previous studies showed a reduction on the latency for immobility in the forced swimming test (FST) and an increase in the levels of serotonin (5-HT) and noradrenaline (NA) after oral repetitive administration of its aqueous extract (AE) in rats, suggesting an antidepressant-like effect for this plant.

This study was aimed to investigate the antidepressant-like activity of the AE and two semipurified fractions, a butanolic (Fbut) and an aqueous fraction (Faq) from *C. glazioui*, as well as changes in the 5-HT and NA levels at the hippocampus.

Female rats were repeatedly treated with AE of *C. glazioui* (0.25; 0.5 and 1.0 g/kg *p.o.* bid) and tested in the 2<sup>nd</sup>, 6<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup> and 90<sup>th</sup> day of treatment in the FST (Porsolt *et al.*, 1977). In the 21<sup>st</sup> day, before the FST, the locomotor activity was evaluated in the open field test. The treatment with the AE reduced the immobility time of the animals in the FST. After 2 days, we could only observe a trend to reduce this parameter, but this effect was statistically significant after 6, 21 or 90 days. There was no change on the motor activity of the animals, suggesting a specific antidepressant effect of *C. glazioui*.

To investigate the actions of the Fbut and Faq (25, 50, 100 and 200 mg/kg) and build a dose-response curve with the AE (0.125; 0.25; 0.5 and 1.0 g/kg), we used the classical schedule of treatment proposed by Porsolt et alii in 1977 for the FST. The treatment with AE reduced the immobility time of animals in a dose-related way, the same profile of activity occurring with the treatment with Fbut at an approximately ratio potency of 5/1. The Faq did not promote any effect on the FST.

To verify the hippocampal monoamines levels we treated orally rats for 2, 6, 21 and 90 days with AE (0.5 g/kg) and for 6 days with Fbut (50 mg/kg) or Faq (100 mg/kg). At the end of the treatments, the hippocampus was surgically removed and the NA and 5-HT levels, as well as its metabolites, were measured by high pressure liquid chromatography method (HPLC). After 2, 6 or 21 days of repeated oral administration, an increase in the levels of NA could be assessed, but this increase was not observed after 90 days of oral treatment with AE. The 5-HT levels showed an increase after 6 and 21 days, but not after 2 or 90 days of treatment. No changes in the hippocampal levels of monoamines metabolites were not observed after any treatment.

Fbut increased the NA and 5-HT levels after 6 days of treatment, suggesting a relationship between the behavioral change observed in the FST and the biochemical alterations detected at the hippocampus levels, since after 6 days of treatment the Fbut reduce the immobility time whereas the Faq (100 mg/kg) did not produce any behavioral or biochemical effect.

Our results suggest an antidepressant-like effect of the AE and Fbut of *C. glazioui* Sneth, dose-related and potentiated by repeated treatment. There are experimental evidence of a causal relationship of this effect with the increase of the

hippocampal levels of 5-HT and NA, but the underlying mechanism of action remains to be elucidated.

# LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Página

<b>Tabela 1-</b> Critérios do DSM-IV para classificação dos transtornos de humor.	2
<b>Tabela 2</b> – Classificação dos principais grupos de antidepressivos.	6
<b>Figura 1</b> – <i>Cecropia glazioui</i> Sneth	11
<b>Figura 2-</b> Procedimento utilizado para a obtenção das Frações semipurificadas aquosa e butanólica (Faq e Fbut).	19
<b>Figura 3</b> - Efeito do EA de <i>Cecropia glazioui</i> Sneth (0,25 - 1,0 g/kg <i>bid</i> ) no tempo de imobilidade em ratos submetidos ao teste da natação forçada após 2 dias de tratamento oral.	27
<b>Figura 4-</b> Efeito do EA de <i>Cecropia glazioui</i> Sneth (0,25 - 1,0 g/kg <i>bid</i> ) no tempo de imobilidade em ratos submetidos ao teste da natação forçada após 6 e 21 dias de tratamento oral.	28
<b>Figura 5</b> - Efeito do EA de <i>Cecropia glazioui</i> Sneth (0,25 - 1,0 g/kg <i>bid</i> ) no tempo de imobilidade em ratos submetidos ao teste da natação forçada após 90 dias de tratamento oral.	30
<b>Figura 6</b> - Efeito do EA de <i>Cecropia glazioui</i> Sneth (0,25 - 1,0 g/kg <i>bid</i> ) na atividade locomotora em ratos submetidos ao teste do campo aberto após 21 dias de tratamento oral.	32
<b>Figura 7-</b> Efeito do tratamento oral com o EA de <i>Cecropia glazioui</i> Sneth (0,125 - 1,0 g/kg) no tempo de imobilidade em ratos submetidos ao teste clássico de Porsolt.	35

- Figura 8-** Efeito do tratamento oral com a Fbut e a Faq de *Cecropia glazioui* Sneth (25 - 200 mg/kg) no tempo de imobilidade em ratos submetidos ao teste clássico de Porsolt. 36
- Figura 9-** Efeito do tratamento oral com a Fbut e a Faq (50 e 100 mg/kg, respectivamente) de *Cecropia glazioui* Sneth no tempo de imobilidade em ratos submetidos ao teste da natação forçada após 6 dias de tratamento. 38
- Figura 10-** Dosagem dos níveis hipocámpais de monoaminas de ratos tratados oralmente por 2 dias ou 6 dias com o EA de *Cecropia glazioui* Sneth (0,5 g/kg; *bid*). 41
- Figura 11-** Dosagem dos níveis hipocámpais de monoaminas de ratos tratados oralmente por 21 dias ou 90 dias com o EA de *Cecropia glazioui* Sneth (0,5 g/kg; *bid*). 42
- Figura 12-** Dosagem dos níveis hipocámpais de monoaminas de ratos tratados oralmente por 6 dias com a Fbut ou Faq de *Cecropia glazioui* Sneth (50 e 100 mg/kg; *bid*, respectivamente). 43

# LISTA DE ABREVIações

**5-HIAA** – Ácido 5-hidroxi-indol-acético

**5HT** – 5-hidroxi-triptamina

**8-OHDPAT**- 8-hidroxi-2-(di-n-propilamino)tetralina

*bid* – *Bi in day*

**CA** – Campo aberto

**Ca<sup>++</sup>** – Cálcio

**CLAE** – Cromatografia líquida de alta eficiência

**DHBA** - Ácido dihidroxibenzilamina

**EA** – Extrato aquoso

**EDTA** – Ácido etilenodiaminotetracético

**F4** – Fração 4

**Fae** – Fração acetato de etila

**Faq** – Fração aquosa

**Fbut** – Fração butânóica

**Fc** – Fração clorofórmica

**HCl** – Ácido clorídrico

**HClO<sub>4</sub>** – Ácido perclórico

**i.p** – Intraperitoneal

**IMAOs** – Inibidores da monoaminoxidase

**IMI** – Imipramina

**ISRSs** – Inibidores seletivos da recaptção de serotonina

**LC** – *Locus coeruleus*

**MAO** – Monoaminoxidase

**NA** – Noradrenalina

**Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>** – Bifosfato de sódio

**Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>** – Bissulfito de sódio

**NaCl** – Cloreto de sódio

**NF** – Natação forçada

**NR** – Núcleos da *rafe*

*p. o.* – *Per oros*

**SNC** – Sistema nervoso central

**TAG** – Transtorno de ansiedade generalizada

**TCAs** – Antidepressivos tricíclicos

**v. o.** – Via oral

## INTRODUÇÃO

# INTRODUÇÃO

## Depressão

A depressão, em suas diversas manifestações, afeta, pelo menos, 5% da população adulta mundial (Klerman & Weissman, 1989), sendo sua incidência de 2 a 3 vezes maior nas mulheres (Broadhead e col., 1990; Andrew, 1999). Estatisticamente calcula-se que 25 a 30% dos casos de suicídio têm como causa a depressão (Klerman, 1987). Economicamente foi constatado que o número de dias de trabalho perdidos em pessoas com depressão é 5 vezes maior que por outras causas (Broadhead e col., 1990) e calcula-se que, em determinado momento, 13 a 20% da população adulta apresenta algum sintoma depressivo sendo que 2 a 3 % se encontra hospitalizada com as atividades diárias seriamente prejudicadas por doenças de origem afetiva (Guimarães, 1996). Apesar destes dados estima-se que 70% dos casos de depressão não são tratados nos Estados Unidos (Andrew, 1999). O mesmo quadro deve estar presente em outros países industrializados.

Diversas variáveis, interferem na classificação e caracterização dos transtornos depressivos. Segundo o Manual de Diagnóstico para Doenças Psiquiátricas da Associação de Psiquiatria Americana em sua 4<sup>a</sup> edição, (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders - DSM-IV*), os transtornos depressivos estão classificados em uma categoria maior, englobando todos transtornos de humor, como representados na tabela 1.

Tabela 1 - Critérios do DSM-IV para classificação dos transtornos de humor

---

**Transtornos bipolares**

- Transtorno bipolar tipo I

Curso

Maníaco, depressivo, misto

Apresentação

Sem sintomas psicóticos

Com sintomas psicóticos

Congruentes com o humor

Incongruentes com o humor

- Transtorno bipolar tipo II

- Ciclotimia

- Transtorno bipolar não especificado

**Transtornos depressivos**

- Depressão maior

Curso

Episódio único ou recorrente

Apresentação

Sem sintomas psicóticos

Com sintomas psicóticos

Congruentes com o humor

Incongruentes com o humor

**Dlstimia****Transtorno depressivo não especificado****Transtorno do humor associado a uma condição médica****Transtorno do humor induzido por drogas**

---

**Teoria monoaminérgica da depressão**

A principal teoria bioquímica formulada acerca da base biológica da depressão é a teoria monoaminérgica (Schildkraut, 1965). Essa teoria propõe que a depressão como consequência de um déficit funcional de aminas biogênicas em certas regiões cerebrais. Inicialmente, essa hipótese foi formulada em termos de noradrenalina, sendo posteriormente estendida a alterações ocorridas também nos níveis de serotonina. Por muitos anos esta teoria foi aceita, sendo fundamentada nas alterações neuroquímicas ocorridas no cérebro após o tratamento com antidepressivos, ou seja, um aumento da disponibilidade sináptica de monoaminas. No entanto, estudos específicos realizados em humanos, tentando relacionar a depressão à deficiência de monoaminas cerebrais, não tiveram sucesso. Além disso, foi observado que drogas, como a anfetamina, que aumentam as transmissões noradrenérgica e dopaminérgica não apresentam atividade antidepressiva. Outro detalhe importante relaciona-se ao fato dos efeitos dos antidepressivos nos processos de recaptção e metabolização se manifestarem de forma aguda, sendo que os efeitos terapêuticos se manifestam de forma crônica. Estas evidências levaram a uma reformulação da teoria, onde se sugere que as alterações nas funções monoaminérgicas ocorreriam na pós-sinapse e estariam principalmente relacionadas a receptores, explicando desta forma a manifestação tardia dos efeitos terapêuticos dos antidepressivos (Stahl, 1996). Entretanto, estudos sugerindo atividade antidepressiva de drogas que não interagem diretamente com os sistemas noradrenérgico e/ou serotoninérgico como, por exemplo, antagonistas dos receptores glutamatérgicos do tipo NMDA, levantam algumas dúvidas em relação a esta teoria (Skoinick, 1999). De qualquer

forma, até hoje não se conseguiu estabelecer um mecanismo comum de ação para todos os antidepressivos. É provável que a depressão possa ter diferentes substratos biológicos, o que explicaria a falta de resposta de alguns pacientes a determinados grupos de drogas. Uma revisão atual sugere como mecanismo de ação comum para os antidepressivos a expressão de certas citocinas, como o fator neurotrófico derivado do cérebro, após o tratamento crônico, sendo que a depressão estaria relacionada a uma hipofunção deste sistema, e não propriamente nos sistemas noradrenérgico e/ou serotoninérgico (Altar, 1999).

### **Tratamento farmacológico da depressão**

No tratamento dos transtornos de origem afetiva, existem diversos grupos de fármacos com eficácia clínica comprovada e estes estão representados na tabela 2. Apesar de apresentarem mecanismos de ação primário diferentes, tem sido observado uma íntima relação destes fármacos com os sistemas noradrenérgico e serotoninérgico e alterações dos mesmos em diversas áreas do cérebro relacionadas ao comportamento emocional e à memória, dentre elas o hipocampo (Mongeau e col., 1997; Nemeroff, 1998; Alvarez e col., 1999). Em geral, as drogas não diferem entre si na eficácia e os efeitos terapêuticos se manifestam de forma retardada, dentro de 2 a 4 semanas, sendo esta a principal dificuldade para a adesão ao tratamento, visto que os efeitos colaterais se manifestam agudamente. Desta forma, se faz necessária a busca por medicamentos de ação mais rápida e/ou maior aceitação junto à população.

Com a corrente naturalista dos anos 90 e a comprovação dos efeitos terapêuticos de plantas como o *Hypericum perforatum* no tratamento da

depressão (Bombardelli, 1995), novas perspectivas terapêuticas se abriram, sendo a principal vantagem dos produtos derivados de plantas sobre os sintéticos, sua aceitação pelos pacientes, facilitando assim a adesão ao tratamento e dando a esses produtos competitividade no mercado farmacêutico.

Tabela 2 – Classificação dos principais grupos de antidepressivos

CLASSIFICAÇÃO	DROGAS
Agentes inibidores da enzima monoaminoxidase (IMAOs)	<p><u>Não seletivos e irreversíveis:</u> Fenelzina, tranilcipromina, iproniazida, isocarboxazida</p> <p><u>Seletivos e irreversíveis:</u> Clorgilina (MAO-A)</p> <p><u>Seletivos e reversíveis:</u> Moclobemida, toloxatona, befloxatona, brofaromina</p>
Antidepressivos tricíclicos (TCAs)	<p><u>Aminas terciárias:</u> Clomipramina, imipramina, amitriptilina, doxepina, trimipramina</p> <p><u>Aminas secundárias:</u> Nortriptilina, protriptilina, desipramina</p>
Antidepressivos tetracíclicos	<p><u>Aminas secundárias:</u> Amoxapina, maprotilina</p>
Inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRSs)	Fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, citalopram
Inibidor da recaptção de noradrenalina e dopamina	Bupropiona
Inibidores da recaptção de serotonina e noradrenalina	Venlafaxina, duloxepina
Inibidores seletivos da recaptção de noradrenalina	Milnacipram
Inibidores da recaptção de 5-HT e antagonistas dos receptores 5-HT <sub>2</sub> (fenilpiperazinas)	Trazodona, nefazodona
Antagonistas dos receptores $\alpha_2$ - adrenérgicos	Mianserina, mirtazepina
Drogas atuando em segundos-mensageiros	Rolipram
Agonistas dos receptores 5-HT <sub>1A</sub>	Buspirona, gepirona, tandospirona, 8-hidroxi-2-(di-n-propilamino)tetralina (8-OHDPAT)

## Plantas medicinais – uso e validação

A utilização de produtos naturais como “ferramentas terapêuticas” parece estar relacionada diretamente ao próprio desenvolvimento da espécie humana. Antigamente o aprendizado era baseado no instinto, na observação, sendo a seleção de “medicamentos” realizada por triagem e as informações sobre o poder “curativo” de certos preparados vegetais passados de pai para filho, através das gerações.

Na China, aproximadamente 3000 A. C., relata-se o uso da *Cannabis sativa*, com finalidades terapêuticas (Wineck, 1977), em relatos de origem babilônica datados de 2600 A.C., também observa-se a utilização de certos preparados de plantas como o *Cedrus sp* e a *Papaver somniferum* com objetivos terapêuticos. A partir do século XIX, com o isolamento dos alcalóides responsáveis pela maioria dos efeitos conhecidos das plantas medicinais usadas na época, ocorreu um grande avanço no campo da farmacologia, gerando uma grande busca por medicamentos extraídos de plantas, estando entre eles medicamentos originários de plantas nativas brasileiras, como a pilocarpina e o curare (Bender, 1998).

Na década de 50 (pós-guerra), a indústria farmacêutica foi substituindo os compostos vegetais e orgânicos por medicamentos sintéticos. A partir da década de 70, com o rápido desenvolvimento da biotecnologia e da biologia molecular, o trabalho da indústria farmacêutica em desenvolver medicamentos a partir de extratos de plantas sofreu profunda redução, em virtude da tentativa de se produzir medicamentos baseados unicamente nos mecanismos moleculares de certas patologias e pela maior facilidade de controle de qualidade de produtos

sintéticos puros, em relação à complexidade das plantas. Este processo vem sendo revertido nos últimos anos pela indústria farmacêutica, no qual muitas têm buscado novas substâncias utilizando plantas como protótipo para o desenvolvimento de novas drogas, pois acredita-se que a possibilidade de encontrar medicamentos inovadores é maior a partir de plantas medicinais, já que grande porcentagem de medicamentos em uso são originários de plantas (Ferreira, 1998).

Na medicina popular observa-se o emprego de extratos de plantas com objetivos terapêuticos, embora não haja uma comprovação científica de sua eficácia e segurança para uso na espécie humana. Desta forma, torna-se necessário um estudo mais aprofundado destes produtos, onde junto à validação de sua eficácia como medicamento ético, seja estabelecida sua segurança, além da avaliação de qualidade do produto e de sua produção (Lapa e col., 1997).

*A validação de uma planta medicinal compreende todos os procedimentos necessários para a demonstração cabal de sua efetividade como medicamento e de que seu índice terapêutico é compatível com o uso humano, incluindo aqui os testes pré-clínicos e clínicos com a planta (Ribeiro do Valle, 1978).*

Atualmente, um estudo de plantas medicinais no Brasil desde o seu início até a geração de um produto comercial final gira em torno de 10 anos, sendo que os principais problemas encontrados são aqueles relacionados ao controle de qualidade do produto final, dentre os quais se destacam a variabilidade do material botânico, a presença de muitos constituintes, ativos ou inativos, além da dificuldade de identificação dos componentes ativos. Por outro lado, existem razões que fazem necessário um processo de validação de plantas medicinais,

razões estas de origem social (retorno da informação para a população), razões terapêuticas (busca de medicamentos com um novo espectro terapêutico ou um mecanismo de ação inovador), razões éticas (verificação da eficácia e da toxicidade de produtos utilizados na medicina popular) e razões empresariais (desenvolvimento de produtos inovadores, seja simplesmente pela utilização do material vegetal ou com o desenvolvimento de novos medicamentos sintéticos) (Lapa e col., 1997).

Em 1993, estimava-se que das 250.000 espécies de plantas no mundo, menos de 10% tinham sido exaustivamente estudadas objetivando a descoberta de alguma propriedade terapêutica (Scientific American, *apud*. Ferreira, 1998), segundo outras estimativas o número de plantas investigadas é muito menor, sendo inferior a 0,5 % (Ferreira, 1998). Mendelsohn e Balick (1995), visando estimar o valor de fármacos ainda não descobertos nas florestas tropicais, calcularam em 375 o número potencial de drogas existentes nestas florestas sendo que apenas 47, dentre elas a vincristina, a vinblastina, o curare, o quinino, a codeína e a pilocarpina, já teriam sido descobertas. Observa-se ainda que grande parte dos medicamentos que estão no mercado atualmente originam-se de produtos naturais, especialmente de plantas. Nos EUA entre as vinte drogas mais vendidas em 88, apenas sete não derivavam diretamente de produtos naturais, sendo que ainda assim as plantas participaram em algum momento da história farmacológica destas drogas (Ferreira, 1998).

O Brasil encontra-se entre os dez maiores consumidores de medicamentos do mundo. Só em 1991, 20,8 % dos medicamentos vendidos no Brasil foram destinados ao tratamento de doenças relativas ao sistema nervoso central

(IMS/PMB, 1991). No ano de 1990, nos EUA este número chegou a 21,7 %, abrangendo desta forma as drogas com atividade antidepressiva (*PMA Statistical Fact Book*, 1990). Particularmente, em relação à participação das drogas antidepressivas no mercado farmacêutico, sabe-se que em 1994, na Alemanha, 66 milhões das doses prescritas de *Hypericum perforatum* (erva-de-São João) foram para uso como antidepressivo (De Smet & Nolen, 1996).

### **Cecropia glazioui Sneth - aspectos gerais e farmacologia**

A *Cecropia glazioui Sneth* (figura 1) e outras 50 espécies do mesmo gênero, popularmente conhecidas como embaúbas, imbaúbas, ambaíba, ambaúba, umbaúba, árvore-de-preguiça, distribuem-se particularmente na hiléia e regiões tropicais, penetrando mais raramente nas zonas secas do Nordeste e nos estados do Centro e Sul do Brasil. São plantas típicas das formações higrófilas (que vegetam em locais úmidos e se caracterizam por grandes folhas delgadas, moles e terminadas em ponta afilada), em matas úmidas ou em matas ciliares, mas nunca em formações abertas de caatinga ou cerrados. As plantas deste gênero são todas árvores que podem variar entre 8 a 25 metros de altura, mais ou menos. Todas as espécies têm caule e ramos fistulosos. Suas cavidades não são contínuas, mas septadas, e estão, na grande maioria das espécies, ocupadas por formigas extremamente agressivas. Os corpúsculos de Müller são macios e muito nutritivos, nascendo em cima dos nós e servindo como alimento para as formigas. As folhas são ásperas e utilizadas como lixas para polir madeira. A casca é utilizada no curtume e fornece boa fibra para estopa, sendo utilizada para calafetar e para fabricar cordas. O tronco é usado na construção de jangadas e flutuadores.

A madeira é utilizada para a obtenção de celulose. O fruto comestível pode ser a razão para a árvore ser freqüentada pelo bicho-preguiça (*Bradypus sp* e *Choleopus sp*), segundo Pio Correa (1984).

A *C. glazioui* é utilizada na medicina popular como hipotensora, cardiotônica, diurética, anti-diabética, no tratamento da asma e da bronquite (Pio Correa, 1984; Simões, 1986; Di Stasi e col., 1989; Matos, 1991). Relatos populares atribuem a hipoatividade do bicho-preguiça ao fato de se alimentar com os brotos e folhas novas de *C. glazioui*.



**Figura 1-** *Cecropia glazioui* Sneth (plantação controlada do CPQBA – UNICAMP – Campinas, São Paulo).

Os efeitos da *C. glazioui* na pressão arterial foram bem estudados e sua atividade hipotensora comprovada cientificamente (Nicolau e col., 1988; Borges, 1992; Cysneiros, 1996; Lapa e col., 1999). A administração repetida (3 semanas) do extrato aquoso (EA) por via oral causa redução reversível de 20 mmHg na pressão sistólica de ratos, medida por método não invasivo, mostrando não haver diferença no efeito máximo entre as doses, porém uma diferença temporal para obtenção deste efeito (Lapa e col., 1999). Este efeito hipotensor foi atribuído à presença de compostos com atividade bloqueadora de canais de cálcio dependentes de voltagem, que após purificação foi mantida na fração butanólica (Fbut) e, após fracionamento desta em quatro frações, na F4 (Cysneiros, 1996; Lapa e col., 1999). Também foi demonstrada uma atividade hipotensora após tratamento com *C. obtusifolia* (Salas e col., 1987a,b) e *C. adenopus*, sendo que na última esta atividade também foi atribuída a um composto com atividade bloqueadora de canais de cálcio (Borges e col., 1994).

Além da atividade hipotensora e da interação com canais de cálcio dependentes de voltagem, outros efeitos e interações com receptores foram descritos em diferentes testes com *C. glazioui*. Em 1988, Nicolau e colaboradores sugeriram uma ação das frações acetato de etila (Fae) e clorofórmica (Fc) de *C. glazioui* nos sistemas noradrenérgico e serotoninérgico, sendo que a Fc inibiu a curva dose-resposta à noradrenalina (NA) no canal deferente de rato e antagonizou de forma irreversível as respostas à NA e serotonina (5-HT) na artéria e veia femoral cão. A Fae antagonizou aparentemente as respostas à NA e 5-HT na artéria e veia femoral de cão. Foi também observada uma ação agonista da Fbut em receptores  $\beta$ -adrenérgicos, potencializando as contrações em átrio

esquerdo de rato (0,3 a 1,0 mg/mL), efeito este inibido por propranolol (1 $\mu$ g/mL) (Cysneiros e col., 1996) e uma atividade antagonista de natureza não competitiva em relação a receptores  $\alpha_1$  adrenérgicos (Lapa e col., 1999). Também foi constatada uma atividade inibidora da enzima conversora de angiotensina após tratamento repetido com o EA (Evans e col., 1999). Cysneiros e colaboradores (1997) descreveram uma atividade anti-secretora para *C. glazioui* e sugeriram que este efeito poderia ser atribuído a inibição competitiva da enzima H<sup>+</sup>,K<sup>+</sup> ATPase por flavonóides presentes no extrato. Em testes toxicológicos não foram observadas, após 30 dias de tratamento com o EA de *C. glazioui*, interferências com a fertilidade e a capacidade reprodutora de ratas (Tabata e col., 1992). Outro estudo mostrou baixa toxicidade, por via intraperitoneal, do extrato bruto de brotos e folhas de *C. glazioui*, sendo a DL<sub>50</sub> de 477 e 800 mg/kg, respectivamente (Nicolau e col, 1988).

Apesar dos poucos estudos avaliando os possíveis efeitos da *C. glazioui* no sistema nervoso central (SNC), foi relatado que os animais submetidos a tratamento repetido com seu EA, se tornavam mais dóceis ao manuseio (Dr. A. J. Lapa, comunicação pessoal). Em testes preliminares específicos de avaliação dos efeitos da *C. glazioui* no SNC, observou-se que ratos normotensos e hipertensos, após tratamento por 15 dias com EA, mostraram uma redução no tempo de latência para imobilidade no teste da natação forçada (NF) (o que seria indicativo de uma atividade do tipo antidepressiva) e um aumento na porcentagem de entradas nos braços abertos sobre o total de entradas no teste do labirinto em cruz elevado (indicando uma atividade do tipo ansiolítica), não tendo sido

observadas alterações no teste do rota rod, na temperatura basal e no teste de catalepsia (Lapa e col., 1999).

### Química da *C. glazioui*

Diversos compostos foram isolados do gênero *Cecropia*, porém a nenhum destes têm sido atribuídas quaisquer das propriedades farmacológicas descritas no gênero:

- da *C. glazioui* foram isolados a isovitexina (Della Monache e col., 1988) e a hexametiltetramina (Torres e col., 1991).

- da *C. adenopus*, 1-docosanol, 1-hexacosanol, 1-tetracosanol, ácido araquídico, ácido behênico, ácido cerótico, ácido esteárico, ácido henecosanóico, ácido lignocérico, ácido margárico, ácido nonadecanóico, ácido octocosanóico, ácido pentacosanóico, ácido tricosanóico (Neidlen & Kock, 1980a), ácido glutâmico, arginina, asparagina,  $\beta$ -amirina,  $\beta$ -sitosterol, fenilalanina, frutose, galactose, glicina, glicose, isoleucina, prolina, serina e stigmast-4-en-3-ona, aminoácido alanina, ácido aspártico, valina, alfa-amirina (Neidien & Kock, 1980b) e mucilagem (Ribeiro & Mors, 1950).

- da *C. catharinensis*, ácido clorogênico, escopoletina (Kerber & Schenkel, 1984) e escopolina (Kerber e col., 1990).

- da *C. peltata*, o (8-metil-8-azabicyclo(1.2.3) octano (Villar e col., 1988), D-glucan (Marshall & Rickson, 1972), ácido ursólico, esteróides, flavonóides (Prista & Alves, 1960), glicogênio (Rickson, 1971), ácido hambáico, glicose (Valeri &

Narváez, 1951), glicosídeos (King & Haddock, 1954), saponina tóxica similar a ambaína (Fonseca, 1935) e taninos (Mell, 1928; Prista & Alves, 1960).

Além disso, vários autores relatam a ausência de alcalóides no extrato das folhas e do caule (Fonseca, 1935; Valeri & Narváez, 1951; King & Haddock, 1959; Viliar e col., 1988). Não existe, porém, como escrito anteriormente, uma correlação direta entre as atividades farmacológicas descritas para o gênero e a presença dessas substâncias químicas.

A falta de estudos aprofundados sobre os efeitos da *C. glazioui* no SNC e a busca por novos produtos com finalidade terapêutica derivados de plantas justificam a realização deste trabalho.

## **OBJETIVOS**

## OBJETIVOS

- Avaliar a atividade do tipo antidepressiva do EA e de duas frações semipurificadas, butanólica e aquosa (Fbut e Faq, respectivamente) de *Cecropia glazioui*, usando o modelo da NF em ratos.
- Avaliar as possíveis alterações monoaminérgicas no hipocampo de animais tratados com *C. glazioui* que possam estar correlacionadas a seus efeitos comportamentais.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

# MATERIAL E MÉTODOS

## Animais

Foram utilizados 289 ratos Wistar fêmeas, pesando entre 200 e 250 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina e mantidos no Biotério Setorial da Coordenadoria Especial de Farmacologia. Uma semana antes dos experimentos os animais foram alojados no biotério do Laboratório de Neurofarmacologia para ambientação. Os animais tiveram livre acesso à água e comida, exceto durante a realização dos experimentos. A temperatura ambiente,  $23 \pm 2$  °C, e o ciclo de luz claro/escuro (luz das 7:00 às 19:00 h) foram controlados automaticamente. Os grupos controle e experimentais foram escolhidos de forma aleatória. Cada animal foi utilizado somente uma vez, exceto quando submetidos a tratamento repetido por 21 dias.

Na dosagem de monoaminas hipocâmpais e no tratamento repetido por 90 dias foram usados animais provenientes do Biotério Setorial do Instituto de Farmacologia (INFAR) da Escola Paulista de Medicina (EPM), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

## Drogas, sais e solventes

- Cloridrato de imipramina (Sigma Chemical Co., Saint Louis, U.S.A.).
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (Quimibrás Indústrias Químicas S.A., Rio de Janeiro, Brasil).
- Ácido cítrico (Nuclear, Diadema, Brasil).
- Metanol (Merck, AG, Darmstadt, Alemanha).
- EDTA (Sigma Chemical Co., Saint Louis, U.S.A.).
- Ácido heptanosulfônico (Fluka Chemicals, São Paulo, Brasil).

- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  (LABSYNTH Produtos para Laboratórios LTDA., Diadema, Brasil).
- HCl (Merck, AG, Darmstadt, Alemanha).
- $\text{HClO}_4$  (Merck, AG, Darmstadt, Alemanha).
- DHBA (Sigma Chemical Co., Saint Louis, U.S.A.).

### **Material botânico**

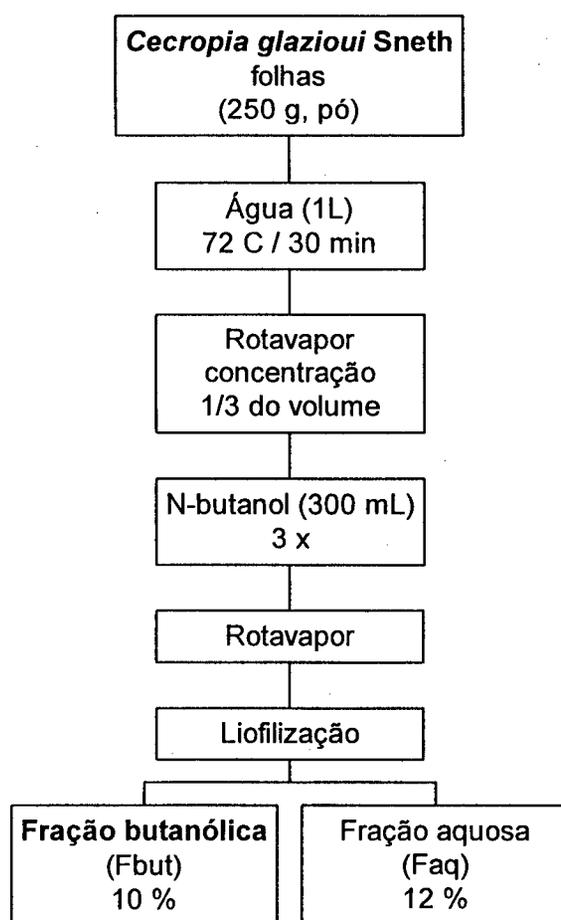
A *Cecropia glazioui* Sneth (figura 1) foi fornecida pelo Prof. Dr. Antonio José Lapa (EPM / UNIFESP) de material obtido de culturas controladas do banco de germoplasma do Centro de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrônômicas (CPQBA) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), em Campinas, SP, sob a supervisão dos Drs. Pedro Mellilo Magalhães e Dr. Ileo Montanari. As folhas foram secas à temperatura ambiente e enviadas ao Setor de Produtos Naturais (SPN), Instituto de Farmacologia INFAR), da Escola Paulista de Medicina (EPM) / Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), aonde os extratos foram preparados.

### **Extração e purificação**

O EA foi preparado como descrito pela medicina popular: o pó das folhas secas foi colocado em água quente (2,5%, 72 ° C) por 30 min, obtendo-se um extrato com rendimento aproximado de 10% em relação ao peso seco. O EA foi concentrado à vácuo em rotavapor e liofilizado. As frações semipurificadas, foram obtidas pela Dra. Roberta Monterazzo Cysneiros (SPN – EPM / UNIFESP). O pó obtido das folhas da planta (100 g) foi extraído exaustivamente com diclorometano em Soxhlet. Do resíduo foi obtido o EA com 1 litro de água destilada a 72° C. A mistura foi mantida a 72° C por 50 min e a seguir filtrada e concentrada em

rotavapor a 1/5 do volume. O EA foi particionado com n-Butanol (200 mL), resultando numa Fbut e numa fração aquosa Faq que foram concentradas em rotavapor e liofilizadas.

**Figura 2: Procedimento utilizado para a obtenção das frações semipurificadas Faq e Fbut.**



**Testes farmacológicos****Tratamentos**

O EA, a Fbut e a Faq foram solubilizados em água de torneira, mantendo sempre o volume de administração constante de 1 mL para cada 200 g de animal. No tratamento foi utilizada a via oral (v.o.), por administração intragástrica, fazendo uso de cânulas de aço inoxidável. Em todos os experimentos a última administração se deu 1h e 30 min antes dos testes. O mesmo procedimento foi adotado para os animais controle, porém estes receberam somente água de torneira em volume constante de 1 mL / 200 g de animal.

A imipramina, droga padrão antidepressiva, foi solubilizada em solução salina (NaCl 0,9%) e administrada por via intraperitoneal (i.p.) na dose de 15 mg/kg e volume de 0,01 mL/kg. Os grupos controles receberam apenas NaCl 0,9 % no mesmo volume pela mesma via.

**Natação forçada (NF)**

Na avaliação da atividade do tipo antidepressiva, foi utilizado o teste da NF proposto por Porsolt e colaboradores em 1977. Este teste baseia-se na observação de que ratos forçados a nadar em ambiente restrito, sem possibilidade de fuga, adotam um comportamento característico, onde ocorre um período de alta atividade inicial seguido de um tempo de imobilidade relativamente constante, sendo esta imobilidade relacionada a um estado de "desistência" ("behavioral despair"), correlacionado à síndrome depressiva humana. Drogas antidepressivas diminuem este tempo de imobilidade, constituindo este método um bom procedimento de "screening" para novas drogas antidepressivas (Porsolt e col.,

1977; Kitada e col., 1981; Willner, 1984; Barros & Leite, 1985). O teste foi realizado em um cilindro de PVC de 40 cm de altura e 20 cm de diâmetro contendo 25 cm de água, mantida a uma temperatura constante de  $23 \pm 2$  °C. Foi marcado o tempo de imobilidade durante 5 min consecutivos à colocação dos animais na água, sendo os animais considerados imóveis quando permaneciam parados, realizando unicamente os movimentos necessários para manterem-se flutuando na superfície da água.

### **Campo aberto (CA)**

Para avaliação da atividade locomotora foi usado o CA (48 x 48 x 40 cm) confeccionado em acrílico (paredes transparentes e chão preto), contendo 9 quadrados de 16 cm<sup>2</sup>. Foi contabilizado o número de quadrados percorridos num tempo de 5 min. Os experimentos se deram sob luz vermelha com aproximadamente 15 W de potência. Os animais foram utilizados após 21 dias de tratamento antes de serem submetidos ao teste da NF.

### **Procedimentos**

#### Procedimento 1

Os animais foram tratados por 21 dias nas doses de 0,25; 0,5 e 1,0 g/kg v.o. *bid* (8 :00 h e 18:00 h) com o EA e submetidos ao teste da NF no 2<sup>o</sup>, 6<sup>o</sup> e 21<sup>o</sup> dia de tratamento. Outro grupo de animais foi tratado por 90 dias com o EA nas mesmas doses e avaliado comportamentalmente ao 90<sup>o</sup> dia. Este protocolo foi adotado visto que todos os dados da literatura relacionados aos efeitos da *C. glazioui* na pressão arterial foram obtidos após tratamento repetido com o EA.

### Procedimento 2

Os ratos foram submetidos a um estresse de natação 15 min e então tratados por 3 vezes em 24 h (24 - 6 - 1h30 min. antes do teste), sendo em seguida submetidos ao teste da natação por 5 min, correspondendo este procedimento ao teste da NF clássico proposto por Porsolt em 1977. Nesse procedimento experimental foram testados o EA (0,125; 0,25; 0,5 e 1,0 g/kg v.o.), a Fbut e a Faq (25, 50, 100 e 200 mg/kg v.o.).

### Procedimento 3

Os animais foram tratados por 6 dias com a Fbut (50 mg/kg) e Faq (100mg/kg) *bid* (8 :00 h e 18:00 h) e após este tempo submetidos ao teste da NF.

### Dosagem de monoaminas

Ratos tratados por 2, 6, 21 e 90 dias com EA na dose de 0,5 g/kg v.o *bid* e por 6 dias com Fbut na dose de 0,05 g/kg v.o *bid* foram sacrificados por decaptação e tiveram seus hipocampos retirados para dosagem dos níveis de 5-HT e NA e seus metabólitos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE / *high performance liquid chromatography - HPLC*). Esta dosagem foi realizada sob supervisão da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Maria Teresa de Lima-Landman, no Setor de Produtos Naturais, INFAR, EPM, UNIFESP. Descrevendo brevemente, os ratos foram sacrificados com guilhotina e seus hipocampos rapidamente retirados, sendo pesados e estocados em freezer a -70 ° C até análise. Estes tecidos foram homogeneizados com Ultra-Turrax, em solução de ácido perclórico 0,1 M contendo 0,02 % de NaS<sub>2</sub>O<sub>5</sub> , 0,02% de EDTA dissódico e uma concentração de 146,73 ng/mL de DHBA, utilizado como padrão interno na dosagem de

monoaminas. A proporção de acréscimo de solução aos tecidos foi no volume de 15 vezes a massa do tecido. Os homogeneizados foram centrifugados a 3000 r.p.m. a 3 ° C, por 30 minutos, e os sobrenadantes retirados e injetados em alíquotas de 20 µL no HPLC (Shimadzu) composto por 2 bombas LC-6A, um controlador SCL-6A, um integrador Chromatopac C-R4A e um detector eletroquímico SCL-6A. A coluna utilizada foi a C18 de fase reversa, Microsorb-MV (Varian) (250 mm x 4.6 mm i.d.), empacotada com partículas regulares de 5 µm, eluída com fluxo constante de 1,0 mL/min. A fase móvel era composta por Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,02 M, ácido cítrico 0,02 M, 20% de metanol, EDTA 0,12 mM e 0,0556% de ácido heptanosulfônico. No preparo das soluções-padrão e homogeneizados foi utilizado Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> a 0,02%, HCl 0,1 M e HClO<sub>4</sub> a 0,1M.

### **Análise estatística**

Nas análises estatísticas foi utilizado o programa Graphpad INSTAT versão 2.05a (1990-1994). As comparações estatísticas foram realizadas pela análise de variância univariada (ANOVA), seguida do teste de Bonferroni (comparações entre as diferentes doses), conforme o indicado na legenda das figuras, tendo como variável independente o fator tratamento. Para os grupos em que se tinha doses únicas foi utilizado o teste "t" de Student para amostras não pareadas. Em ambos os casos, o nível de significância estatística considerado foi  $p < 0,05$ . Os dados foram expressos como média ± erro padrão da média (e.p.m), nos diversos testes utilizados. Quando foram observadas diferenças significativas entre os desvios

padrão das médias, os dados isolados foram transformados em logaritmo e então realizados os testes estatísticos.

**RESULTADOS**

## RESULTADOS

### Natação forçada (NF)

**Caracterização da atividade do tipo antidepressiva, do EA de *C. glazioui***

**Sneth após tratamento repetido (2, 6 e 21 dias )**

#### Objetivos:

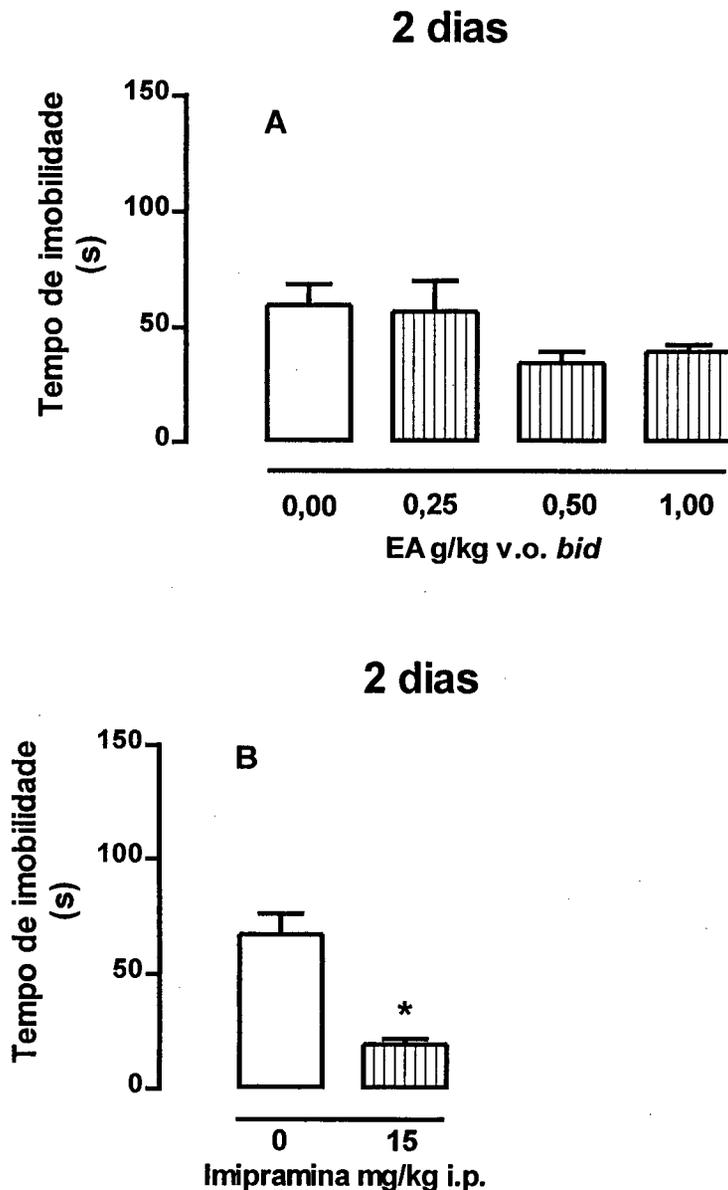
Avaliar uma possível atividade do tipo antidepressiva do EA após tratamento repetido.

#### Resultados:

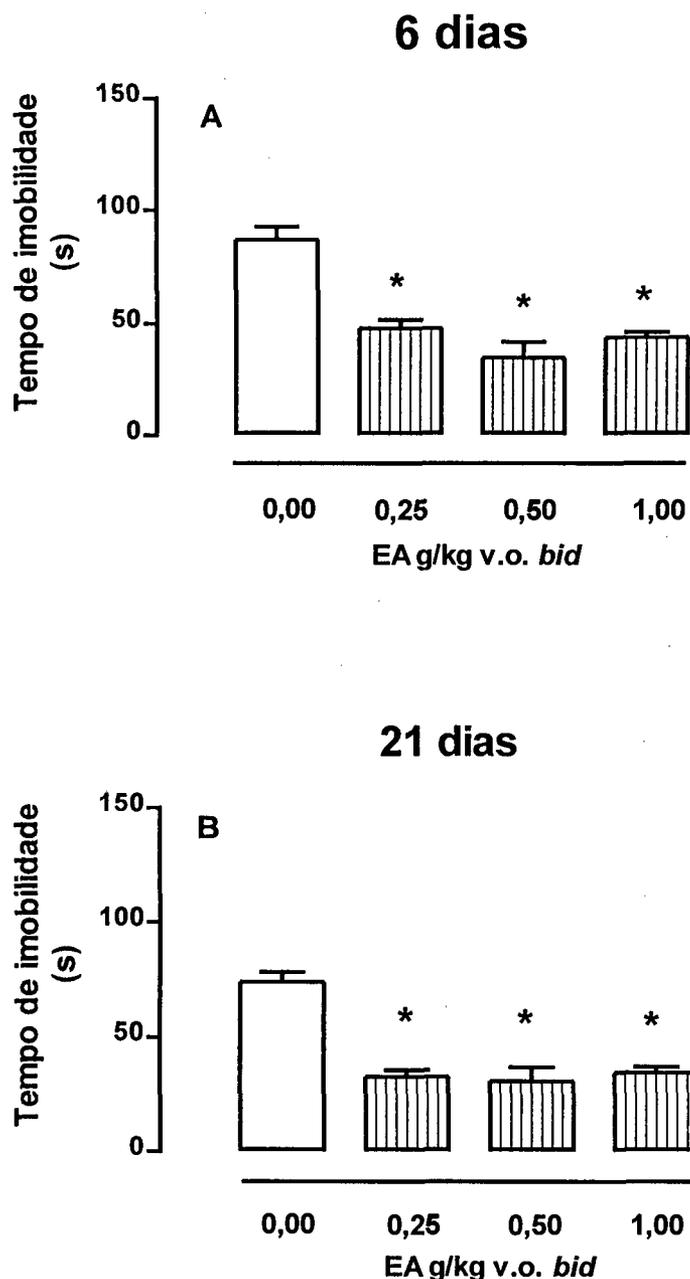
A figura 3A mostra o tempo de imobilidade dos animais tratados com o EA de *C. glazioui* Sneth (0,25 - 1,00 g/kg ), por via oral por 2 dias, quando expostos ao teste da NF. A imipramina (IMI, 15mg/kg i.p) (Borsini e col., 1989) foi utilizada como droga padrão. O tratamento com IMI por 2 dias reduziu significativamente o tempo de imobilidade apresentado pelos animais (controle =  $67,2 \pm 8,94$  s; IMI =  $19,6 \pm 2,33$  s)( $t = 6,649$ ;  $p < 0,05$ ) (figura 3A). Após 2 dias, não foi constatada uma redução significativa no tempo de imobilidade, pelo EA nas doses de 0,25 - 1,00 g/kg, pela análise de variância que engloba todos os dados (controle =  $59,7 \pm 9,05$  s; EA<sub>0,25g/kg</sub> =  $56,9 \pm 13,91$  s; EA<sub>0,5g/kg</sub> =  $34,6 \pm 5,04$  s; EA<sub>1,0g/kg</sub> =  $39,6 \pm 2,85$  s) ( $F_{(3, 29)} = 2,353$ ;  $p = 0,09$ ), porém quando usado teste "t" de Student individual para a dose de 0,5 g/kg, observam-se diferenças significativas ( $t = 2,467$ ;  $p < 0,05$ ) (fig. 3A).

A partir do 6º dia de tratamento, todas as doses (0,25-1,00 g/kg) do EA reduziram o tempo de imobilidade, não diferenciando entre si (controle =  $86,8 \pm 5,67$  s; EA<sub>0,25g/kg</sub> =  $47,6 \pm 3,78$ ; EA<sub>0,5g/kg</sub> =  $34,4 \pm 7,04$  s; EA<sub>1,0g/kg</sub> =  $43,5 \pm$

2,25 s)( $F_{(3,29)} = 10,922$ ;  $p < 0,05$ ) (figura 4A). Esta redução no tempo de imobilidade também foi observada após 21 dias de tratamento oral com o EA (controle =  $73,7 \pm 4,30$  s;  $EA_{0,25g/kg} = 32,5 \pm 3,19$  s;  $EA_{0,5g/kg} = 30,6 \pm 6,32$  s;  $EA_{1,0g/kg} = 34,5 \pm 2,58$ ) ( $F_{(3,29)} = 23,836$ ;  $p < 0,05$ ), como pode ser observado na figura 4B.



**Figura 3** - Efeito do EA de *Cecropia glazioui* Sneth (0,25 - 1,0 g/kg *bid*) no tempo de imobilidade em ratos submetidos ao teste da NF após 2 dias de tratamento oral (A). A imipramina (15 mg/kg, i.p.) foi utilizada como droga padrão (B). Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. O número de animais empregados foi de 8 para os animais tratados com o EA e 9 para o controle ( $*p < 0,05$ , ANOVA univariada seguida do teste de Bonferroni), 7 para os animais tratados com a imipramina e 6 para seu respectivo controle ( $*p < 0,05$ , teste "t" de Student não pareado).



**Figura 4-** Efeito do EA de *Cecropia glazioui* Sneth (0,25 - 1,0 g/kg *bid*) no tempo de imobilidade em ratos submetidos ao teste da NF após 6 e 21 dias de tratamento oral (A e B, respectivamente). Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. O número de animais empregados foi de 8 para os animais tratados com o EA e 9 para o controle (\* $p < 0,05$ , ANOVA univariada seguida do teste de Bonferroni).

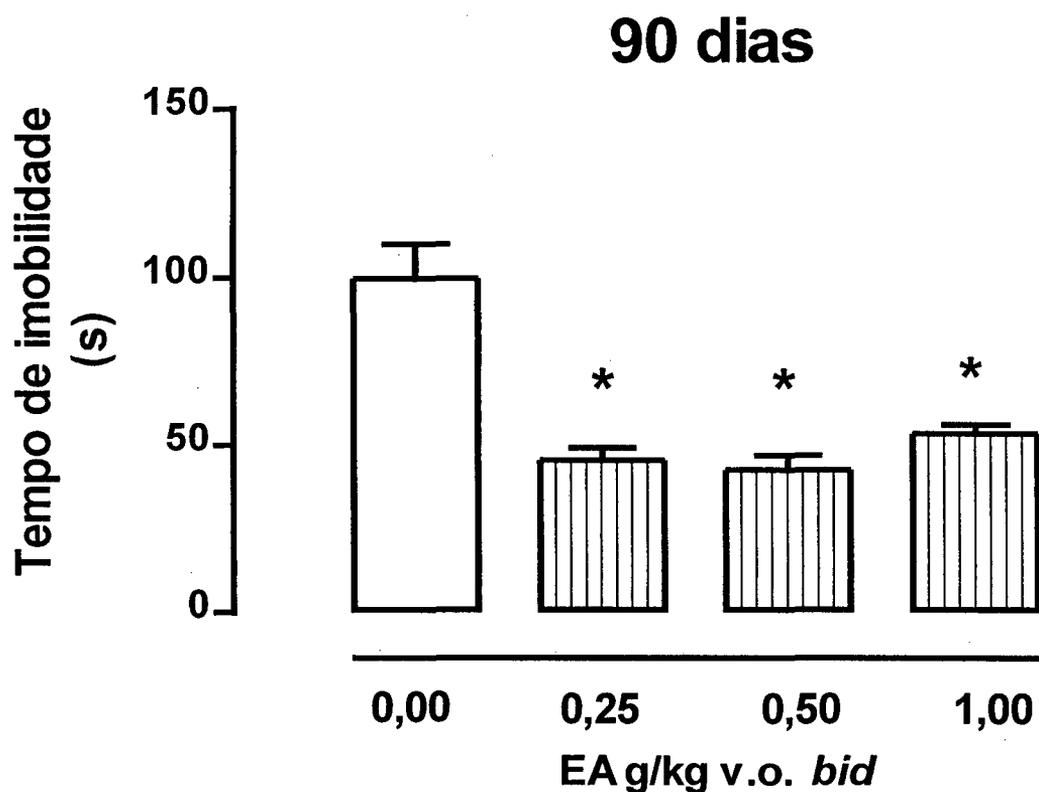
**Avaliação da atividade do tipo antidepressiva pelo método da NF após 90 dias de tratamento.**

Objetivos:

Avaliar a manutenção da atividade do tipo antidepressiva após tratamento crônico oral com o EA.

Resultados:

Na figura 5 observa-se que após o tratamento v.o. por 90 dias (0,25 – 1,0 g/kg), com o EA, ocorre uma diminuição do tempo de imobilidade em ratos submetidos ao teste da NF, não ocorrendo diferenças significativas entre as doses (controle =  $99,8 \pm 10,34$  s;  $EA_{0,25g/kg} = 45,4 \pm 3,70$  s;  $EA_{0,5g/kg} = 42,6 \pm 4,25$  s;  $EA_{1,0g/kg} = 53,2 \pm 2,85$  s) ( $F_{(3,16)} = 19,504$ ;  $p < 0,05$ ).



**Figura 5** - Efeito do EA de *Cecropia glazioui* Sneth (0,25 - 1,0 g/kg *bid*) no tempo de imobilidade em ratos submetidos ao teste da NF após 90 dias de tratamento oral. Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. O número de animais empregados foi de 5 para cada grupo (\* $p < 0,05$ , ANOVA univariada seguida do teste de Bonferroni).

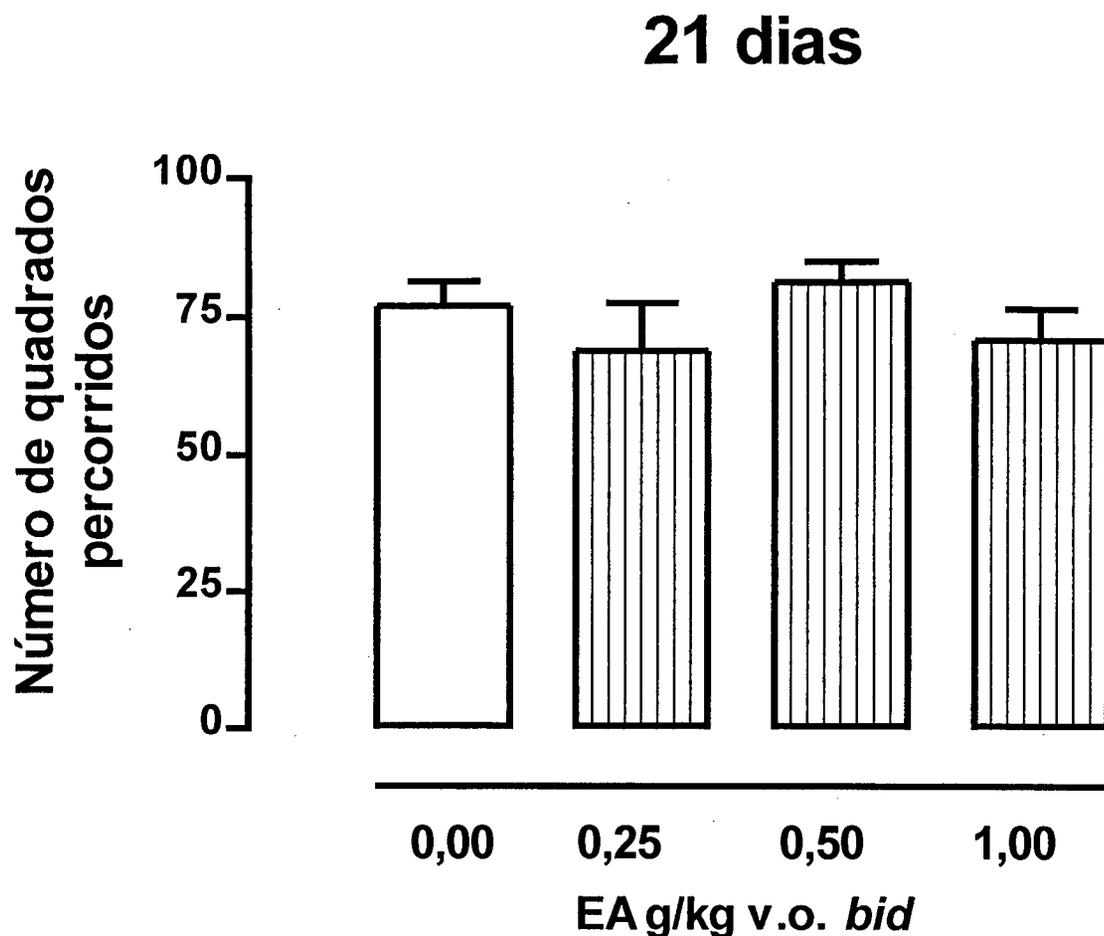
**Avaliação da atividade locomotora pelo teste do campo aberto (CA) após 21 dias de tratamento com o EA**

Objetivos:

Visto que após 21 dias a atividade antidepressiva parece estar completamente estabelecida, foi realizado o teste do CA para descartar uma possível interferência de uma estimulação motora no teste da natação forçada.

Resultados:

Após tratamento por 21 dias com EA de *Cecropia glazioui* (0,25 - 1,0 g/kg, v.o, *bid*) não foi observado qualquer aumento no número de quadrados percorridos no intervalo de 5 min (controle =  $77,2 \pm 4,43$ ; EA<sub>0,25g/kg</sub> =  $69,0 \pm 8,73$ ; EA<sub>0,5g/kg</sub> =  $81,5 \pm 3,70$ ; EA<sub>1,0g/kg</sub> =  $71,0 \pm 5,63$ ) ( $F = 0,9367$ ;  $p > 0,05$ ) (figura 6). Outros parâmetros comportamentais como número de levantamentos, auto-limpeza e o número de bolos fecais não foram alterados (dados não apresentados).



**Figura 6** - Efeito do EA de *Cecropia glazioui* Sneth (0,25 - 1,0 g/kg bid) na atividade locomotora de ratos submetidos ao teste do CA após 21 dias de tratamento oral. Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. O número de animais empregados foi de 8 para os animais tratados com o EA e 9 para o controle (\* $p < 0,05$ , ANOVA univariada seguida do teste de Bonferroni).

**Caracterização da atividade do tipo antidepressiva do EA e de duas frações semipurificadas Fbut e Faq, utilizando o teste clássico de Porsolt para a NF.**

Objetivos:

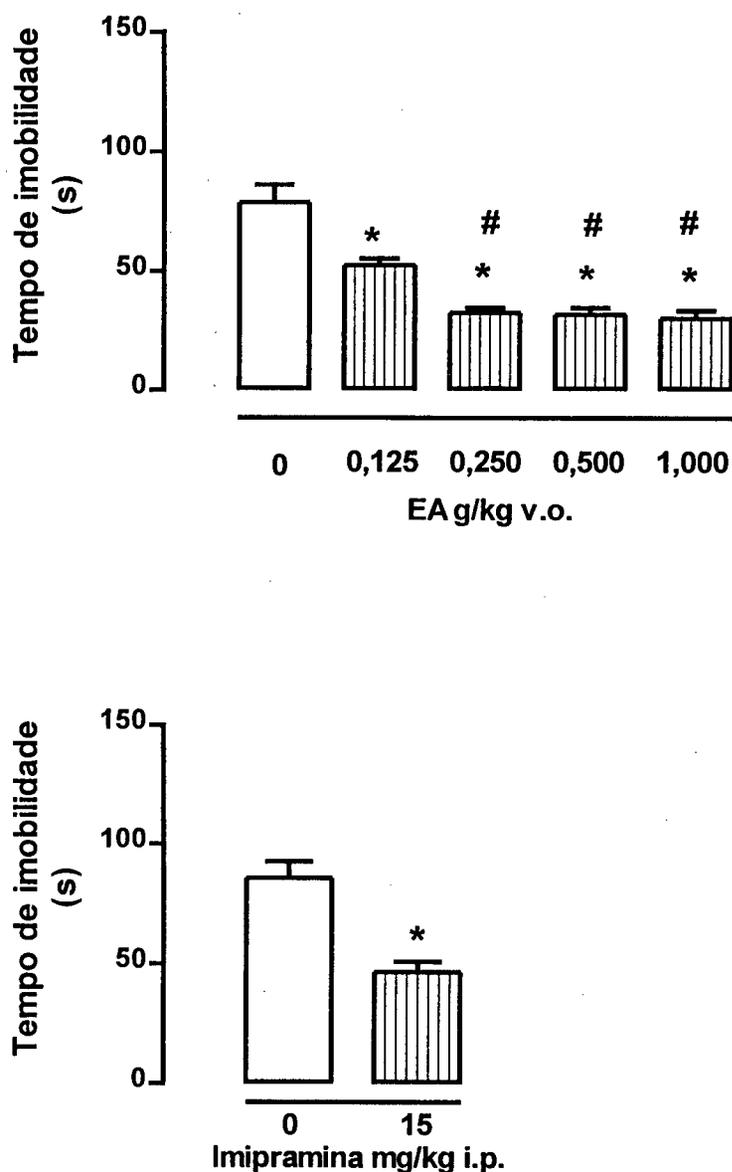
Estabelecer curvas dose-resposta com o EA e as frações Fbut e Faq utilizando metodologia clássica para “screening” de drogas do tipo antidepressiva.

Resultados:

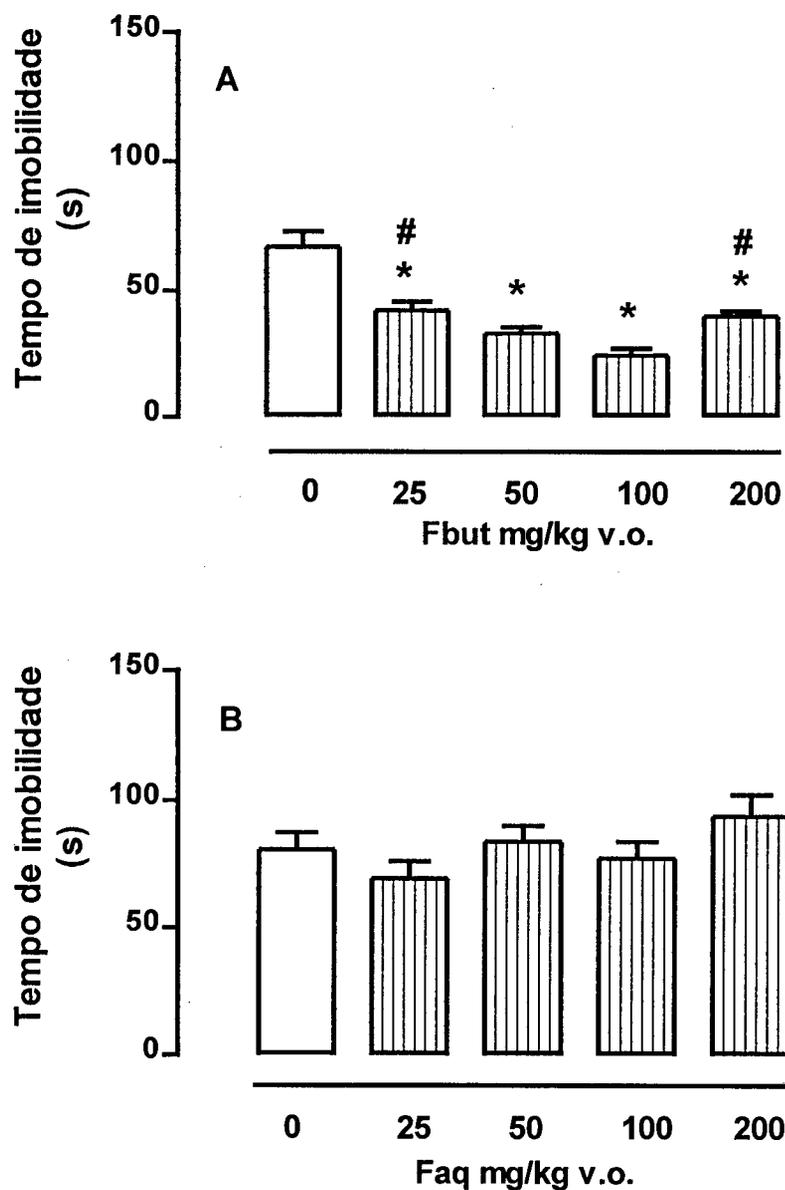
A figura 7A mostra o efeito do tratamento por 3 vezes em 24 h, por via oral, com EA (0,125; 0,25; 0,50 e 1,0 g/kg). O EA reduziu o tempo de imobilidade de ratas na NF de forma significativa em todas as doses usadas, ocorrendo porém diferenças significativas entre as 3 doses maiores e a dose de 0,125 g/kg (controle =  $78,6 \pm 7,52$  s;  $EA_{0,125g/kg} = 52,5 \pm 2,81$  s;  $EA_{0,25g/kg} = 32,6 \pm 1,82$  s;  $EA_{0,5g/kg} = 31,9 \pm 2,84$  s;  $EA_{1,0g/kg} = 30,2 \pm 3,15$  s) ( $F_{(4,35)} = 23,672$ ;  $p < 0,05$ ). A imipramina (IMI, 15 mg/kg i.p.) foi utilizada como droga padrão. O tratamento com IMI reduziu significativamente o tempo de imobilidade apresentado pelos animais (controle =  $85,6 \pm 7,04$  s;  $IMI = 46,7 \pm 4,34$  s) ( $t = 4,698$ ;  $p < 0,05$ ) (figura 7B).

O mesmo perfil de resposta foi observado após tratamento oral com Fbut (25; 50; 100; 200 mg/kg), sendo a dose de 100 mg/kg significativamente diferente das doses de 25 e 20 mg/kg (controle =  $67,0 \pm 5,97$  s;  $Fbut_{25mg/kg} = 42,0 \pm 3,48$  s;  $Fbut_{50mg/kg} = 32,9 \pm 2,42$  s;  $Fbut_{100mg/kg} = 24,1 \pm 2,76$  s;  $Fbut_{200mg/kg} = 38,7 \pm 4,28$  s) ( $F_{(4,32)} = 16,244$ ;  $p < 0,05$ ) (figura 8A). O tratamento oral com Faq (0,025; 0,050; 0,10 e 0,20 g/kg) não alterou o tempo de imobilidade em nenhuma das doses usadas (controle =  $80,5 \pm 6,72$  s;  $Faq_{25mg/kg} = 69,1 \pm 6,82$  s;  $Faq_{50mg/kg} = 83,6 \pm$

6,26 s;  $F_{aq_{100mg/kg}} = 77,1 \pm 6,12$  s;  $F_{aq_{200mg/kg}} = 94,0 \pm 8,27$  s) ( $F_{(4, 35)} = 1,717$ ;  $p > 0,05$ ), como pode ser observado na figura 8B.



**Figura 7-** Efeito do tratamento oral com o EA de *Cecropia glazioui* Sneth (0,125 - 1,0 g/kg) no tempo de imobilidade em ratos submetidos ao teste clássico de Porsolt (A). A imipramina foi utilizada como droga padrão (B). Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. O número de animais empregados foi de 8 para os animais tratados com o EA ou controle (\* $p < 0,05$ ; # $p < 0,05$  em relação à dose de 0,125 g/kg; ANOVA univariada seguida do teste de Bonferroni) e 7 para os animais tratados com a imipramina e seu respectivo controle (\* $p < 0,05$ , teste "t" de Student não pareado).



**Figura 8-** Efeito do tratamento oral com a Fbut e a Faq de *Cecropia glazioui* Sneth (25 - 200 mg/kg) no tempo de imobilidade em ratos submetidos ao teste clássico de Porsolt (A e B, respectivamente). Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. O número de animais empregados foi de 8 a 9 (\* $p < 0,05$ ; # $p < 0,05$  em relação à dose de 100 mg/kg; ANOVA univariada seguida do teste de Bonferroni).

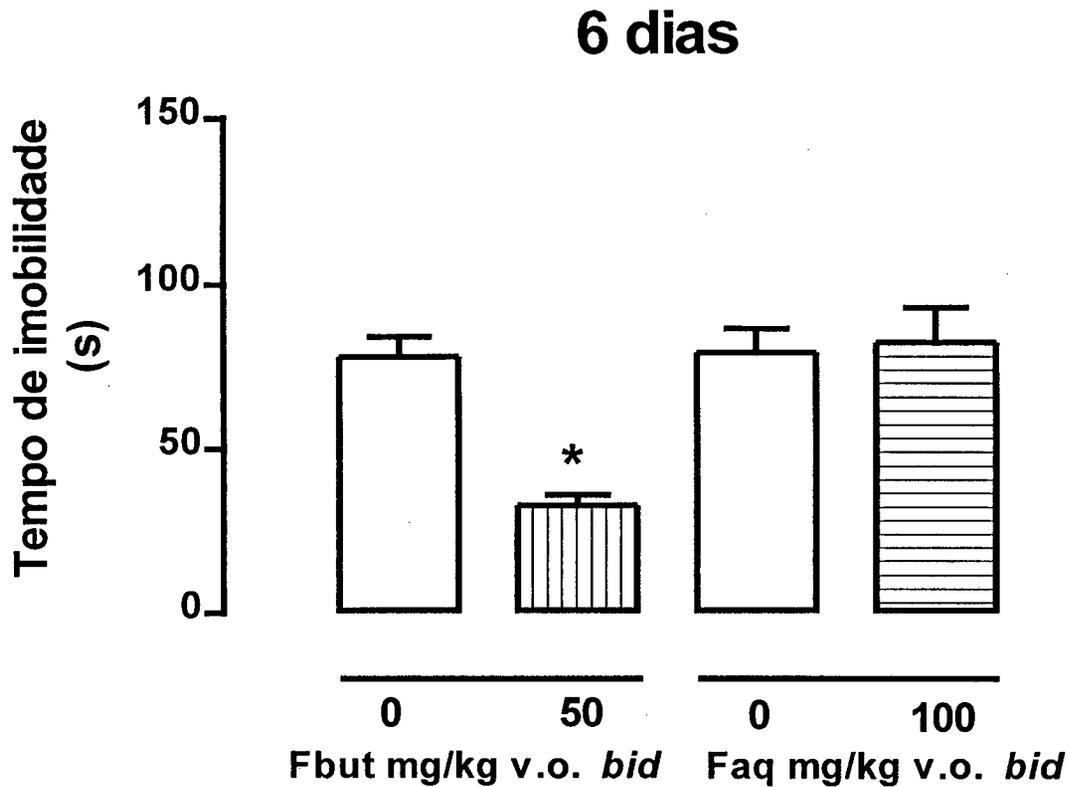
**Avaliação da atividade do tipo antidepressiva pelo método da NF após 6 dias de tratamento com a Fbut e a Faq.**

Objetivos:

Avaliar o perfil de atividade da Fbut e da Faq após 6 dias de tratamento, para futura correlação com alterações nos níveis de monoaminas hipocâmpais.

Resultados:

Na figura 9 observa-se que, após o tratamento oral por 6 dias, com a Fbut (50 mg/kg, *bid*) de *Cecropia glazioui* ocorre uma diminuição do tempo de imobilidade dos ratos na NF (controle =  $78,0 \pm 6,02$  s; Fbut<sub>50mg/kg</sub> =  $32,7 \pm 3,36$  s) ( $t = 6,567$ ,  $p < 0,05$ ), não ocorrendo diferenças significativas entre o tratamento com a Faq e seu respectivo controle (controle =  $79,2 \pm 7,30$  s; Faq<sub>100mg/kg</sub> =  $82,2 \pm 10,66$  s) ( $t = 0,2322$ ;  $p > 0,05$ ).



**Figura 9-** Efeito do tratamento oral com a Fbut e a Faq (50 e 100 mg/kg, respectivamente) de *Cecropia glazioui* Sneth no tempo de imobilidade em ratos submetidos ao teste da NF após 6 dias de tratamento. Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. O número de animais empregados foi de 7 para os animais tratados com Fbut e 5 para os animais tratados com Faq (\* $p < 0,05$ , teste "t" de Student não pareado).

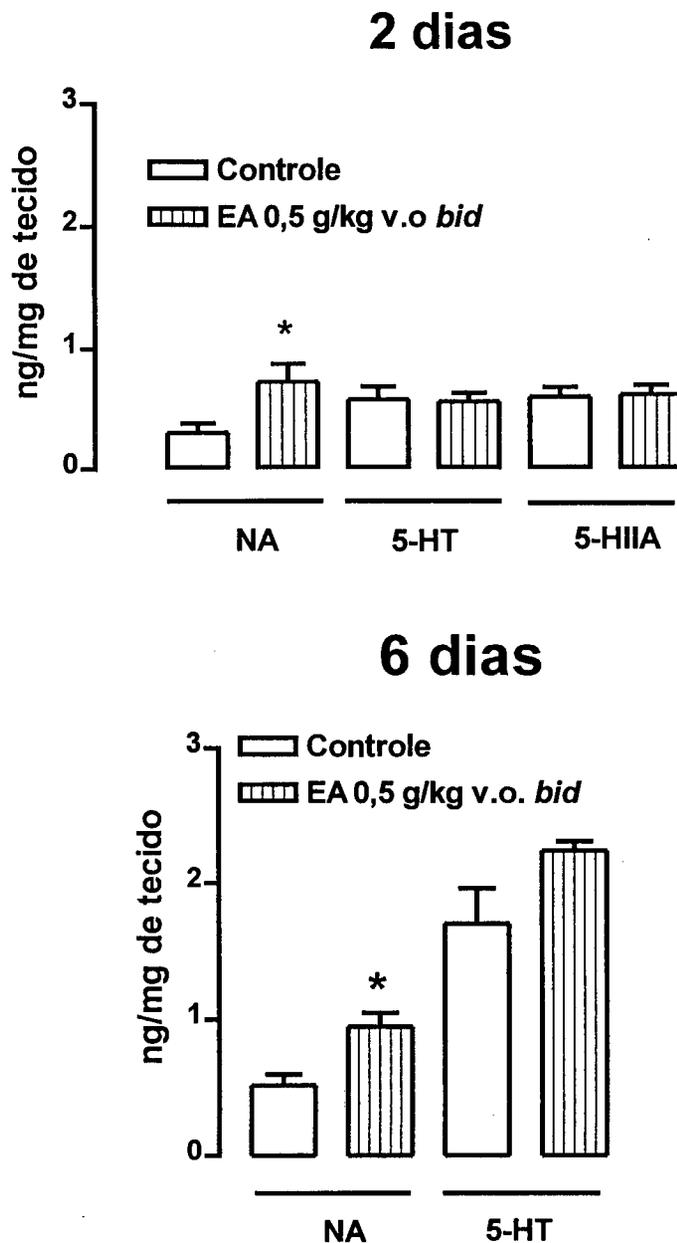
**Dosagem de monoaminas hipocampais por CLAE**Objetivos :

Avaliar alterações dos níveis de NA, 5-HT e do metabólito 5-HIAA no hipocampo, após tratamento repetido com o EA ou Fbut, que possam estar relacionadas com a atividade do tipo antidepressiva da *C. glazioui*.

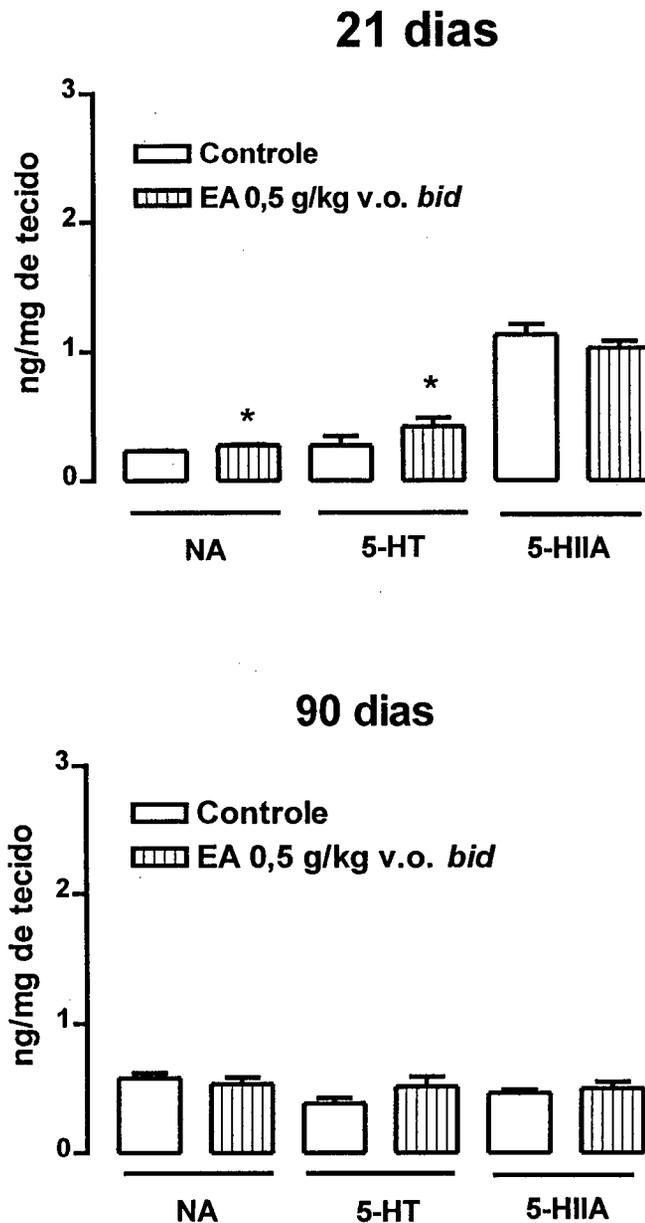
Resultados:

A figura 10 mostra o efeito do tratamento por 2 ou 6 dias com o EA nos níveis de monaminas hipocampais. Após 2 dias, observa-se que os níveis de NA estão aumentados (controle =  $0,29 \pm 0,080$  ng/mg; EA<sub>0,5g/kg</sub> =  $0,73 \pm 0,149$  ng/mg) ( $t=2551$ ;  $p<0,05$ ), não ocorrendo alterações significativas nos níveis de 5-HT (controle =  $0,58 \pm 0,107$  ng/mg; EA<sub>0,5g/kg</sub> =  $0,56 \pm 0,075$  ng/mg) ou 5-HIAA (controle =  $0,60$  ng/mg  $\pm 0,083$  ng/mg; EA<sub>0,5g/kg</sub> =  $0,62 \pm 0,080$  ng/mg) (10A). Após 6 dias de tratamento com EA pode ser observado um aumento significativo de NA (controle =  $0,52 \pm 0,080$  ng/mg; EA<sub>0,5g/kg</sub> =  $0,95 \pm 0,100$  ng/mg) ( $t=2551$ ;  $p<0,05$ ) e uma tendência em aumentar os níveis de 5-HT (controle =  $1,70 \pm 0,260$  ng/mg; EA<sub>0,5g/kg</sub> =  $2,24 \pm 0,070$  ng/mg) ( $t = 2,234$ ;  $p = 0,06$ ) (10B). Um aumento na 5-HT (controle =  $0,18 \pm 0,018$  ng/mg; EA<sub>0,5g/kg</sub> =  $0,42 \pm 0,073$  ng/mg) ( $t = 2,349$ ;  $p<0,05$ ) e NA (controle =  $0,23 \pm 0,006$  ng/mg; EA<sub>0,5g/kg</sub> =  $0,27 \pm 0,012$  ng/mg) ( $t = 2,855$ ;  $p<0,05$ ) hipocampal também pode ser observado aos 21 dias de tratamento (figura 11A). Aos 90 dias de tratamento oral com o EA de *C. glazioui*, os níveis de NA (controle =  $0,58 \pm 0,041$  ng/mg; EA<sub>0,5g/kg</sub> =  $0,54 \pm 0,050$  ng/mg) e 5-HT (controle =  $0,39 \pm 0,094$  ng/mg; EA<sub>0,5g/kg</sub> =  $0,52 \pm 0,073$  ng/mg) não mostraram diferenças significativas em relação ao controle. (figura 11B).

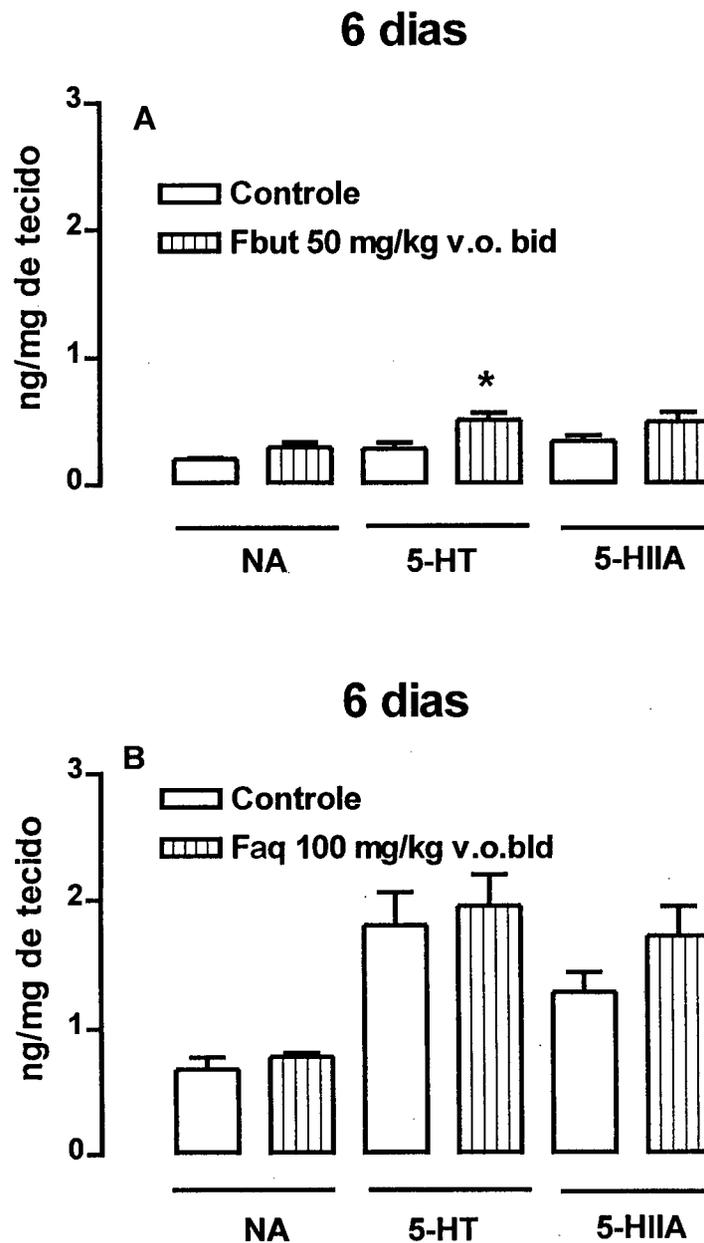
Na figura 12 pode ser observado que após 6 dias de tratamento com a Fbut, os níveis de NA (controle =  $0,20 \pm 0,013$  ng/mg; Fbut<sub>50mg/kg</sub> =  $0,29 \pm 0,039$  ng/mg) ( $t = 1,876$ ;  $p = 0,0832$ ) e 5-HT (controle =  $0,28 \pm 0,050$  ng/mg; Fbut<sub>50mg/kg</sub> =  $0,51 \pm 0,057$  ng/mg) ( $t = 2,904$ ;  $p < 0,05$ ) estão aumentados de modo semelhante ao dos animais tratados com EA. O tratamento com Faq não alterou os níveis de NA (controle =  $0,68 \pm 0,093$  ng/mg; Faq<sub>100mg/kg</sub> =  $0,78 \pm 0,030$  ng/mg) ( $t = 1,569$ ;  $p > 0,05$ ) e 5-HT (controle =  $1,81 \pm 0,256$  ng/mg; Faq<sub>100mg/kg</sub> =  $1,96 \pm 0,243$  ng/mg) ( $t = 0,4245$ ;  $p > 0,05$ ). Em nenhum dos tratamentos foi observada qualquer alteração nos níveis do metabólito 5-HIAA (valores não descritos).



**Figura 10-** Dosagem dos níveis hipocâmpais de monoaminas de ratos tratados oralmente por 2 dias ou 6 dias (10A e 10B, respectivamente) com o EA de *Cecropia glazioui* Sneth (0,5 g/kg; *bid*). Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. O número de animais empregados foi de 6 para animais tratados por 2 dias e 7 para o grupo controle, 4 para os animais tratados por 6 dias e para seu respectivo controle ( $*p < 0,05$ ; teste "t" de Student não pareado).



**Figura 11-** Dosagem dos níveis hipocâmpais de monoaminas de ratos tratados oralmente por 21 dias ou 90 dias (9A e 9B, respectivamente) com o EA de *Cecropia glazioui* Sneth (0,5 g/kg; *bid*). Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. O número de animais empregados foi de 7 para os animais tratados por 21 dias e 4 para seu controle, 5 para os animais tratados por 90 dias e para seu respectivo controle (\* $p < 0,05$ ; teste "t" de Student não pareado).



**Figura 12** - Dosagem dos níveis hipocâmpais de monoaminas de ratos tratados oralmente por 6 dias com a Fbut (A) ou Faq (B) de *Cecropia glazioui* Sneth (50 e 100 mg/kg; *bid*, respectivamente). Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. O número de animais empregados foi de 7 para Fbut ou controle, 8 para Faq e 7 para seu respectivo controle ( $*p < 0,05$ ; teste "t" de Student não pareado).

**DISCUSSÃO**

## DISCUSSÃO

Existem relatos populares de uma atividade “calmante” para *C. glazioui* e, em estudos anteriores, observou-se que o tratamento repetido com o EA (EA 0,5 g/kg v.o., *bid*) permitiu um manuseio mais fácil dos animais nos procedimentos de administração intragástrica diária (Dr. Lapa, comunicação pessoal). Verificou-se também, nesse estudo preliminar, que o EA de *C. glazioui* reduziu a latência para imobilidade no teste de NF em ratos e produziu alterações bioquímicas hipocâmpais, indicativas de uma atividade do tipo antidepressiva (Lapa e col., 1999), pois a NF é um teste comportamental sensível a drogas antidepressivas de diversas classes e usado como preditivo para drogas com potencial antidepressivo (Porsolt e col., 1977; Kitada e col., 1981; Wiliner, 1984; Barros & Leite, 1985). Nesse estudo preliminar também observou-se mudanças comportamentais sugestivas de uma ação do tipo ansiolítica (Lapa e col., 1999).

No presente estudo, buscou-se verificar e caracterizar a atividade do tipo antidepressiva da *C. glazioui*, pois a observação dessa atividade poderia estar relacionada a seus efeitos ditos “calmantes”. A este respeito, estudos com a paroxetina, uma droga antidepressiva da classe dos ISRSs, mostrou que esse composto é efetivo no tratamento do transtorno de ansiedade generalizada (TAG), após tratamento repetido e este efeito não está relacionado a uma melhora no quadro depressivo (Ravizza e col., 1997). Clinicamente também tem sido verificada a eficácia dos antidepressivos IMAOs no tratamento de alguns transtornos de ansiedade como a TAG e o transtorno de pânico (Rickels & Schweizer, 1990), o que poderia ser interpretado como uma ação ansiolítica destes compostos. Adicionalmente, têm sido observada a atividade antidepressiva de drogas ansiolíticas do grupo das azapironas, agonistas de receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>1A</sub> (Robinson e

col., 1990; Jenkins, S.W e col., 1990) e de substâncias com atividade bloqueadora de canais de  $Ca^{++}$ , como a nifedipina, o diltiazem e a nimodipina (Mogilnicka e col. 1987; Czyrak e col., 1989, 1990; Kostowski e col, 1990).

O material botânico para o preparo do EA, o seu preparo, assim como das frações semipurificadas Fbut e Faq e as doses *Cecropia glazioui* usadas nesse estudo foram os mesmos dos estudos anteriores (Cysneiros, 1996; Lapa e col., 1999) e que apresentaram ação antihipertensiva e hipotensora relacionada ao bloqueio de canais de  $Ca^{++}$  dependentes de voltagem.

Inicialmente, os animais foram tratados por 21 dias e o tratamento repetido com o EA promoveu uma redução no tempo de imobilidade dos animais submetidos ao teste da NF, confirmando os resultados descritos anteriormente (Lapa e col., 1999). Este efeito foi bastante evidente a partir do 6º dia e se manteve após 21 dias de tratamento. Já no 2º dia de tratamento com o EA (0,25, 0,5 e 1 g/kg v.o.) a redução no tempo de imobilidade era evidente, embora não alcançando significância estatística, usando-se a análise de variância englobando todas as doses em comparação com os dados controle. Entretanto, quando usado o teste "t" de Student para cada dose, a dose de 0,5 g/kg diminuiu significativamente o tempo de imobilidade.

Está bem estabelecido que drogas antidepressivas com mecanismo de ação básico envolvendo o sistema noradrenérgico necessitam de estresse prévio para serem eficazes na NF, sendo que os compostos que atuam no sistema serotoninérgico ativos na ausência de estresse, tendo, no entanto, seu efeito potencializado na presença de uma condição estressante (Borsini e col., 1989). Este fato foi comprovado experimentalmente com o antidepressivo tricíclico imipramina, usado como droga padrão, que após 2 dias de tratamento, mesmo na ausência de estresse, reduziu o tempo de imobilidade na NF. A

esse respeito, a não observação do efeito do tipo antidepressivo após 2 dias de tratamento com o EA não parece estar simplesmente relacionada ao mecanismo de ação básico de seus constituintes ativos, pois nossos resultados mostram uma clara tendência à redução do tempo de imobilidade, sugerindo uma relação dose-dependente. Observa-se uma clara potenciação do efeito do EA após o 6<sup>o</sup> dia de tratamento, condizente com a literatura sobre o efeito de antidepressivos no teste da NF, mostrando que a ação destas drogas é mais evidente após tratamento repetido (Kitada e col.1981).

Por outro lado, alguns autores têm descrito que compostos como psicoestimulantes, antihistamínicos e anticolinérgicos podem gerar resultados falso-positivos quando do uso da NF como modelo experimental de depressão. Na verdade, não se sabe ao certo o mecanismo de ação exato dos compostos antihistamínicos e anticolinérgicos no tempo de imobilidade na NF, porém seu efeito é atribuído a uma ação direta nos receptores histaminérgicos do tipo H<sub>1</sub> e muscarínicos do tipo M<sub>1</sub>, respectivamente (Browne,1979; Schechter & Chance, 1979; Waliach & Hediey, 1979). Apesar de não terem sido descritos estudos da *C. glazioui* sobre estes sistemas, esses resultados podem ser descartados pelo fato da resposta a antihistamínicos, por exemplo, não ser mantida após tratamento repetido (Kitada e col.,1981) e porque a diminuição da imobilidade por psicoestimulantes e anticolinérgicos se dá por aumento da atividade locomotora, refletido por um comportamento característico de estimulação motora (Porsolt e col., 1977, 1979; Kitada e col., 1981). Para descartar totalmente a possibilidade de atividades como essas descritas, após 21 dias de tratamento, os animais foram submetidos a um teste de CA, onde não foi constatado aumento da atividade locomotora de animais tratados com o EA de *C. glazioui*. Assim, a manutenção dos efeitos após tratamento repetido com EA e a não alteração da atividade locomotora nos indicam que a diminuição da imobilidade observada após o

tratamento oral com o EA de *C. glazioui* é provavelmente devido à uma ação do tipo antidepressiva de seus constituintes. Além disso, nos ratos tratados por 90 dias observou-se que o efeito do tipo antidepressivo do EA é mantido, fato este que, além de confirmar nossas observações até 21 dias de tratamento repetido, pode ter importância clínica, visto que os tratamentos continuados por, pelo menos, 1 ano reduzem em 90 % os índices de remissão em alguns tipos de depressão (Stahl, 1996).

Uma vez que um mesmo animal, foi submetido várias vezes ao teste de NF, no tratamento repetido por 21 dias, ocorrendo inclusive alterações na linha de base entre o 2º e o 6º dia, o EA poderia estar interferindo com processos de aprendizagem e memória, porém, animais submetidos ao teste pela 1ª vez após 90 dias de tratamento, apresentaram o mesmo padrão de resposta, isto, é uma redução no tempo de imobilidade. Desta forma, a interferência de alterações nos processos de aprendizagem e memória nos parece pouco provável, reforçando novamente a hipótese de uma ação antidepressiva do EA de *C. glazioui*.

Uma das características do teste da NF é a sensibilidade a diversos antidepressivos, sendo possível estabelecer uma relação dose-efeito e um poder preditivo bastante razoável em relação às doses usadas clinicamente (Porsolt e col., 1977; Kitada e col., 1981; Willner, 1984; Barros & Leite, 1985). No entanto, na avaliação comportamental dos animais tratados v.o. *bid* por 6, 21 e 90 dias, não foram observadas diferenças significativas entre as doses de 0,25 - 1g/kg.

Na tentativa de se estabelecer uma relação dose-resposta, e em virtude da escassez de material semi-purificado (Fbut e Faq) para tratamento repetido com várias doses, adotou-se o procedimento clássico descrito por Porsolt e colaboradores (1977), onde os animais foram tratados por 3 vezes em 24 h após serem submetidos a 15 min de

estresse de natação. Após o tratamento com o EA (0,125; 0,25; 0,5; 1,0 g/kg) foi observada uma redução no tempo de imobilidade dose-dependente, confirmando mais uma vez a atividade do tipo antidepressiva do EA, similar à da imipramina, droga utilizada como controle positivo. Este efeito foi mantido na Fbut (25, 50, 100, 200 mg/kg), de forma também dose-dependente numa relação de potência aproximada de 1/5 entre o EA e a Fbut. O tratamento com Faq não alterou a reposta comportamental dos animais na NF, sugerindo que o(s) princípio(s) biologicamente ativo(s) nesse teste, está(ão) presente(s) na Fbut, mais apolar.

Utilizando o teste clássico de Porsolt, os resultados indicaram que com o EA o efeito máximo é obtido com a dose de 0,25 g/kg, o que é condizente com nossos resultados anteriores, onde não observamos diferenças entre as doses de 0,25 - 1,0 g/kg após tratamento repetido e com a literatura que demonstra que o estresse prévio potencializa o efeito dos antidepressivos na NF (Borsini e col., 1989). Porém, após tratamento com a Fbut utilizando a mesma metodologia, observamos o efeito máximo nas doses de 50 e 100 mg/kg, visto que não ocorre diferença significativa entre as duas.

Um fato interessante observado foi a diminuição do efeito da Fbut na maior dose usada (200 mg/kg). Considerando que a Fbut não é totalmente purificada e possui, portanto, diversos compostos, muitos deles ainda não quimicamente caracterizados, pode estar ocorrendo alguma interação entre estes compostos modificando a resposta comportamental.

Como já comentado anteriormente, dos antidepressivos clinicamente eficazes, a maioria deles interage com os sistemas noradrenérgico e/ou serotoninérgico, seja por atuação direta em receptores, como a mianserina, ou interferindo com processos de metabolização ou recaptção, como os IMAOs, os TCAs e os ISRSs. Tem sido ainda

descrito, de uma forma geral, que após o tratamento repetido com antidepressivos, ocorre uma diminuição na função noradrenérgica e um aumento da função serotoninérgica (Mongeau e col., 1997).

O tratamento com antidepressivos exerce influência sobre o sistema noradrenérgico. De uma forma geral, a função noradrenérgica parece estar diminuída após o tratamento repetido com antidepressivos. As drogas que atuam diretamente sobre a função noradrenérgica, como os TCAs e os IMAOs quando administradas de forma aguda, aumentam os níveis hipocâmpais de NA, sendo este aumento compensado após tratamento repetido, apesar de algumas drogas aumentarem a liberação de NA cronicamente, o que parece ser devido à uma ação pré-sináptica (Lacroix e col., 1991).

Em função destas alterações ocorridas no hipocampo geradas por antidepressivos, foi realizada uma dosagem de monoaminas hipocâmpais, após o tratamento oral repetido com EA por 2, 6, 21 e 90 dias e com a Fbut e a Faq após 6 dias, onde foram dosadas a NA, a 5-HT e seus metabólitos. Após 2 dias de tratamento com o EA foi observado um aumento dos níveis de NA hipocâmpais, não sendo constatadas alterações nos níveis de 5-HT e do seu metabólito 5-HIAA. Este aumento de NA é mantido após 6 e 21 dias de tratamento, porém não é mais observado após 90 dias. A administração oral do EA por 6 ou 21 dias aumenta ainda de forma significativa os níveis de 5-HT, fato este que aos 90 dias se manifesta em forma de uma tendência apenas, sem significância estatística.

A observação de um aumento dos níveis hipocâmpais de NA após o tratamento com o EA de *C. glazioui* parece coincidir com as evidências acima descritas. No caso dos nossos experimentos foi realizada uma dosagem em sinaptossomas de hipocampo, avaliando-se a NA intra e extracelular, o que dificulta a interpretação em relação ao mecanismo de ação. O fato da NA aparecer aumentada após 2 dias nos sugere que

alguma substância, dentre as diversas presentes no EA, interage diretamente com o sistema noradrenérgico, provavelmente por interferência nos processos de recaptção, metabolização ou interação com autoreceptores.

Tem sido descrito que agudamente os TCAs inibem o disparo dos neurônios do LC (Scuvée-Moreau e col., 1987; Svensson, 1980; Svensson & Usdin, 1978), o que parece estar relacionado com sua potência em inibir a recaptção de NA (Scuvée-Moreau e col., 1987). A administração de desipramina por 1 a 7 dias produz pequenas alterações na freqüência de disparo de NA no LC (Huang e col., 1980; McMillen e col., 1980), sendo este efeito de redução da transmissão NA no hipocampo potencializado após 2-3 semanas de tratamento (Huang, 1980) e evidente em drogas como imipramina e amitriptilina apenas após 2 semanas (Svensson, 1980, Svensson & Usdin, 1978). Esta inibição aparece em sobreposição a diminuições nos níveis de AMPc (Melia e col., 1992) e da expressão de tirosina hidroxilase cerebral (Brady e col., 1992; Melia e col., 1992; Nestier e col., 1990), que representam mecanismos regulatórios da função noradrenérgica. No hipocampo, apesar destas drogas aumentarem a disponibilidade de NA na fenda sináptica, o tratamento agudo com desipramina parece reduzir a eficiência de sua liberação estimulada. Este efeito tem sido atribuído a uma ação dos antidepressivos sobre autoreceptores  $\alpha$ -2 (Curet e col., 1992). Por outro lado, tem sido mostrado que, após o tratamento por 2 a 3 semanas, esta diminuição na transmissão noradrenérgica é observada, porém em menor intensidade, provavelmente por uma dessensibilização dos receptores  $\alpha$ -2 (Lacroix e col., 1991). O tratamento por 2 dias com agentes IMAOs, como a clorgilina e a fenelzina, também diminui a freqüência de disparo de NA no LC, não ocorrendo retorno aos níveis basais de liberação mesmo após 1 ou 3 semanas de tratamento repetido (Blier & de Montigny, 1990; Blier e

col.,1986). Este mesmo efeito é descrito para os inibidores seletivos da recaptação de NA (Mongeau e col.,1997). Ainda em relação aos IMAOs, é observado um pequeno aumento nos níveis hipocampais de NA, sendo este mais evidente agudamente e atribuído à própria inibição da enzima de degradação (Blier e col.,1986a, 1986b; Finberg & Youdim, 1983). Após tratamento repetido, este aumento parece ser compensado por uma diminuição na síntese e na disponibilidade para liberação do neurotransmissor (Finberg & Youdim, 1983).

Também tem sido atribuído ao hipocampo um papel fundamental na etiologia da depressão, principalmente relacionado a processos de memória emocional (Gray, 1987). Apesar da amígdala ser apontada como principal estrutura relacionada ao armazenamento deste tipo de memória (LeDoux, 1993), o hipocampo parece ter um papel integrador muito importante, visto que sua destruição apresenta efeitos inibitórios em diversos comportamentos (Kim & Fanselow, 1992; Philips & LeDoux, 1992). Além disso, o hipocampo recebe várias projeções noradrenérgicas oriundas do *locus coeruleus* (LC) e serotonérgicas provenientes dos núcleos da rafe (NR) (Machado, 1991), onde são observadas diversas alterações bioquímicas após o tratamento com diferentes antidepressivos (Mongeau e col.,1997).

Ao contrário dos TCAs, os IMAOs não parecem alterar funcionalmente os autoreceptores  $\alpha$ -2 adrenérgicos no LC (Blier & Bouchard, 1994; Campbell & McKernan, 1986; Palfreyman e col., 1986). Um aumento agudo na liberação de NA também é observado após o tratamento com mianserina e azapironas, este último provavelmente em função da ação de seu metabólito 1-PP sobre receptores  $\alpha$ -2 (Blier e col., 1991; Curet & de Montigny, 1989), este efeito desaparecendo após tratamento crônico (Cerrito & Raiteri, 1981; Dickinson e col., 1989).

Em relação ao sistema serotoninérgico, tanto os TCAS quanto os IMAOs, os ISRSs e as azapironas, reduzem agudamente o disparo serotoninérgico nos NR (Scuvée-Moreau & Dresse, 1979; Blier & de Montigny, 1987; Chaput e col., 1988), sendo este processo parcialmente revertido após 1 semana e totalmente revertido após 2 semanas de tratamento (Blier & de Montigny, 1987; Chaput e col., 1988). No caso de alguns TCAs, como a clorimipramina, e dos ISRSs, este efeito é atribuído ao bloqueio da recaptação de 5-HT (equivalente à capacidade de bloquear a recaptação *in vitro*) e a uma atuação desta sobre auto-receptores somatodendríticos do tipo 5-HT<sub>1A</sub> (Quineax e col., 1982, Scuvée-Moreau & Dresse, 1979; Chaput e col., 1988). Esta ação é compartilhada, porém de forma direta, pelo grupo das azapironas que promove dessensibilização de receptores 5-HT<sub>1A</sub> após tratamento repetido, produzindo assim aumento da função serotoninérgica. No hipocampo, após 3 semanas de tratamento com a imipramina, ocorre um aumento da função serotoninérgica, representada pela eficácia da estimulação da via serotoninérgica em inibir o disparo de neurônios piramidais da região CA3 (Chaput e col., 1986). Os IMAOs e os ISRSs, após tratamento repetido, aumentam os níveis hipocâmpais de 5-HT (Bier e col., 1986; Chaput e col., 1988), não sendo, no caso dos IMAOs, este fato atribuído à dessensibilização de receptores 5-HT<sub>1D</sub> e sim de hetero-receptores  $\alpha$ -2 adrenérgicos (Blier & Bouchard, 1994). No caso dos ISRSs, é proposto um mecanismo de dessensibilização de auto-receptores pré-sinápticos, não estando, porém, esta ação bem caracterizada (Blier & Bouchard, 1994). O tratamento repetido com agonistas dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, como a tandospirona e o 8-OHDPAT, parece aumentar a função serotoninérgica não só por um processo de dessensibilização de auto-receptores somatodendríticos 5-HT<sub>1A</sub>, quanto por uma atividade sobre receptores pós-sinápticos (Tanaka, 1995; Wieland & Lucki, 1990).

No caso do EA de *C. glazioui*, foi observado um aumento nos níveis de 5-HT após 6 dias de tratamento. Apesar de todos os antidepressivos diminuírem o disparo serotoninérgico nos NR após tratamento agudo, como discutido anteriormente, caso alguma substância estivesse atuando em mecanismos sinápticos como recaptação, seria esperado que os níveis de 5-HT fossem alterados. Esta ação após tratamento crônico, seria justificada por uma ação em receptores, onde haveria dependência de processos adaptativos. Um fato interessante é que não foi observada qualquer alteração nos níveis do metabólito 5-HIAA. Visto que o principal mecanismo de retirada de 5-HT da fenda sináptica é por processo de recaptação e a metabolização da 5-HT é citoplasmática (por ação de uma enzima monoaminoxidase), este aumento de 5-HT parece ser extracelular, baseado no fato que uma ação por inibição da MAO, além de diminuir os níveis do metabólito 5-HIAA, deveria aumentar os níveis de 5-HT agudamente. Cabe ressaltar que, no presente momento, é prematura qualquer inferência sobre o mecanismo molecular da ação antidepressiva da *C. glazioui*.

Comparando-se os resultados obtidos com os descritos para o *Hypericum perforatum*, seu composto majoritário, a hiperforina, mostrou-se bastante eficiente no teste da NF e estudos realizados *in vitro* demonstraram sua capacidade de inibir a contração mediada por 5-HT em íleo de cobaia, foi sugerida uma ação antagonista nos receptores 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>4</sub>. A hiperforina também foi eficiente em inibir a recaptação de 5HT em células peritoneais de rato (Chatterjee e col., 1998), assim como em inibir a recaptação de 5-HT e NA em sinaptossomas (Müller e col., 1998). Tanto a ação sobre os receptores 5-HT<sub>3</sub>, quanto a inibição de recaptação parecem ser responsáveis pela atividade antidepressiva do *H. perforatum* e estudos de *binding* revelaram a afinidade de alguns de seus constituintes por receptores do tipo 5-HT<sub>1</sub> (Cott, 1997). No que diz respeito à *C. glazioui*, Nicolau e

colaboradores (1988) sugeriram uma atividade antagonista de natureza competitiva de sua Fae, em relação as respostas à 5-HT e à NA, em preparações de artéria e veia femoral de cão, sendo este efeito nos receptores serotoninérgicos não muito bem caracterizado, merecendo melhor investigação. A hipericina, outro composto presente no *Hypericum perforatum* com potencial antidepressivo, apresentou atividade inibidora da enzima monoaminoxidase (Cott, 1997), porém, até o momento, não há relatos de estudos da atividade da *C. glazioui* sobre esta enzima.

Os animais tratados com Fbut por 6 dias, também apresentaram aumento nos níveis de 5-HT e NA hipocampais, o que corrobora nossa hipótese de que a alteração de monoaminas no hipocampo está relacionada ao efeito do tipo antidepressivo da *C. glazioui* no teste da NF. Comportamentalmente, a Fbut reduziu a imobilidade neste modelo experimental após o mesmo período de tratamento, não sendo constatadas diferenças significativas no comportamento dos animais após administração da Faq, em relação ao grupo controle. Em relação às frações semi-purificadas de *C. glazioui*, alguns estudos anteriores (Borges, 1992; Cysneiros, 1996; Lapa e col., 1999) constataram a atividade antihipertensiva e hipotensora do EA e da Fbut, mas não da Faq, e atribuíram estes efeitos à presença de substância(s) bloqueadora(s) de canais de  $Ca^{++}$  dependentes de voltagem. Tem sido descrito que compostos desta natureza, apresentam atividade antidepressiva (Mogilnicka e col. 1987, 1988; Czyrak e col., 1989, 1990; Kostowski e col, 1990a), porém os efeitos da *C. glazioui* parecem manifestar-se no SNC em doses menores que aquelas que produzem efeito cardiovascular, o que a diferencia dos outros bloqueadores de canais de  $Ca^{++}$ . Há relatos de que o verapamil aumenta a transmissão adrenérgica por bloqueio  $\alpha$ -2 pré-sináptico, fato este não compartilhado pelo diltiazem, e que a nimodipina aumenta os

níveis de 5-HIAA em diversas áreas do cérebro, efeito este potencializado após 5 dias de tratamento, além de reduções do metabólito HVA, após tratamento agudo com nimodipina, que são revertidas após os 5 dias de tratamento (Gaggi e col., 1992). Apesar da literatura sobre a atividade antidepressiva dos bloqueadores de canais de  $Ca^{++}$  ser bastante contraditória, principalmente no que diz respeito ao mecanismo de ação, este efeito deve ser melhor investigado visto que pode estar colaborando para a atividade do tipo antidepressiva da *C. glazioui*.

Atualmente, existem no mercado farmacêutico diversos antidepressivos, com reduzida quantidade de efeitos colaterais. Apesar disso, todos diferem muito pouco em sua eficácia para o tratamento de diversos transtornos de origem afetiva e no tempo para a instalação dos seus efeitos terapêuticos (2 a 4 semanas), o que constitui-se no principal obstáculo para aderência ao tratamento. A utilização de produtos derivados de plantas tem demonstrado um novo caminho para tratamentos prolongados. Como exemplo, o próprio *Hypericum perforatum* atualmente é o antidepressivo mais vendido na Alemanha, e sua atividade antidepressiva é atribuída principalmente à sua capacidade de inibir a recaptação de 5-HT e NA, apesar de outros efeitos como a inibição da MAO e a interação com receptores serotoninérgicos não serem descartados (Müller e col., 1998). A maior parte dos antidepressivos disponíveis no mercado atuam por mecanismos semelhantes aos do *H. perforatum*. No entanto, as preparações de *H. perforatum* mostram uma maior aceitação junto aos pacientes, sugerindo que, neste aspecto, os produtos derivados de plantas superam os sintéticos, por outro lado, é necessário um estudo aprofundado da toxicidade e da segurança para uso na espécie humana dos medicamentos derivados de plantas. A este respeito, estudos toxicológicos preliminares mostraram que após 30 dias de tratamento com o EA de *C. glazioui*, não ocorrem interferências com a fertilidade e a

capacidade reprodutiva de ratas (Tabata e col., 1992). Outro estudo mostrou baixa toxicidade, por via intraperitoneal, do extrato bruto de brotos e folhas de *C. glazioui* (Nicolau e col, 1998). Também não foram observados sinais de toxicidade após necropsia dos animais tratados por 90 dias (dados não publicados). Estes dados confirmam o grande potencial terapêutico da *C. glazioui*. Assim, em função dos nossos resultados e por diversos aspectos aqui discutidos no que diz respeito a medicamentos derivados de plantas, o estudo do mecanismo de ação da atividade do tipo antidepressiva da *C. glazioui* merece uma investigação mais aprofundada, o que será futuramente procedido em modelos *in vitro*, para um melhor entendimento de sua ação do tipo antidepressiva.

**CONCLUSÕES**

## CONCLUSÕES

- O EA de *C. glazioui* apresenta uma atividade do tipo antidepressiva, dependente da dose e que é potencializada após tratamento repetido por 6 dias, conforme demonstrado pelo teste da NF.
- O efeito do tipo antidepressivo é mantido na fração semipurificada Fbut de maneira dose-dependente, porém não é observado após administração da Faq.
- Após o tratamento repetido com o EA, pode ser observado um aumento nos níveis de NA hipocámpais, que é evidente a partir do 2º dia e de 5-HT que se estabelece a partir do 6º dia. Não ocorrem alterações nos níveis do metabólito 5-HIAA. O mesmo perfil de aumento foi observado após tratamento com a Fbut por 6 dias, mas não com a Faq, o que nos sugere que o efeito está relacionado às alterações nos níveis de monoaminas hipocámpais.
- Nossos resultados sugerem que a atividade antidepressiva da *C. glazioui* merece uma investigação mais aprofundada, especialmente seus efeitos nos sistemas serotoninérgico e noradrenérgico, além do envolvimento do seu(s) constituinte(s) bloqueador(es) de canais de  $Ca^{++}$  no mecanismo da ação do tipo antidepressiva da *C. glazioui*.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTAR, C.A. Neurotrophins and depression. **Trends in Pharmacol.**, **20**: 59 - 61, 1999.
- ALVAREZ, J.C.; MARTINE, S.; ADVENIER, C.; SPREUX-VAROQUAUX, O. Differential changes in brain and platelet 5-HT concentrations after steady-state achievement and repeated administration of antidepressant drugs in mice. **European Neuropsychopharmacol.**, **10**: 31-36, 1999.
- ANDREW, L.B. Depression and suicide. [http:// www. emedicine. com / EMERG/ topic129.htm](http://www.emedicine.com/EMERG/topic129.htm), pp.1-6, 1999.
- BARROS, H.M.T. & LEITE, J.R. A utilização de roedores nos modelos animais de depressão. **Ciência e cultura**, **38**: 951-958, 1985.
- BENDER, G.A. A Pictorial History of Herbs in Medicine and Pharmacy. **Herbalgram**, **42**: 33-59, 1998.
- BLIER, P. & BOUCHARD, C. Modulation of 5-HT release in the guinea pig brain following long-term administration of antidepressant drugs. **British J. Pharmacol.**, **113**: 485-495, 1994.
- BLIER, P. & DE MONTIGNY, C. Antidepressant monoamine oxidase inhibitor enhance serotonin but not noradrenaline transmission. In: Paul, D. G. & Potter (Eds.), **Clinical Pharmacol. Psychiatry**, Springer-Verlag, Berlin, 1987a.
- BLIER, P. & DE MONTIGNY, C. Differential effect of gepirone on presynaptic and postsynaptic serotonin receptors: single-cell recording studies. **J. Clin. Psychopharmacol.**, **10**: 13S-20S, 1990.

- BLIER, P. & DE MONTIGNY, C. Effect of chronic tricyclic antidepressant treatment on the serotonergic autoreceptor: a microiontophoretic study in the rat. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, **314**: 123-128, 1980.
- BLIER, P. & DE MONTIGNY, C. Modification of 5-HT neuron properties by sustained administration of the 5-HT<sub>1A</sub> agonist gepirone: electrophysiological studies in the rat brain. **Synapse**, **1**: 470-480, 1987b.
- BLIER, P.; CHAPUT, Y.; DE MONTIGNY, C. Long-term 5-HT reuptake blockade, but not monoamine oxidase inhibition, decreases the function of terminal 5-HT autoreceptors: electrophysiological studies in rat brain. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, **337**: 246-254, 1988.
- BLIER, P.; CURET, O.; CHAPUT, Y.; DE MONTIGNY, C. Tansospirone and its metabolite, 1-(2-pyrimidinyl)-piperazine. II. Effects of acute administration of 1-PP and long-term administration of tansospirone on noradrenergic neurotransmission. **Neuropharmacology**, **7**: 691-701, 1991.
- BLIER, P.; DE MONTIGNY, C.; AZZARO, A. Effect of repeated amiflamine administration on serotonergic and noradrenergic neurotransmission: electrophysiological studies in the rat CNS. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, **334**: 253-260, 1986a.
- BLIER, P.; DE MONTIGNY, C.; AZZARO, A. Modification of serotonergic and noradrenergic neurotransmission by repeated administration of monoamine oxidase inhibitors: electrophysiological studies in the rat central nervous system. **J. Pharmacol. exp. Ther.**, **237**: 987-994, 1986b.
- BOMBARDELLI, E. & MORAZZONI, P. *Hypericum perforatum*. **Fitoterapia**, volume LXVI – N.1, 1995.

- BORGES, A.C.R. **Mecanismo de ação hipotensora da *Cecropia glazioui* Sneth**. Dissertação de Mestrado, UNIFESP-EPM, 1992.
- BORGES, A.C.R.; ROCHA, M.O.R.; MENDES, A.K.P.; CARNEIRO, A.P.D.; TORRES, L.M.B.; RIBEIRO, A. Ação farmacológica da *Cecropia adenopus* Mart, sobre a pressão arterial e musculatura lisa de ratos. **XIII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Fortaleza, res. 089, 1994.
- BORSINI, F.; LECCI, A.; SESSAREGO, A.; FRASSINE, R.; MELI, A. Discovery of antidepressant activity by forced swimming test may depend on pre-exposure of rats to a stressful situation. **Psychopharmacology**, **97**: 183-188, 1989.
- BRADY, L.S.; GOLD, P.W.; HERKENHAM, M.; LYNN, A.B.; WHITFIELD JR., H.J. The antidepressants fluoxetine, idaxozan and phenelzine alter corticotropin-releasing hormone and tyrosine hydroxylase mRNA levels in rat brain: therapeutic implications, **Brain Res.**, **572**: 117-125, 1992.
- BROADHEAD, W.E.; BLAZER, D.G.; GEORGE, L.K.; TSE, C.K. Depression, disability days and days lost from work in a prospective epidemiologic survey. **JAMA**, **264**: 2524-2528, 1990.
- BROWNE, R.G. Effects of antidepressants and anticholinergics in a mouse "behavioural despair" test. **European J. Pharmacol.**, **58**: 331-334, 1979.
- CAMPBELL, I.C. & MCKERNAN, R.M. Clorgyline and desipramine alter the sensitivity of [<sup>3</sup>H]noradrenaline release to calcium but not to clonidine. **Brain Res.**, **372**: 253-259, 1986.
- CERRITO, F. & RAITERI, M. Supersensitivity of central noradrenergic presynaptic autoreceptors following chronic treatment with the antidepressant mianserin. **European J. Pharmacol.**, **70**: 425-426, 1981.

- CHAPUT, Y. & DE MONTIGNY, C. Effects of the 5-hydroxytryptamine<sub>1</sub> receptor antagonist, BMY 7378, on 5-hydroxytryptamine neurotransmission: electrophysiological studies in the rat central nervous system. **J. Pharmacol. exp. Ther.**, **246**: 359-379, 1988.
- CHAPUT, Y.; BLIER, P.; DE MONTIGNY, C. *In vivo* electrophysiological evidence for the regulatory role of autoreceptors on serotonergic terminals. **J. Neuroscience**, **6**: 2796-2801, 1986.
- CHAPUT, Y.; DE MONTIGNY, C.; BLIER, P. Effects of a selective 5-HT reuptake blocker, citalopram, on the sensitivity 5-HT autoreceptors: electrophysiological studies in the rat brain. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, **333**: 342-348, 1986.
- CHATTERJEE, S.S.; NÖLDNER, M.; KOCH, E.; ERDELMEIER, C. Antidepressant activity of *Hypericum perforatum* and hyperforin: the neglected possibility. **Pharmacopsychiatry**, **31**: 7-15., 1998.
- COTT, J.M. *In vitro* receptor binding and enzyme inhibition by *Hypericum perforatum* extract. **Pharmacopsychiatry**, **30 (Suppl.)**: 108-112, 1997.
- CURET, O. & DE MONTIGNY, C. Electrophysiological characterization of adrenoceptors in the rat dorsal hippocampus. III. Evidence for the physiological role of  $\alpha_2$  - adrenergic autoreceptors. **Brain Res.**, **499**: 18-26, 1989.
- CURET, O.; DE MONTIGNY, C.; BLIER, P. Effect of desipramine and amphetamine on noradrenergic neurotransmission: electrophysiological studies in the rat brain. **European J. Pharmacol.**, **221**: 59-70 , 1992.

- CYSNEIROS, R.M. **Mecanismo de ação hipotensora do extrato aquoso e frações purificadas da *Cecropia glazioui* Sneth.** Dissertação de Doutorado, UNIFESP-EPM, 1996.
- CYSNEIROS, R.M.; MESIA, S.V.; TANAE, M.M.; TERSARIOL, I.L.S.; LAPA, A. J. Mecanismo da ação antisecretora ácida gástrica da *Cecropia glazioui* Sneth. **XII Reunião Anual da Federação das Sociedades de Biologia Experimental**, Caxambú, res. 12.141, 1997.
- CYSNEIROS, R.M.; TANAE, M.M.; LAPA, A. J. Ação  $\beta$ -adrenérgica da *Cecropia glazioui* Sneth. **XI Reunião Anual da Federação das Sociedades de Biologia Experimental**, Caxambú, res. 0.071, 1996.
- CZYRAK, A.; MOGILNICKA, E.; SIWANOWICZ, J.; MAJ, J. Dihydropyridine calcium channel antagonists as antidepressant drugs in mice and rats. **Neuropharmacology**, **28**: 229-233, 1989.
- CZYRAK, A.; MOGILNICKA, E.; SIWANOWICZ, J.; MAJ, J. Some behavioural effects of repeated administration of calcium channel antagonists. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, **35**: 557-560, 1990.
- DE SMET, P.A. & NOLEN, W.A. St. John's wort as an antidepressant. **British Med. J.**, **313**: 241-247, 1996.
- DELLA MONACHE, F.; GIACOMOZZI, C.A.; CALIXTO, J.B.; YUNES, R.A. Isolamento e identificação da isovitexina obtida de frações farmacologicamente ativas da *Cecropia glazioui*. **X Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, São Paulo, painel 5/9, 1988.

- DI STASI, L.C.; SANTOS, E.M.G; SANTOS, C.M.; HIMURA, C.A. **Plantas medicinais da Amazônia**, São Paulo. Editora UNESP, pp. 137-138, 1989.
- DICKINSON, S.L; GADIE, B.; HAVLER, M.E.; HUNTER, C.; TULLOCH, I.F. Behavioural effects of idazoxan given continuously by osmotic minipump in rats. **British J. of Pharmacol.**, **98**: 932 p, 1989.
- EVANS, I.S.; CARDOSO, E.M.; LAPA, A.J.; LIMA-LANDMAN, M.T.R. Avaliação do efeito de plantas medicinais com ação hipotensora / anti-hipertensiva na atividade da enzima conversora (ECA). **XIV Reunião Anual da Federação das Sociedades de Biologia Experimental**, Caxambú, res. 12.081, 1999.
- FERREIRA, S.H. Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, pp. 1-132, 1998.
- FINBERG, J.P.M. & YODIM, M.B.H. Selective MAO A and B inhibitors: their mechanisms of action and pharmacology. **Neuropharmacology**, **22**: 441-446, 1983.
- FONSECA, E.T. Umbauba ("Imbaúba", *Cecropia peltata*). **Rev. Flora Med.**, **1**: 289-296, 1935.
- GAGGI, R.; GIANNI, A.M; CHIRIVI, L.; RONCADA, P. Effects of nimodipine on biogenic amines in discrete brain areas. **Pharmacology**, **44**: 237-244, 1992.
- GRAY, J.A. **The neuropsychology of anxiety: an enquiry into the functions of the septal hippocampal System**. Oxford University Press, Oxford, 1987.
- GUIMARÃES, F.S. Distúrbios afetivos. In: Graeff, F.G. & Brandão, M.L. (eds) **Neurobiologia das Doenças Mentais**, Lemos Editorial, São Paulo, pp.79-107, 1996.

- HUANG, Y.H.; MAAS, J.W.; HU, G.H. The time course of noradrenergic pre and postsynaptic activity during chronic desipramine treatment. **European J. Pharmacol.**, **68**: 41-47, 1980.
- INTERCONTINENTAL MEDICAL STATISTICS. Pharmaceutical Marketing Brazil, 1990, *apud* GEREZ, J.C. Indústria Farmacêutica: histórico, mercado e competição, **Ciência Hoje**, vol. **15**, nº **89**: 21-36, 1993.
- JENKINS, S.W.; ROBINSON, D.S.; FABRE, L.F.; ANDARY, J.J.; MESSINA, M.E.; REICH, L.A. Gepirone in the treatment of major depression. **J. Clin. Psychopharmacol.**, **10** (3 Suppl.): 77S-85S, 1990.
- KERBER, V.A. & SCHENKEL, E.P. Isolamento e identificação da escopoletina e ácido clorogênico no caule de *Cecropia catarinensis*. **36º Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência**, res. 46-D.2.5, São Paulo, 1984.
- KERBER, V.A.; SILVA, G.A.A.B.; MIGUEL, O.G.; MOREIRA, E.A. Investigação fitoquímica em *Cecropia catarinensis* Quat. Moraceae. **XI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, res. 2.44, João Pessoa, 1990.
- KIM, J.J. & FANSELOW, M.S. Modality-specific retrograde amnesia of fear. **Science**, **256**: 675-677, 1992.
- KING, N.M. & HADDOCK, N. The phytochemical investigation of *Cecropia peltata* **J. Am. Pharm. Assoc.**, **48**: 129-130, 1959.
- KITADA, Y.; MIYAUCHI, T.; SATOH, A.; SATOH, S. Effects of antidepressants in the rat forced swimming test. **European J. Pharmacol.**, **72**: 145-152, 1981.
- KLERMAN, G.L. & WEISSMAN, M.M. Increasing rates of depression. **JAMA**, **261**: 2229-2235, 1989.

- KLERMAN, G.L. Clinical epidemiology of suicide. **J. Clin. Psychiatry**, **48 (Suppl.):** 33-38, 1987.
- KOSTOWSKI, W.; DYR W.; PUCILOWSKI, O. Activity of diltiazem and nifedipine in some animal models of depression. **Pol. J. Pharmacol. Pharm.**, **42:** 121-128, 1990.
- LACROIX, D.; BLIER,P.; CURET, O.; DE MONTIGNY, C. Effects of long-term desipramine administration on noradrenergic neurotransmission reuptake: electrophysiological studies in the rat brain. **J. Pharmacol. exp. Ther.**, **257:** 1081-1090, 1991.
- LAPA, A. J.; SOUCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M.T.; DE LIMA, T.C.M. Validation of medicinal plants in Latin America: reasons and goals. In: Echeverri L.F & Quiñones F.W. **Tópicos em productos naturales. La biodiversidad como fuente de moléculas activas**, Impresos Begón, Medelin, pp.223-229, 1997.
- LAPA, A.J.; LIMA-LANDMAN, M.T.R.; CYSNEIROS, R.M.; BORGES, C.R.; SOUCCAR, C.; BARETTA, I.P.; DE LIMA, T.C.M. A Topic on new antihypertensive drug research. In: Hostettsmann, K. & Gupta, M.P. (eds). **Chemistry, biological and pharmacological properties of medicinal plants from the Americas**, Harwood Academic Pub., Switzerland, pp. 185-196, 1999.
- LEDOUX, J.E. Emotional memories systems in the brain. **Behav. Brain Res.**, **58:** 69-79, 1993.
- MACHADO, A. **Neuroanatomia funcional**. Ed. Atheneu, Rio de Janeiro, pp. 1-292, 1991.

- MARSHALL, J.J. & RICKSON, F.R. Characterization of the  $\alpha$ -D-glucagon from the plastids of *Cecropia peltata* as a glycogen type-polisaccharide. **Carbohyd. Res.** **28**: 31-37, 1972.
- MATOS, F.J.A. **Farmácias vivas**, EUFC, Fortaleza, p. 75, 1991.
- MCMILLEN, B.A.; WARNACK, W.; GERMAN, D.C.; SHORE, P.A. Effects of chronic desipramine treatment on rat brain noradrenergic responses to  $\alpha$ -adrenergic drugs. **European J. Pharmacol.**, **61**: 239-246, 1980.
- MELIA, K.R.; RASMUSSEN, K.; TERWILLIGER, R.Z.; HAYCOCK, J.W.; NESTLER, E.J.; DUMAN, R.S. Coordinate regulation of cyclic AMP system with firing rate and expression of tyrosine hydroxylase in the rat *locus coeruleus*: effects of chronic stress and drug treatments. **J. Neurochem.**, **58**: 494-502.
- MELL, C.D. Tannin from the trumpet tree. **Textile Colorist**, **50**: 466-471, 1928.
- MENDELSON, R & BALICK, M. The value of undiscovered pharmaceutical in tropical forest. **Economic Botany**, **49**: 223-228, 1995.
- MOGILNICKA, E.; CZYRAK A.; MAJ, J. Dihydropyridine calcium antagonists reduce immobility in the mouse behavioural despair test; antidepressants facilitate nifedipine action. **European J. Pharmacol.**, **138**: 413-416, 1987.
- MONGEAU, R.; BLIER, P.; DE MONTIGNY, C. The serotonergic and noradrenergic systems of the hippocampus: their interactions and the effects of antidepressant treatments. **Brain Res. Rev.**, **23**: 145-195, 1997.
- MÜLLER, W.E.; SINGER, A.; WONNEMANN, M.; HAFNER, U.; ROLLI, M.; SCHÄFER. Hyperforin represents the neurotransmitter reuptake inhibiting

- constituent of *Hypericum* extract. **Pharmacopsychiatry**, **31 (Suppl.)**: 16-21, 1998.
- NEIDLEN, R. & KOCK, E. Isolation and structure of constituents from *Cecropia adenopus* Martins. **Arch Pharm**, **313**: 199-207, 1980a.
- NEIDLEN, R. & KOCK, E. Structures of constituents from *Cecropia adenopus* Martins. **Arch Pharm**, **313**: 498-508, 1980b.
- NEMEROFF, C.B. The Neurobiology of Depression. **Scientific American**, **278**: 42-49, 1998.
- NESTLER, E.J.; DUMAN, R.S. Coordinate regulation of the cyclic AMP system with firing rate and expression of tyrosine hydroxylase in the rat *locus coeruleus*: effects of chronic stress and drug treatments. **J. Neurochem.**, **58**: 494-502, 1992.
- NESTLER, E.J.; MCMAHON, A.; SABBAN, E.L., TALLMAN, J.F.; DUMAN, R.S. Chronic antidepressant administration decreases the expression of tyrosine hydroxylase in the rat *locus coeruleus*. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA**, **87**: 7522-7526, 1990.
- NICOLAU, M.; ANTONIOLLI, A.; DE LIMA, T.C.M.; RAE, G.A.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Efeito do extrato bruto (EB) e de frações semipurificadas de *Cecropia glazioui* sobre a musculatura lisa e cardíaca *in vitro* e o sistema cardiovascular. **X Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, São Paulo, 1988.
- PALFREYMAN, M.G.; MIR, A.K.; KUBINA, M.; MIDDLEMISS, D.N.; RICHARDS, M.; TRICKLEBANK, M.D.; FOZARD, J.R. Monoamine receptor sensitivity changes following chronic administration of MDL 72394, a site-directed

- inhibitor of monoamino oxidase. **European J. of Pharmacol.**, **130**: 73-89, 1986.
- PHILIPS, R.G. & LEDOUX, J.E. Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. **Behav. Neurosc.**, **106**: 274-285, 1992.
- PIO CORREA, M. **Dicionário das Plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Inst. Bras. Desenv. Florestal, Rio de Janeiro, Vol IV, p. 199-200, 1984.
- PORSOLT, R.D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, **266**: 730-732, 1977.
- PRISTA, L.N. & ALVES, A.C. Phytochemical investigation of the bark of *Cecropia peltata*. **Garcia Orta**, **8**: 615-623, 1960.
- QUINEAX, N.; SCUVÉE-MOREAU, J.; DRESSE, A. Inhibition of *in vitro* and *ex vivo* uptake of noradrenaline and 5-hydroxytryptamine by five antidepressants: correlation with reduction of spontaneous firing rate of central monoaminergic neurones. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, **319**: 66-70, 1982.
- RAVIZZA, L.; FONZO, V.; SCOTTA, M.; ZANALDA, E.; ROCCA, P. Antidepressant use in generalized anxiety disorder. In: Mendlewics, J.; Brunello, N.; Judd, L.L. (eds): **New therapeutic indications of antidepressants**, Int. Acad. Biomed. Drug Res. Basel, Karger, 12: 41-48, 1997.
- WINECK, C.L. Some historical aspects of marijuana. **Clin. Toxicol.**, **10**: 243-253, 1977.
- RIBEIRO DO VALLE, J. A . **A Farmacologia no Brasil**. Academia de Ciências do Estado de São Paulo, São Paulo, pp. 1-228, 1978.

- RIBEIRO, O. & MORS, W.B. Chemical study of the mucilage of the leaves and stem of *Cecropia adenopus* Martin. **Rev. Soc. Brasil. Quim.**,**19**: 124-140, 1950.
- RICKELS, K. & SCHWEIZER, E. The clinical course and long term management of generalized anxiety disorder. **J. Clin. Psychopharm.**, **10**: 101S, 1990.
- RICKSON, F.R. Glycogen palstides in mellerian body cells of *Cecropia peltata*, a higher green plant. **Science**, **173**: 344-347, 1971.
- ROBINSON, D.S; GAMMANS, R.E.; SHROTRIYA, R.C.; JENKINS, S.W.; ANDARY, J.J.; ALMS, D.R.; MESSINA, M.E. Clinical effects of 5-HT<sub>1A</sub> partial agonists, buspirone and gepirone, in the treatment of depression. **Clin. Neuropharmacol.**, **13 (Suppi. 2)**: 228-229, 1990.
- SALAS, I.G.; BRENES, J.R.; MORALES, O.M. Antihypertensive effect of *Cecropia obtusifolia* (Moraceae) leaf extract on rats. **Rev. Biol. Trop.**, **35**: 127-130, 1987a.
- SALAS, I.G; MORALES, O.M.; BRENES J.R. Effect of chronic administration of *Cecropia obtusifolia* (Moraceae) on mean arterial pressure in rats. **Rev. Biol. Trop.**, **35**: 359-362, 1987b.
- SCHECHTER, M.D. & CHANCE, W.T. Non-specificity of "behavioural despair" as an animal model of depression. **European J. Pharmacol.**, **60**: 139-142, 1979.
- SCHILDKRAUT, J.J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **Am. J. Psychiatry**, **122**: 509-522, 1965.

- SCIENTIFIC AMERICAN. Back to roots, 1993, *apud* FERREIRA, S.H. Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, pp. 1-132, 1998.
- SCUVÉE-MOREAU, J. & DRESSE, A. Effect of various antidepressant drugs on the spontaneous firing rate of *locus coeruleus* and dorsal raphe neurons of the rat. **European J. Pharmacol.**, **57**: 219-225, 1979.
- SIMÕES, C.M.O.; MERTS, L.A.; SCHENKEL, E.P.; IRGANG, B.E.; STEHMANN, J.R. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, pp. 96-97, 1986.
- SKOLNICK, P. Antidepressants for the new millennium. **European J. Pharmacol.**, **375**: 31-40, 1999.
- STAHL, S.M. **Essential psychopharmacology**. Cambridge University Press, Cambridge, 1996.
- SUNAL, R.; GÜMÜSEL, B.; KAYAALP, O. Effect of changes in swimming Area on results of "behavioral despair test". **Pharmacol. Biochem. Behav.**, **49**: 891-896, 1994.
- SVENSSON, T.H. & USDIN, T. Feedback inhibition of brain noradrenaline neurons by tricyclic antidepressants:  $\alpha$  receptor mediation. **Science**, **202**: 1089-1091, 1978.
- SVENSSON, T.H. Effect of chronic treatment with tricyclic antidepressant drugs on identified brain noradrenergic and serotonergic neurons. **Acta Psych. Scand.**, **61**: 121-131, 1980.

- TABATA, A.S.; HUEY, C.C.; LIMA-LANDMAN, M.T.R.; SOUCAR, C.; LAPA, A.J. Efeitos do tratamento crônico do extrato da *Cecropia glazioui* Sneth na fertilidade e na capacidade reprodutora de ratas. **XII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Curitiba, p. 057, 1992.
- TANAKA, H.; TATSUNO, T.; SHIMIZU, H.; HIROSE, A.; KUMASAKA, Y.; NAKAMURA, M. Effects of tandospirone on second messenger systems and neurotransmitter release in the rat brain. **General Pharmacol.**, **26**: 1765-1772, 1995.
- TORRES, L.M.B; BORGES, A.C.R., LAPA A.J. Amina obtida da hidrólise e sublimação do extrato de *Cecropia glazioui* (Moraceae). **14º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, res. PN-101, Caxambu, 1991.
- VALERI, H. & NARVÁEZ, R. Investigation of *Cecropia peltata*. **Rev. Med. Vet. Parasitol.**, **9**: 105-116, 1951.
- VILLAR, J.D.F.; CLEMENTE, F.C.; SILVA, E.M. Estudos químicos da *Cecropia peltata*. **40º Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência**, res. 115-D.2.5, 1988.
- WALLACH, M.B. & HEDLEY, L.R. The effects of antihistamines in a modified behavioural despair test. **Commun. Psychopharmacol.**, **3**: 35-39, 1979.
- WIELAND, S. & LUCKI, I. Antidepressant-like activity of 5-HT<sub>1A</sub> agonists measured with the forced swim test. **Psychopharmacology**, **101**: 497-504, 1990.
- WILLNER, P. The validity of animal models of depression. **Psychopharmacology**, **83**: 1-16, 1984.