

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS -
PPGCF

WCLEUBIANNE MATIAS NASCIMENTO MAIA

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIDEPRESSIVO DO ÓXIDO DE ROSA EM
MODELOS EXPERIMENTAIS DE DEPRESSÃO.

TERESINA

2019

WCLEUBIANNE MATIAS NASCIMENTO MAIA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIDEPRESSIVO DO ÓXIDO DE ROSA EM
MODELOS EXPERIMENTAIS DE DEPRESSÃO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Professor Dr. Luciano da Silva Lopes.

TERESINA

2019

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde
Serviço de Processos Técnicos

M217a Maia, Wcleubianne Matias Nascimento.
Avaliação do efeito antidepressivo do óxido de rosa em modelos
experimentais de depressão / Wcleubianne Matias Nascimento Maia.
-- 2019.
81 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Centro
de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas, Teresina, 2019.

“Orientador: Prof. Dr. Luciano da Silva Lopes.”

1. Plantas medicinais. 2. Depressão - Tratamento. 3. Óxido de
rosa. I. Lopes, Luciano da Silva. II. Título.

CDD 615.32

WCLEUBIANNE MATIAS NASCIMENTO MAIA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIDEPRESSIVO DO ÓXIDO DE ROSA EM
MODELOS EXPERIMENTAIS DE DEPRESSÃO**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Piauí, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Luciano da Silva Lopes (Orientador) Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas | Ministro Petrônio Portella- Teresina

Profa. Dr. Kelson James Silva de Almeida (Examinador Interno) Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas| Campus Ministro Petrônio Portella - Teresina

Prof. Dr. Maurício Pires Moura do Amaral (Examinador Externo) Departamento de Farmácia | Campus Ministro Petrônio Portella - Teresina

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

REITOR

Prof. Dr. José de Arimatéia Dantas Lopes

VICE-REITOR

Prof.^a. Dra. Nadir do Nascimento Nogueira

PRÓ-REITOR PARA DE ENSINO E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof.^a. Dra. Regina Lúcia Ferreira Gomes

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. Viriato Campelo

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof. Dr. Luciano da Silva Lopes

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Prof. Dra. Marcília Pinheiro da Costa

Dedico este trabalho à Deus por ser minha
fortaleza, refúgio e afago em todas as
fases da minha vida;

A meu pai, Josimar Pereira do
Nascimento (*in memoriam*), por ser minha
inspiração de vida.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, prof^o Dr Luciano Lopes, pelo acolhimento, disponibilidade, paciência e confiança depositada em mim;

À minha coorientadora, prof^a Dr^a Rosemarie Brandim Marques, pelo profissionalismo, generosidade e dedicação imensurável para a realização deste trabalho. Obrigada por compartilhar sua sabedoria e experiência.

A meu esposo, Maia Filho, pelo companheirismo, empenho e incentivos investidos para meu crescimento. Obrigada por fazer dos meus sonhos também os seus;

Ao Laboratório NPBio - UESPI, pela excelência de sua equipe e parceria concedida para o brilhante desenvolvimento deste trabalho. Em especial aos acadêmicos Amanda e Nicolas, por sempre estarem disponíveis, pela colaboração e suporte essencial para conclusão deste trabalho;

A todos os colaboradores, amigos e familiares que de alguma forma contribuíram para a execução deste trabalho.

,

“Posso todas as coisas Naquele que me fortalece”.

(Filipenses 4:13).

RESUMO

As plantas medicinais são frequentemente apresentadas como um grande potencial para a originar novos fármacos e os terpenóides, têm demonstrado atividades sobre o Sistema Nervoso Central, incluindo ação sedativa, atinociceptiva e antidepressiva. O óxido de rosa é um composto orgânico da classe de monoterpene, havendo poucos estudos realizados. Este trabalho teve como objetivo avaliar a ação farmacológica antidepressiva do óxido de rosa, seu mecanismo de ação e suas características farmacocinéticas, toxicológicas e farmacodinâmica. Para realização dos testes *in silico* utilizou-se as ferramentas swisstarget prediction e swissdock. As estruturas alvo foram avaliadas através das bases de dados do repositório da RCSB PDB, sendo posteriormente trabalhada no *software* CHIMERA 1.12. As estruturas de *docking* foram visualizadas no aplicativo PyMol. Para a predição dos parâmetros farmacocinéticos (ADMET), além de parâmetros toxicológicos foi utilizado PreADMET e SwissADME. Em seguida, utilizou-se camundongos albinos em testes comportamentais para avaliação da atividade antidepressiva no Teste do Nado Forçado e Teste de Suspensão pela Cauda, e para avaliação da atividade locomotora foram utilizados o Teste de Campo Aberto, e ROTAROD. Para os testes *in vivo*, os animais foram divididos em grupos de acordo com o tipo de tratamento, contendo 6 animais por grupo: Controle Negativo (CN), a qual foi administrado por via oral o veículo de 0,1 ml / 10g de peso, o Grupo Teste (GT) no qual os animais foram divididos (12,5; 25; 50 e 100 mg/ kg de óxido de rosa) e o grupo controle positivo (CP) em que os animais receberam uma droga antidepressiva de referência, fluoxetina (30mg/kg). Todos os compostos investigados foram administrados oralmente (gavagem) em dose única, 60 min antes de cada teste comportamental. Em seguida, utilizou-se camundongos albinos em testes comportamentais para avaliação da atividade antidepressiva o Teste do Nado Forçado e Teste de Suspensão pela Cauda, e para avaliação da atividade locomotora foram utilizados o Teste de Campo Aberto, e ROTAROD. Por último avaliou-se o mecanismo de ação do óxido de rosa através do teste do nado forçado. As propriedades farmacocinéticas e toxicológicas indicam que o óxido de rosa possui absorção intestinal, ligação à albumina, baixo peso molecular, ligação aos receptores de serotonina, GABA e glutamato, boa metabolização hepática e baixa toxicidade nos testes *in silico*. O tratamento com óxido de rosa na dose de 50 mg/kg foi capaz de diminuir o tempo de imobilidade dos animais no teste de nado forçado e teste de suspensão pela cauda e incapaz de alterar a atividade motora dos animais teste de campo aberto e ROTAROD. O estudo demonstra que o pre-tratamento com WAY100635 (um antagonista dos receptores 5HT_{1A}) administrado previamente ao OR na dose de 50mg/Kg, provocou uma reversão do efeito antidepressivo do terpeno no TNF, demonstrando assim que o OR pode manifestar seu efeito devido sua interação com os receptores específicos da serotonina. O presente trabalho foi realizado em animais, sendo incapaz de observar efeitos adversos e colaterais. Dessa forma, pode-se concluir que o óxido de rosa apresenta características cinéticas favoráveis para ser um bom candidato a uma droga antidepressiva e bom perfil de segurança nas análises *in silico*. Além disso, o OR de 50mg/Kg apresentou efeito antidepressivo *in vivo* atuando provavelmente através da via serotoninérgica a partir da interação com receptores 5HT_{1A}.

Palavras-chave: Óxido de rosa, Depressão, Avaliações Comportamentais.

ABSTRACT

The medicinal plants are often presented as a great potential to originate new drugs and terpenoids, have demonstrated activities on the Central Nervous System, including sedative, antinociceptive and antidepressant action. The rose oxide is an organic compound of the monoterpene class, with few studies performed. This study aimed to evaluate the antidepressant pharmacological action of rose oxide, its mechanism of action and its pharmacokinetic, toxicological and pharmacodynamic characteristics. In order to perform the *in silico* tests, the *swisstarget prediction* and *swissdock* tools were used. The target structures were evaluated through the database of the RCSB PDB repository, and later worked on the CHIMERA 1.12 software. The docking structures were viewed in the PyMol application. To predict pharmacokinetic parameters (ADMET), in addition to toxicological parameters, PreADMET and SwissADME were used. Then, albino mice were used in behavioral tests to evaluate antidepressant activity in the Forced Swimming Test (FST) and Tail Suspension Test (TST), and for the evaluation of locomotor activity were used the Open Field Test (OFT), and ROTAROD. For the *in vivo* tests, the animals were divided into groups according to the type of treatment, containing 6 animals per group: Negative Control (CN), which was administered orally the 0.1 ml / 10g weight vehicle. , the Test Group (GT) into which the animals were divided (12.5; 25; 50 and 100 mg / kg rose oxide) and the Positive Control Group (PC) in which the animals received a reference antidepressant drug, fluoxetine (20mg / kg). All investigated compounds were administered orally (gavage) in a single dose 60 min before each behavioral test. Then, albino mice were used in behavioral tests for antidepressant activity evaluation, the Forced Swimming Test and Tail Suspension Test, and for the evaluation of locomotor activity, the Open Field Test and ROTAROD were used. Lastly, the mechanism of action of the rose oxide was evaluated through the forced swimming test. The pharmacokinetic and toxicological properties indicate that rose oxide has intestinal absorption; albumin binding; low molecular weight; serotonin, GABA and glutamate receptor binding; good hepatic metabolism and low toxicity in *in silico* tests. The treatment with rose oxide at a dose of 50 mg / kg was able to decrease the animals' immobility time in the forced swimming and tail suspension test and unable to change the motor activity of the open field and ROTAROD tests. The study demonstrates that pretreatment with WAY100635 (a 5HT1A receptor antagonist) previously administered to the 50mg / kg OR caused a reversal of the antidepressant effect of terpene on FST, thus demonstrating that the OR may manifest its effect due to its interaction with specific serotonin receptors. The present study was performed on animals and was unable to observe adverse and side effects. Thus, it can be concluded that rose oxide presents favorable kinetic characteristics to be a good candidate for an antidepressant drug and a good safety profile in *in silico* analyzes. In addition, the 50mg / kg OR had an antidepressant effect *in vivo*, probably acting through the serotonergic pathway from the interaction with 5HT1A receptors.

Keywords: Rose Oxide, Depression, Behavioral Assessments.

LISTA DE ABREVIATURAS

2D - Bidimensional

3D – Tridimensional

5-HT – Serotonina

5-HT (1, 2, 3, 4, 5,6 e 7) – Receptores Serotoninérgicos

5-HTP – 5-hidroxitriptamina

ACh – Acetilcolina

ADME – Administração, Distribuição, Metabolização e excreção

ADMET - Administração, Distribuição, Metabolização, excreção e toxicidade

ADTs – Antidepressivos Tricíclicos

AENSs – Antidepressivos Específicos Noradrenérgicos e Serotoninérgicos

ANOVA – Análise de Variância

ARM – Antagonista do Receptor de Monoamina

CADD – Concepção de Fármaco Assistida por Computador

CAMD – Design Molecular Assistido por Computador

CAMM – Modelagem Molecular Assistida por Computador

CD14 – Marcador de Monócito

CID-10 – Classificação Internacional de Doenças, 10ª edição

CYP – Citocromo P450 oxidase

DA – Dopamina

DDs – Doenças Depressivas

DNA - Ácido Desoxirribonucléico

DSM-IV – Manual de Doenças e Estatística de Transtornos Mentais, Quarta Edição

EROS – Espécies Reativas de Oxigênio

GT - Grupo Teste

H – Hidrogênio

HBA – Aceptores de Ligação de Hidrogênio

HBD – Doadores de Ligação de hidrogênio

i.p – Intraperitoneal

IDO – Indolamina -2,3-dioxigenase

IFN – Interferon

IL-10 – Interleucina dez

IL-1 β – Interleucina beta1

IL-6 – Interleucina seis

IL-8 – Interleucina oito

IMAOs – Inibidores da Monoamina Oxidase

IRSNs - Inibidores da Recaptação de Serotonina e Noradrenalina

ISRN - Inibidores Seletivos da recaptação de Noradrenalina

ISRS – Inibidores Seletivos da recaptação de Serotonina

LCR –Líquido Cefalorraquidiano

L-DOPA – L-dihroxifenilalamina

Log P – Coeficiente de Partição de uma substância em sistema octanol / água

M1 – Macrófago pró-inflamatório

MAO – Monoamina Oxidase

NA – Noradrenalina

NaSSAs – Antidepressivos Específicos Noradrenérgicos e Serotoninérgicos

NE – Norepinefrina

NO – Óxido Nítrico

OMS – Organização Mundial de Saúde

P – Nível de Significância

PBPK – Modelagem Farmacocinética com base na Fisiologia

PCR – Proteína C-reativa

P-gp – Glicoproteína de Permeabilidade

PNS – Pesquisa Nacional de Saúde

RPM – Rotação por minuto

SNC – Sistema Nervoso Central

TCA – Teste de Campo Aberto

TDM – Transtorno Depressivo Maior

TGF β – Fator de Crescimento β

TH – Triptofano Hidroxilase

TLR3 – Toll-Like 3

TLR4 - Toll-Like 4

TNF – Teste do Nado Forçado

TPSA – Análise da Permeabilidade Celular

TReg – Células T Reguladoras

TSC – Teste de Suspensão pela Cauda

UFPI – Universidade Federal do Piauí

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema representativo do sistema monoaminérgico envolvido na regulação na atividade psicomotora, apetite, sono e humor.....	25
Figura 2: Esquema de processos associados à neurotransmissão Noradrenérgica	26
Figura 3: Esquema de processos associados à neurotransmissão serotoninérgica.....	26
Figura 4: Esquema de processos associados à neurotransmissão dopaminérgica.....	27
Figura 5: Estrutura molecular do óxido de rosa em 2D (A) e 3D (B).....	36
Figura 6: Efeitos do tratamento do óxido de rosa em diferentes doses, no tempo de imobilidade em teste nado forçado em camundongos.....	51
Figura 7: Efeitos do tratamento do óxido de rosa em diferentes doses, no tempo de imobilização no teste de suspensão da cauda em camundongo.....	52
Figura 8: Efeitos do tratamento do óxido de rosa em doses crescentes, em relação ao número de cruzamentos no teste de campo aberto.....	53
Figura 9: Efeitos do tratamento do óxido de rosa em diferentes doses, no tempo de permanência na barra giratória no teste Rota Rod.....	54
Figura 10: Efeitos do tratamento do óxido de rosa e way, no tempo de imobilidade em teste nado forçado.....	55
Figura 11: Efeitos do tratamento do óxido de rosa em dose subclínica, no tempo de imobilidade em teste nado forçado.....	58

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Tipos de antidepressivos e suas características.....	32
Tabela 2: Predição de absorção do Óxido de Rosa pela análise ADMET <i>in silico</i>	46
Tabela 3: Predição de distribuição do Óxido de Rosa pela análise ADMET <i>in silico</i>	46
Tabela 4: Predição de metabolização e excreção do Óxido de Rosa pela análise ADMET <i>in silico</i>	46
Tabela 5: Predição de toxicidade do Óxido de Rosa pela análise ADMET <i>in silico</i>	47
Tabela 6: Propriedades físico-químicas do óxido de rosa <i>in silico</i>	48

LISTA DE QUADRO

Quadro 1: Localização e tipo de ligação do óxido de rosa após teste de <i>docking</i> em receptores de membrana celular: receptor GABA, de glutamato e serotonina, e na proteína de transporte albumina.....	49
Quadro 02: Códigos “PDBs” das proteínas e receptores utilizados como alvo para o óxido de rosa em modelos <i>in silico</i> de docking.	50
Quadro 03: Sítios ativos de ancoragem do Óxido de Rosa em modelos <i>in silico</i> de docking.....	50

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	19
1.2 OBJETIVOS.....	21
1.2.1 Objetivo geral.....	21
1.2.2 Objetivos específicos.....	21
2 REVISÃO LITERÁRIA.....	22
2.1 DEPRESSÃO.....	22
2.2 MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS.....	23
2.2.1 SISTEMAS DE NEUROTRANSMISSORES.....	24
2.2.2 NEUROINFLAMAÇÃO E DEPRESSÃO.....	28
2.2.3 ESTRESSE OXIDATIVO.....	29
2.3 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E TRATAMENTO FARMACOLÓGICO	30
2.4 ALTERNATIVA TERAPÊUTICA	32
2.4.1 Psicoterapias.....	32
2.4.2 Exercício físico.....	33
2.4.3 Fitoterapia	33
2.4.3.1 TERPENOS.....	34
2.4.4 ÓXIDO DE ROSA.....	35
2.5 MODELAGEM <i>IN SILICO</i> DE PROPRIEDADES ADMET.....	36
2.6 MODELOS EXPERIMENTAIS DE DEPRESSÃO.....	38
2.6.1 TESTE DO NADO FORÇADO (TNF).....	38
2.6.2 TESTE DE SUSPENSÃO PELA CAUDA (TSC).....	39
2.7 MODELO EXPERIMENTAL DE ATIVIDADE MOTORA.....	40
2.7.1 TESTE DO CAMPO ABERTO.....	40
2.7.2 TESTE DE ROTAROD.....	40
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	40
3.1 PROCEDIMENTOS/ASPECTOS ÉTICOS.....	40
3.2 TESTE <i>IN SILICO</i>	41
3.2.1 As Análises de ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade).....	41
3.2.2 Análises de Docking.....	42
3.3 ANIMAIS.....	42
3.4 ADMINISTRAÇÃO.....	42
3.5 TESTES COMPORTAMENTAIS	43
3.5.1 Teste do Nado Forçado (TNF).....	43
3.5.2 Teste de Suspensão da Cauda (TSC).....	43
3.5.3 Teste do Campo Aberto (TCA).....	44
3.5.4 Teste de ROTA ROD.....	44
3.5.5 . Avaliação do Mecanismo de Ação Antidepressiva do Óxido de Rosa no TNF. Envolvimento do Sistema Serotoninérgico.....	45
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	45
4 RESULTADOS.....	46

4.1 Análises de ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade).....	46
4.2 Estudo de Dockagem.....	48
4.3 Efeito da administração de óxido de rosa no tempo de imobilidade dos animais no teste de nado forçado.	51
4.4 Efeito da administração de oxido de rosa no tempo de imobilidade dos animais pelo teste de suspensão da cauda.....	51
4.5 Efeito da administração de oxido de rosa no número de invasões no teste do campo aberto.....	52
4.6 Efeito da administração do óxido de rosa no tempo de permanência na barra giratória no teste Rota rod.....	53
4.7 Efeito da administração do óxido de rosa e Way no tempo de imobilidade dos animais no teste de nado forçado.....	54
4.8 Efeito da administração de dose subclínica do óxido de rosa no tempo de imobilidade dos animais no teste de nado forçado.....	55
5. DISCUSSÃO.....	56
6 CONCLUSÕES.....	65
REFERÊNCIAS.....	66
ANEXOS.....	79

1 INTRODUÇÃO

A depressão é uma condição frequente, de curso crônico e recorrente, está associada com incapacitação funcional e comprometimento da saúde física. Os pacientes deprimidos apresentam limitação da sua atividade e bem-estar, além de uma maior utilização de serviços de saúde. É uma das patologias mais comuns em todo o mundo e está associada à uma alta taxa de suicídios (FLECK et al., 2009). De acordo com Washington (2013), o transtorno depressivo maior (TDM) é caracterizado por uma disseminação de baixo humor, marcada pela perda de interesse, fadiga, dificuldades de sono, irritabilidade, má concentração, ideação suicida, sentimento sem valor, culpa excessiva e perda de apetite durante pelo menos um mês causando sofrimento clinicamente significativo ou comprometimento funcional.

Embora sejam realizadas intensas pesquisas sobre esta doença, a etiologia e patogênese da depressão ainda não são bem esclarecidas. Existem estudos pré-clínicos e clínicos sugerindo que neurotransmissores monoaminérgicos como a serotonina (5-HT), noradrenalina (NA) e dopamina (DA) exerçam no sistema nervoso central (SNC) uma importante participação na fisiopatologia da depressão (MOZDZEN et al., 2017). Atualmente, estão disponíveis no mercado farmacêutico vários tipos de drogas antidepressivas, incluindo antidepressivos tricíclicos (ADTs), inibidores seletivos da recaptção da serotonina (ISRS), inibidores da recaptção da serotonina-noradrenalina (SNRIs), inibidores da monoamina oxidase (IMAOs), antidepressivos específicos noradrenérgicos e serotoninérgicos (AENSs) (SULTANA et al., 2014).

Apesar dos avanços no tratamento da depressão, há relatos de pacientes que durante o período de tratamento queixam-se de náusea, disfunção sexual, dor de cabeça, insônia, sonolência diurna, agitação e perda de peso, fatores estes que podem levar a não continuidade do tratamento farmacológico (HUANG et al., 2017). Para que haja adesão ao tratamento do Transtorno Depressivo Maior (TDM) a farmacoterapia escolhida deve apresentar o mínimo de efeitos adversos, no entanto, para que a mesma promova efeito farmacológico é necessário o transcurso de um período de no mínimo duas semanas de tratamento, dito como período de latência. Desta forma, para que aconteça alguma resposta clínica e a redução expressiva dos sintomas, os antidepressivos devem ser utilizados por pelo menos quatro semanas, tempo necessário para que ocorra alterações morfológicas conhecidas como neuroplasticidade. Além disso, é necessário atingir as

doses terapêuticas sem ultrapassar as doses toleradas pelo paciente e garantir a adesão ao tratamento (BRATS, 2012). Diante das limitações apresentadas pelos tratamentos disponíveis no mercado torna-se necessário o uso de medicamentos complementares e alternativos para o tratamento da depressão. Em razão desses fatores já mencionados, atualmente existe um forte interesse no desenvolvimento de novos antidepressivos, que apresentem menores efeitos colaterais, efetividade terapêutica, redução do tempo de latência e com uma promissora alternativa terapêutica com base em produtos naturais. Por esta razão, houve o interesse em pesquisar o óxido de rosa para atividade antidepressiva.

O óxido de rosa é um composto orgânico da classe dos monoterpenos, é uma fragrância encontrada em rosas e em óleo de rosa como a rosa búlgara, gerânio, rosa damasco, *Laggera spp.*, *Eucalyptus citriodora* e *Dracocephalum heterophyllum* (BABU et al., 2002; KUIATE; BESSIÈRE; ZOLLO, 2002). O óxido de rosa também contribui para o sabor de algumas frutas como a lichia e pode ser produzido industrialmente com base na foto-oxigenação do citronelol (ALSTERS et al., 2010). Devido à sua aplicação comercial, muitos estudos relatam o uso do óxido de rosa na produção de aromas. Nonato et al. (2012), em seu estudo evidencia que o óxido de rosa possui atividade anti-inflamatória relacionada à sua capacidade de inibir a produção de IL-1 β .

Visto que o óxido de rosa pertence à classe dos monoterpenos, e esta classe química apresenta atividade neuroprotetora relatada na literatura, motivou-se o interesse de pesquisar esta substância para evidenciar se a mesma apresenta atividade antidepressiva, já que atualmente não há estudos que demonstrem esse possível efeito farmacológico.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Investigar o efeito antidepressivo do óxido de rosa em modelos experimentais de depressão.

1.2.2 Objetivos específicos

- 1) Verificar através de testes *in silico* as seguintes características farmacocinéticas do óxido de rosa: Absorção (A), Distribuição (D), Metabolização (M), Excreção (E) e toxicidade (T);
- 2) Realizar estudo de docagem molecular, a fim de investigar o possível sítio de ligação do óxido de rosa;
- 3) Verificar o efeito antidepressivo de doses crescentes de óxido de rosa administradas por via oral (v.o.) no teste do nado forçado (TNF) e no teste de suspensão pela cauda (TSC);
- 4) Avaliar a coordenação motora e o possível relaxamento muscular do óxido de rosa em doses crescentes administradas por via oral através do teste de campo aberto (TCA) e pelo teste de ROTAROD em camundongos;
- 5) Investigar o mecanismo de ação envolvido com o efeito antidepressivo do óxido de rosa no TNF.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DEPRESSÃO

A depressão representa a desordem de humor mais comum, diferenciando-se de uma simples tristeza pela duração de sintomas específicos (WILNER et al., 2012). De acordo com a American Psychiatric Association (2014), os sintomas de depressão incluem mudanças no apetite, peso, sono, atividade psicomotora; diminuição de energia; sentimentos de desvalia ou culpa; dificuldade para pensar, concentrar-se ou tomar decisões; ou pensamentos recorrentes de morte ou ideação suicida, planos ou tentativas de suicídio. Desta forma, classifica-se o indivíduo com depressão maior quando apresenta pelo menos quatro destes sintomas e quando estes sintomas persistirem na maior parte do dia, quase todos os dias e com duração mínima de duas semanas consecutivas. Este episódio deve ser acompanhado por sofrimento ou prejuízo clinicamente significativo no funcionamento social, profissional ou em outras áreas importantes da vida do indivíduo.

Além disso, pacientes que sofrem de depressão apresentam um maior risco de deficiência psicossocial, maior comprometimento funcional com elevadas taxas de mortalidade e morbidade, podendo apresentar também distúrbios cardiovasculares, nos músculos esqueléticos, metabólicos, pulmonares, isquemia cerebral e sintomas como dores crônicas (PERITO; FORTUNATO, 2012; MOTTER et al., 2016). Segundo Holt et al. (2013), adultos deprimidos correm maior risco de desenvolver transtornos de ansiedade e doenças cardiovasculares (doença cardíaca isquêmica e doença cerebrovascular) (HOLT et al., 2013). Conforme Nestler et al. (2002), a vulnerabilidade à depressão varia consideravelmente entre indivíduos de uma população, devido essa desordem depender da associação entre fatores genéticos e ambientais. Pesquisas indicam que essas desordens das causas da depressão são complexas e envolvem uma grande quantidade de fatores biológicos, psicológicos, sociais, apesar de ser fortemente modulada pelo ambiente (DHIR; KULKARNI, 2011).

Em termos de funcionamento diário, a falta de energia, perda de interesse, apatia e insônia dificultam completar tarefas diárias. Estima-se que 7% dos adultos deprimidos cometem suicídio, principalmente em parte devido à falta de tratamento ou eficácia terapêutica. Estima-se que apenas 37,5% dos adultos recebem tratamento minimamente adequado (WILES et al., 2013). Além do comprometimento da saúde, a

depressão é responsável pela baixa produtividade, dias de trabalho perdidos e uma estimativa de US\$ 83 bilhões de dólares em perdas econômicas anualmente no mundo (MOTTER et al., 2016).

Diante disso, a depressão é uma doença que vem apresentando nos últimos anos uma alta incidência, alta incapacidade produtiva e social, alta recorrência, e que interfere não só na qualidade de vida dos pacientes, mas também afetando sua saúde física e mental (WANG et al., 2017). Além disso, a Organização Mundial da Saúde (OMS) prevê que a depressão será o segundo transtorno mais prevalente (após a doença cardíaca isquêmica) até 2020 (DHIR; KULKARNI, 2011). Um Relatório da OMS aponta que o número de casos de depressão aumentou 18% entre 2005 e 2015: são 322 milhões de pessoas em todo o mundo, a maioria mulheres.

No Brasil, a depressão atinge 11,5 milhões de pessoas (5,8% da população) (GONÇALVES et al., 2018). Uma Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) realizada com amostra populacional nacionalmente representativa, mostrou que a prevalência de depressão maior é mais significativa entre as mulheres que vivem em áreas urbanas, com níveis educacionais mais baixos e com condições crônicas, como hipertensão e diabetes. Na mesma pesquisa, verificou-se que a maioria dos brasileiros com sintomas depressivos clinicamente relevantes (78,8%) não recebia nenhum tipo de tratamento (LOPES et al., 2016).

2.2 MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS

Embora nos últimos 50 anos, tenham sido realizados diversos estudos em relação à depressão, os mecanismos, os processos moleculares e neurobiológicos específicos que causam esta patologia ainda são pouco esclarecidos (SCHMIDT; WANG; MEIJER, 2011). A etiologia específica do transtorno de depressão maior (TDM) ainda não está bem elucidado, no entanto, há achados sugerindo que a doença possui fisiopatologia multifatorial.

A hipótese monoaminérgica postula que a doença resulta de uma deficiência de 5-HT ou NA, ou ainda de receptores deficientes para estes neurotransmissores (SCHILDKRAUT, 1965). Alguns antidepressivos não agem no sistema monoaminérgico, antidepressivos atípicos, como a tianeptina que aumenta a recaptação de monoaminas

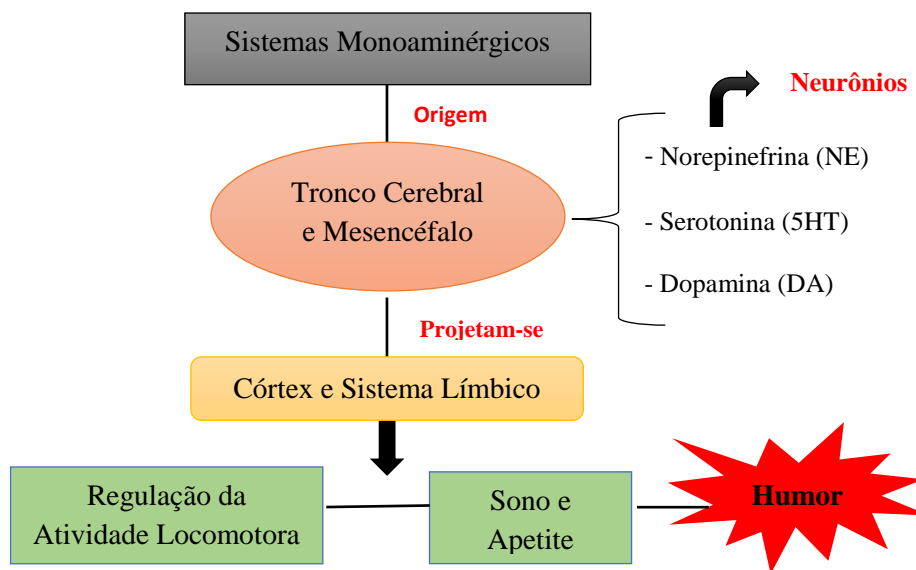
(BRINK et al., 2006). Esses dados sugerem o possível envolvimento de outros sistemas neurais e mecanismos bioquímicos na etiologia da depressão.

Novas teorias complementam a hipótese monoaminérgica para melhor entendimento da fisiopatologia da depressão, como a hipótese neurotrófica que postula que esta doença pode ser desencadeada por alterações nas vias de sinalização que regulam a neuroplasticidade e a sobrevivência celular (DUMAN, 2002; SCHMIDT; DUMAN, 2007). Adicionalmente, estudos mostram que a depressão pode estar associada: à neurodegeneração provocada por um aumento do estresse oxidativo (FORLENZA; MILLER, 2006), à liberação de citocinas pró-inflamatórias pela ativação do sistema imune (DUNN et al., 2005) e a desregulação do eixo hipotálamo-pituitária adrenal com consequente aumento dos níveis plasmáticos de glicocorticoides (PITTENGER; DUMAN, 2008). Há ainda evidências do envolvimento de outros sistemas de neurotransmissores envolvidos na patogênese da depressão, entre eles destacam-se o sistema glutamatérgico (SKOLNICK, 2001) e a via da L-arginina-óxido nítrico (NO) (BROCARDO et al., 2008).

2.2.1 SISTEMAS DE NEUROTRANSMISSORES

Os sistemas monoaminérgicos (Figura 1) se originam em pequenos núcleos no tronco cerebral e do mesencéfalo e projetam-se difusamente pelo córtex e sistema límbico. Esses sistemas são compostos por neurônios que contêm NE, 5-HT e DA. Junto com a acetilcolina (ACh), eles exercem efeitos de modulação e integração sobre outras atividades corticais e subcorticais e estão envolvidos na regulação da atividade psicomotora, apetite, sono e, provavelmente, do humor (LAFER; VALLADA FILHO, 1999). De tal modo será apresentado complexas hipóteses neuroquímicas propondo a fisiopatologia da depressão.

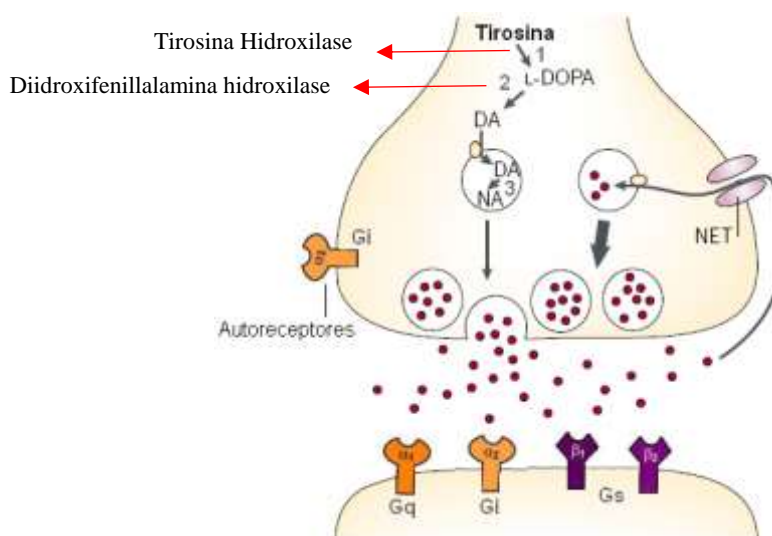
Figura 1: Esquema representativo do sistema monoaminérgico envolvido na regulação na atividade psicomotora, apetite, sono e humor.



Fonte: Elaborado pela própria autora.

Segundo Coutinho et al. (2015), os neurotransmissores responsáveis pelo encaminhamento de comandos neuronais são produzidos a partir de um precursor (tirosina, triptofano, colina e outros alfa aminoácidos). O mecanismo de transmissão desses sinais é feito de forma química e elétrica, através da despolarização das células nervosas. É gerado, então, um potencial de ação e o neurotransmissor é, então, liberado por ação de enzimas (as monoamino-oxidases) armazenadas nas mitocôndrias. Essa liberação ocorre por exocitose e a seguir à vesícula sináptica funde-se à parede e o neurotransmissor é liberado na fenda sináptica. Através desse mecanismo de transmissão, neurônios que contêm adrenalina (ou norepinefrina [NE]) (Figura 2), 5-HT (figura 3) e DA (Figura 4), são responsáveis pelo controle de atividades cerebrais básicas que comandam sensações como o sono, atividade psicomotora, humor e apetite. A alteração no funcionamento desses neurônios é vista como uma hipótese de causa da depressão. Existe uma refutação dessa hipótese, pois alguns medicamentos antidepressivos à base de DA possuem mecanismo lento de resposta.

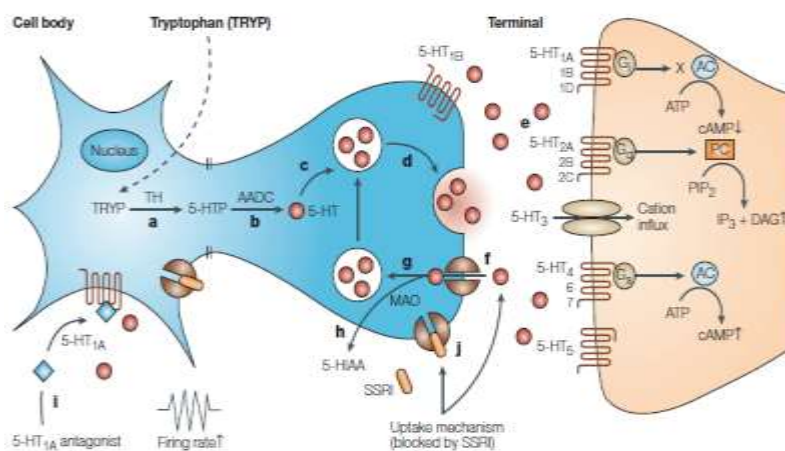
Figura 2: Esquema de processos associados à neurotransmissão Noradrenérgica.



Legenda: NA é sintetizada a partir da tirosina, que pela ação da enzima tirosina hidroxilase (1) é convertida em L-DOPA (L-diidroxifenilalanina). A LDOPA é convertida, pela enzima diidroxifenilalanina descarboxilase (2), em dopamina (DA) que é transportada para as vesículas sinápticas. Nas vesículas, apenas os neurônios noradrenérgicos possuem a enzima dopamina β-hidroxilase (3), responsável pela síntese de NA. Após sua liberação, a NA pode ativar os receptores pós e pré-sinápticos ou ainda ser recaptada pela ação do transportador de NA (NET).

Fonte: Adaptado de LOBATO, 2009.

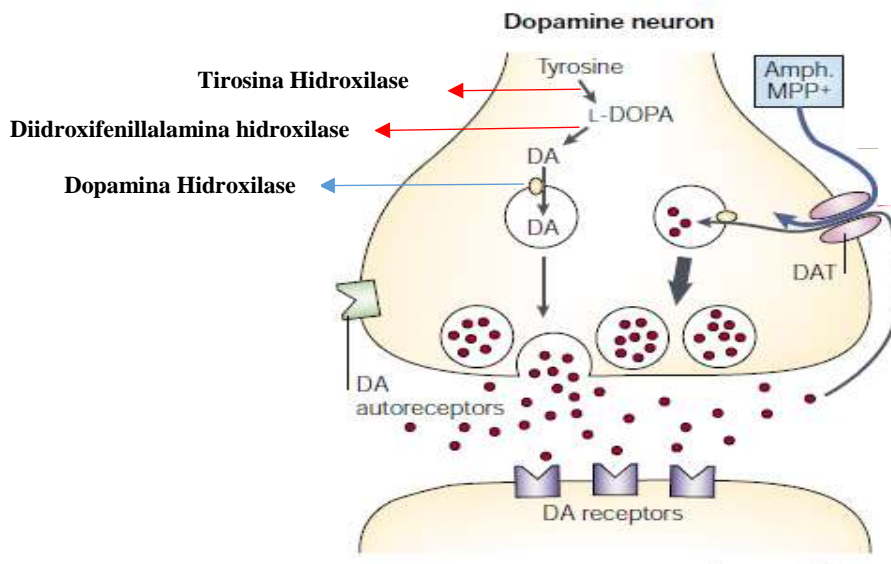
Figura 3: Esquema de processos associados à neurotransmissão serotoninérgica.



Legenda: a- Triptofano hidroxilase (TH) catalisa a conversão do triptofano (TRYP) em 5-hidroxitriptofano (5-HTP). b- Aminoácido descarboxilase aromática (AADC) catalisa a conversão de 5-HTP em 5-hidroxitriptamina (5-HT, serotonina). c - A 5-HT é absorvida

pelas vesículas de armazenamento. d - 5-HT é liberado das vesículas de armazenamento para o espaço sináptico. e - A 5-HT pode ativar subtipos de famílias de receptores 5-HT (1, 2, 3, 4, 5,6 e 7), que acoplam com seu respectivo sistema de transdução de sinal dentro do neurônio pós-sináptico. f - 5-HT é retomado nos terminais 5-HT pré-sinápticos pelo transportador 5-HT. G e h - Dentro dos terminais pré-sinápticos 5-HT, o 5-HT seria tomadas pelas vesículas de armazenamento ou degradadas pela monoamina oxidase (MAO). i - 5-HT ativa o pré-sináptico somatodendrático Autoreceptor 5-HT1A, que pode ser bloqueado por antagonistas selectivos de 5-HT1A. j - Inibidores seletivos de recaptção de serotonina (ISRSs) incluindo fluoxetina inibir o transportador 5-HT. 5-HIAA, ácido 5-hidroxi-indolacético; AC, adenilato ciclase; DAG, diacilglicerol; IP3, inositol-1,4,5-trifosfato; PIP2, fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato
 Fonte: Adaptado de WONG et al., 2005.

Figura 4: Esquema de processos associados à neurotransmissão dopaminérgica.



Legenda: DA é sintetizada a partir da tirosina, que pela ação da enzima tirosina hidroxilase (1) é convertida em L-DOPA (L-diidroxifenilalanina). A L-DOPA é convertida, pela enzima diidroxifenilalanina descarboxilase (2), em dopamina (DA) que é transportada para as vesículas sinápticas. Após sua liberação, a DA pode ativar os receptores pós e pré-sinápticos ou ainda ser recaptada pela ação do transportador de DA (DAT)

Fonte: Adaptado de TORRES et al., 2003.

Acredita-se que essa patologia pode ser decorrente da inativação de receptores pré e pós-sinápticos e não só da deficiência na quantidade de neurotransmissores. Dessa forma, a depressão pode ser originada de falha dos receptores e/ou supersensitividade de receptores alfa adrenérgicos (COUTINHO et al., 2015). As regiões neuroanatômicas como o córtex pré-frontal, hipocampo, amígdala, giro do

cíngulo ou supracaloso, tálamo e o gânglios, respectivamente regulam as funções tais como: direção do comportamento e conduta, memória de curto e longo prazo, memórias de eventos emocionais, integração das emoções, integração de estímulos sensoriais e motores e controle global do movimento do corpo (ALVES, 2010). Em um estudo realizado por Machado (2008) em pacientes depressivos notou-se uma mudança na anatomia do sistema nervoso, observada pela diminuição do hipocampo e do giro do cíngulo; já em pacientes recuperados houve uma normalização anatômica dessas áreas.

2.2.2 NEUROINFLAMAÇÃO E DEPRESSÃO

Pesquisas recentes indicam que a perda da capacidade de regular adequadamente processos inflamatórios, desencadeados por diferentes formas de estresse físico ou mental, pode ser um dos fatores associados à ocorrência e à manutenção de um quadro de depressão em certas pessoas (REIS, 2017). Os dados que apoiam o papel da inflamação na depressão são extensos e incluem descobertas que abrangem paradigmas experimentais. Pacientes com TDM exibem todas as características cardinais de uma resposta inflamatória, incluindo aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias e seus receptores e aumento dos níveis de reagentes de fase aguda, quimiocinas e moléculas de adesão solúveis no sangue periférico e líquido cefalorraquidiano (LCR) (MILLER; RAISON, 2016).

Evidências apontam que a hipersecreção de citocinas pró-inflamatórias levaria a um prejuízo na neurotransmissão noradrenérgica e serotoninérgica cerebral, alterações estas que se refletiriam em alguns dos sintomas da depressão (VISMARI et al., 2008). Vários mecanismos têm sido propostos para explicar a influência das citocinas pró-inflamatórias na neurotransmissão. Entre eles, estão aqueles ligados à capacidade das citocinas pró-inflamatórias de reduzir a disponibilidade de triptofano para a síntese de serotonina. Uma teoria sugere que as citocinas pró-inflamatórias estariam implicadas na estimulação de aminoácidos que competem com o triptofano pela recaptação dentro do SNC (KULMATYCKI; JAMALI, 2006).

Outro mecanismo proposto é o de que essas citocinas reduziram a quantidade do triptofano disponível via ativação da enzima indolamina-2,3-dioxigenase (IDO). Tal enzima converte o triptofano em quinurenina e ácido quinolínico, este último uma substância neurotóxica implicada em transtornos neurodegenerativos e cuja via resulta na

produção de metabólitos neurotóxicos presentes em indivíduos deprimidos. O ácido quinolínico é também um agonista de receptores NMDA que prejudica o feedback negativo de glicocorticoides e causa atrofia hipocampal e perda de receptores glicocorticoides (KULMATYCKI; JAMALI, 2006).

Em indivíduos deprimidos, haveria aumento nas concentrações de citocinas pró-inflamatórias, o que levaria à ativação da enzima IDO, com consequente redução na disponibilidade de 5-HT e aumento na liberação de glutamato no estriado e no córtex. Essa hipótese, portanto, une as teorias monoaminérgica e citocinérgica da depressão (VISMARI et al., 2008).

2.2.3 ESTRESSE OXIDATIVO

Alterações na biologia oxidativa estão sendo reconhecidas como rota do dano que envolve a fisiopatologia das doenças psiquiátricas (MELO, 2012). Estresse oxidativo refere-se ao dano biologicamente decorrido da produção de radicais livres. A produção de radicais livres, ou espécies reativas do oxigênio (EROS), é um processo normal no metabolismo aeróbico e EROS desempenha vários papéis fisiológicos na sinalização celular e na defesa do organismo, contra patógenos. No entanto, quando presente em excesso, as EROS causam danos a lipídios, proteínas e DNA, podendo finalmente resultar em morte celular (BLACK et al., 2015).

Os radicais livres são extremamente reativos devido a elétrons desemparelhados (MICHEL; PÜLSCHEN; THOME, 2012). Por sua elevada reatividade, os radicais livres, formados a partir da transferência de elétrons, podem reagir e formar uma série de espécies reativas, como EROS e, quando não neutralizadas, pode levar ao estresse oxidativo, exacerbar a inflamação e promover o dano tecidual. Dentre esses radicais estão as EROS, como superóxido; radical hidroxila; radical peróxido; e o peróxido de hidrogênio; bem como as espécies reativas do nitrogênio, como óxido nítrico e o peróxido nítrico e espécies reativas do cloro como ácido hipocloroso (MELO, 2012; PALTA et al., 2015).

As EROS provocam a destruição da integridade neuronal, induzida por dano direto ao DNA ou por peroxidação lipídica da membrana celular. Este último é iniciado por radicais livres que decompõem os duplos ácidos químicos dos ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs). Este processo geralmente leva a uma reação em cadeia. Como o processo pode ser iniciado por apenas um EROS, os lipídios de membrana são

extremamente vulneráveis. Os “double-binds” são responsáveis pelas propriedades específicas da membrana celular, como integridade e fluidez. Essas características podem ser interrompidas por EROS levando à destruição da célula. Os radicais peróxido induzem ainda a destruição de proteínas de membrana, tais como receptores e enzimas (MICHEL; PÜLSCHEN; THOME, 2012).

O SNC é especialmente susceptível ao estresse oxidativo, devido ao grande conteúdo lipídico altamente peroxidável e à alta taxa de metabolismo oxidativo cerebral. Neste contexto, o estresse oxidativo tem sido implicado em muitos mecanismos de neurotoxicidade, desempenhando papel importante na fisiopatologia de diversas doenças neuropsiquiátricas, incluindo a depressão (BLACK et al., 2015)

2.3 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E TRATAMENTO FARMACOLÓGICO

A depressão possui como sintomas principais, o humor deprimido; melancolia profunda na maior parte do tempo; sensação de vazio, aperto no peito; muitas vezes perda de interesse ou de prazer em atividades que antes gostava; alteração de sono (insônia ou excesso de sono); alterações do paladar e apetite (aumento ou perda de peso, mesmo sem dieta); sensação de inutilidade e de culpa; dificuldade de concentração e indecisão; sensação de desesperança, de desamparo, de falta de energia, pensamentos de morte (COUTINHO et al., 2015).

Atualmente há duas classificações que fornecem uma descrição da depressão: o Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, Quarta Edição (DSM-IV) e a Classificação Internacional de Doenças, 10ª Edição (CID-10). De acordo com o DSM-IV, uma das principais formas de depressão é o TDM (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014; SHADRINA et al., 2018). O TDM é uma condição médica comum, crônica e recorrente que frequentemente ocasiona incapacidade funcional e comprometimento da saúde física e mental (CHIRITA et al., 2015).

Para um diagnóstico apropriado de TDM, cinco ou mais dos seguintes sintomas devem ser exibidos segundo DSM-IV: Humor depressivo presente continuamente por no mínimo 2 semanas em um período prevalente por todos os dias ou em uma maior parte do dia; Pronunciada atividade psicomotora emocional elevada em crianças e adolescentes; Diminuição da capacidade de sentir prazer e se alegrar; Perda ou ganho de peso contra uma alteração acentuada do apetite; Distúrbios do sono: insônia à noite e sonolência diurna; Agitação psicomotora ou motor retardo; Sensação de fraqueza, perda

de energia, fadiga acentuada mesmo após esforço mínimo; Menor autoestima e sentimento de inutilidade, perda de autoconfiança, autoacusação não fundamentada na medida do delírio; diminuição da capacidade de pensar ou se concentrar, lentidão mental, falta de resolução; pensamentos ou ações que levem a suicídio ou ideação de suicídio (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014; ZOU et al., 2018).

Em termos da manifestação de sintomas depressivos, a classificação contemporânea da CID-10 identifica um número de variantes lógicas de depressão, que são classificadas de acordo com a sua gravidade, presença de sintomas psiquiátricos e recorrência de doenças depressivas (DDs). Episódios de depressão moderada (quatro ou mais sintomas exibidos) e depressão grave sem sintomas psicóticos (geralmente com vários sintomas, com baixa autoestima e pensamentos suicidas e tentativas; e DD recorrente (repetido) de moderado ou grau severo (SHADRINA et al., 2018).

Vale ressaltar que as principais classificações de DDs tem algumas diferenças e que isso deve ser considerado quando analisados os dados experimentais em estudos de depressão em humanos. Os tratamentos mais amplamente reconhecidos para DDs são a terapia farmacológica (antidepressiva) e a psicoterapia (LEICHSENRING et al., 2016). Além dos custos diretos e indiretos dos tratamentos de DDs, os benefícios clínicos desses dois tratamentos foram criticados (JAKOBSEN et al., 2017). Enquanto a psicoterapia requer informações demoradas dos profissionais de saúde e dos pacientes, o uso da terapia farmacológica pode produzir efeitos colaterais (ZOU et al., 2018).

Na depressão ocorre uma diminuição de neurotransmissores como 5-HT, DA e NA que são substâncias relacionadas pela regulação do humor e de respostas emocionais. Os antidepressivos atuam nesses neurotransmissores objetivando uma melhora na sintomatologia (FEITOSA; BOHRY; MACHADO, 2011). Conforme Aguiar et al (2011), os antidepressivos mais utilizados estão: os inibidores de Monoamino-oxidase (IMAO), inibidores da recaptação de 5-HT e NA da fenda sináptica (IRSN), inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRSs), inibidores seletivos da recaptação da norepinefrina (ISRN), antagonista do receptor de monoamina (ARM), antidepressivos tricíclicos clássicos (ADTs) conforme observado na Tabela 1.

Tabela 1: Tipos de antidepressivos e suas características.

Classe	Mecanismo de ação	Exemplos
iMAOs	1- Inibidores irreversíveis não competitivos e não seletivos	1-Fenelzina e tranilcipromina 2- moclobemida
	2- Inibidores reversíveis para MAO-A	
IRSN	Inibidores da recaptação de 5-HT e NA da fenda	Duloxetina, milnaciprana, desipramina e venlafaxina
	Sináptica	
ISRSs	Inibidores seletivos da recaptação de 5-HT	Fluoxetina, sertralina e escitalopram
	Inibidores seletiva da recaptação da norepinefrina	Reboxetina e atomoxetina
ARM	1- Inibição da recaptação de dopamina;	1- Bupropiona
	2- Antagonismo de receptores α 2-adrenérgicos;	2- Mirtazapina
	3- Ativação da recaptação de monoaminas	3- Tianeptina
ADTs	Inibidor da captação de 5-TH e norepinefrina	Nortriptilina, desipramina e amitriptilina

Fonte: Adaptado de RANG et al., 2016.

2.4 ALTERNATIVAS TERAPÊUTICAS

2.4.1 Psicoterapias

Além dos problemas de saúde física, a depressão frequentemente manifesta-se com comprometimento cognitivo. Especificamente, indivíduos deprimidos têm déficits

na memória de trabalho, fluência verbal, processamento, velocidade, atenção e função executiva. Comprometimento nas funções cognitivas em adultos deprimidos prediz baixo resultado funcional bem como uma ausência de resposta ao tratamento (BORTOLATO et al., 2016). Além disso, esses déficits estão relacionados com a redução da qualidade de vida. Enquanto tratamentos como psicoterapia e antidepressivos têm eficácia comprovada melhorando o humor, os déficits cognitivos geralmente permanecem após a remissão (BAUNE et al., 2010). As intervenções psicoterápicas podem ser de diferentes formatos, tais como psicoterapia de apoio, psicodinâmica breve, terapia interpessoal, comportamental, cognitiva comportamental, de grupo, de casais e de família. Fatores que influenciam no sucesso psicoterápico incluem: motivação, depressão leve ou moderada e ambiente estável (LISTUNOVA et al., 2018).

2.4.2 Exercício físico

Outra intervenção que pode ser adotada, é a prática de exercício físico. As atividades físicas, bem como o exercício a longo prazo, podem preservar a cognição e prevenir ou até retardar a demência (SOFI et al., 2011). A atividade física regular deve ser considerada como uma alternativa não farmacológica de tratamento do transtorno depressivo, por representar baixo custo econômico, ser acessível e prevenir o declínio funcional (CARDOSO, 2011). De acordo com Yael et al. (2018) o exercício físico apresenta contribuições importantes, sobretudo quando associado ao tratamento psicofarmacológico da depressão, auxiliando na recuperação da autoestima e da autoconfiança.

Segundo Vital et al. (2010), a prática de exercícios como complemento para a terapia da depressão tem como base a hipótese neurofisiológica. Essa hipótese, por sua vez, aborda mecanismos como a hormese, produção de espécies reativas ao oxigênio, diminuindo ações antioxidantes e que podem aumentar a imunidade biológica, aumento da produção do fator neurotrófico derivado do cérebro e do fator de crescimento ligado à insulina, que promovem neurogênese e angiogênese, mediando melhoras comportamentais, além de aumentar a produção e a alteração nos receptores de neurotransmissores como serotonina, dopamina, acetilcolina e norepinefrina, resultando em aumento da perfusão cerebral. Possibilitando o surgimento de quatro proposta que possuem o intuito de explicar a ação antidepressiva, são elas, aumento da temperatura

corporal, pico de atividade da adrenal, ampliação da neurotransmissão de catecolaminas e o efeito pós atividade.

2.4.3 Fitoterapia

Em decorrência do aparecimento de efeitos colaterais inesperados que envolve ansiedade, diaforese, taquicardia, tremor, sedação, insônia, síndrome serotoninérgica, parkinsonismo, hipotensão postural e visão turva, os pacientes têm procurado alternativas terapêuticas para melhorar os sintomas da depressão. Infusões ou extratos padronizados de plantas têm sido usados para o tratamento alternativo da depressão (LEE; BAE, 2017; SARRIS; KAVANAGH, 2009). Segundo a OMS, 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependem das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (ALVES et al., 2014). As plantas medicinais são frequentemente apresentadas como um grande potencial para a origem de novos fármacos (ALMEIDA et al., 2013).

A terapêutica da depressão tem indicações proeminentes para uso de plantas medicinais e a maioria das pessoas com depressão tende a usar medicamentos complementares (TAIT et al., 2012). Os efeitos psicofarmacológicos das ervas com atividade antidepressivas envolvem a regulação de Recaptação de 5- HT, e/ou dopamina e/ou noradrenalina, e/ou inibição da MAO, e/ou modulação neuroendócrina (LEE; BAE, 2017).

Os fitoquímicos derivados de ervas são conhecidos por diminuir o risco de alguns distúrbios graves, incluindo doenças autoimunes e doenças cardiovasculares, bem como doenças neurodegenerativas. De fato, os polifenóis populares, como a curcumina, o ácido ferúlico, proantocianidina, quercetina e resveratrol mostraram potentes propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes. Estes fitoquímicos repetidamente demonstraram efeito neuroprotetor, sugerindo fortemente que eles podem melhorar os sintomas da depressão (FRIEDMAN, 2014).

2.4.3.1 TERPENOS

Dentre os metabólicos secundários vegetais, os terpenoides, substâncias cuja a origem biossintética derivam de unidades do isopreno que se unem através de ligações cabeça-cauda por duas vias biossintéticas. A estrutura básica dos terpenos

consiste em um esqueleto carbônico representado por (C₅H₈) e são classificados como hemiterpenos (C₅), monoterpenos (C₁₀), sesquiterpenos (C₁₅), diterpenos (C₂₀), sesterterpenos (C₂₅), triterpenos (C₃₀) e tetraterpenos (C₄₀) (DEWICK, 2009). Os terpenos, também são chamados de terpenoides ou isoprenoides, constituem a maior classe de produtos naturais com mais de 55.000 compostos conhecidos (CHANG et al., 2010)

Na medicina popular, assim como na terapêutica, plantas contendo derivados terpênicos têm sido usados como sedativos, tranquilizantes e anticonvulsivantes. Muitos óleos voláteis possuem uma grande variedade de atividades farmacológicas, tais como ansiolítica, anticonvulsivante e antinociceptiva (PASSOS et al., 2009). Inúmeros derivados monoterpênicos têm demonstrado atividades sobre o SNC incluindo sedativa, antinociceptiva e antidepressiva (LEE; BAE, 2017).

Segundo Paduch et al. (2007) muitos compostos desta classe de metabólito secundário são amplamente empregados no setor industrial como aromatizantes, fragrâncias, especiarias e também são utilizadas em produtos de perfumaria e cosméticos, bem como aditivos alimentares. Na indústria farmacêutica, além de serem utilizados como excipientes para melhorar penetração na pele, eles também são apontados como princípios ativos de medicamentos. O crescente interesse na aplicação clínica destes compostos é atribuída à gama de propriedades biológicas de terpenos, tais como efeito antitumoral, antimicrobiano, antifúngico, antiviral, antihiperglicêmico analgésico, anti-inflamatório e atividades antiparasitárias.

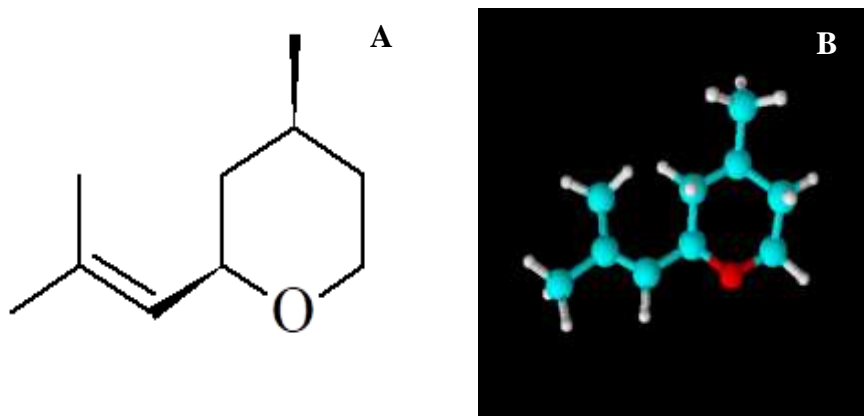
Um estudo realizado por Klein Júnior et al. (2016) evidencia que os óleos essenciais derivados de várias plantas têm efeitos neuroprotetores contra doenças neurodegenerativas realizada em condições *in vivo* e *in vitro*. No entanto, El-Seedi et al. (2012) e Mühlbauer et al. (2003) apresentam os terpenos como principal componente dos óleos essenciais de plantas, podendo ser benéfico para a saúde neuronal humana. Porém, há poucos estudos relacionados aos efeitos benéficos do terpeno na saúde neuronal. Embora, existem vários terpenos produzidos por uma variedade de plantas que estejam associadas à saúde neuronal (HONG et al., 2011; HUR et al., 2013; LIU et al., 2015).

2.4.4 ÓXIDO DE ROSA

O óxido de rosa, (4-metil-2- (2-metilprop-1-enil) oxano) conforme representa na figura 4, é um monoterpeno e é uma fragrância encontrada em rosas e em óleo de rosa

como a rosa búlgara, gerânio, damasco rosa, *Laggera spp.*, *Eucalyptus citriodora* e *Dracocephalum heterophyllum* (BABU et al., 2002; KUIATE; BESSIÈRE; ZOLLO, 2002). O óxido de rosa também contribui para o sabor de algumas frutas como a lichia e pode ser produzido industrialmente com base na foto-oxigenação do citronelol (ALSTERS et al., 2010). Devido à sua aplicação comercial, muitos estudos relatam o uso do óxido de rosa na produção de aromas. No entanto, Nonato et al. (2012) em seu estudo evidencia que o óxido de rosa possui atividade anti-inflamatória relacionada à sua capacidade de inibir a produção de IL-1 β .

Figura 5: Estrutura molecular do óxido de rosa em 2D (A) e 3D (B).



Legenda: (A-2B) Estrutura molecular bidimensional do óxido de rosa; (B-3D) estrutura molecular tridimensional do óxido de rosa.

Na literatura há poucos estudos realizados com o óxido de rosa. Em virtude disso, observou-se a necessidade de desenvolver este trabalho para elucidar sua ação farmacológica antidepressiva e possíveis mecanismos envolvidos em sua ação.

2.5 MODELAGEM *IN SILICO* DE PROPRIEDADES ADMET

Uso de técnicas computacionais no desenvolvimento e descoberta de fármacos vem ganhando popularidade, implementação e apreciação. Diferentes termos estão sendo aplicados a essa área, incluindo a concepção de fármaco assistida por computador (CADD), desenho de fármacos computacionais, design molecular assistido por computador (CAMD), modelagem molecular assistida por computador (CMM). O

papel das técnicas computacionais inclui: (i) uso do poder de computação para agilizar o processo de descoberta e desenvolvimento de medicamentos; (ii) alavancagem de informações químicas e biológicas das substâncias e (iii) desenho de filtros *in silico* para eliminar compostos com propriedades indesejáveis (SANTOS; VALE; COSTA 2017).

A descoberta e desenvolvimento de drogas são processos demorados e caros, e os custos de desenvolvimento para um potencial composto aumenta significativamente à medida que progride através do desenvolvimento clínico. A química combinatória e triagem de alto rendimento vem se tornando cada vez mais popular. A química combinatória permite que a mesma reação química seja usada para sintetizar grandes bibliotecas de compostos, que são então submetidos a alta taxa de transferência e triagem de alto desempenho. Esta abordagem aumentou a possibilidade de identificar novos compostos (ALQAHTANI, 2017). As fracas propriedades farmacocinéticas, bem como as questões de toxicidade, são consideradas as principais razões para terminar o processo de desenvolvimento para candidatos a drogas. Assim, existe uma necessidade crescente de métodos de rastreamento robustos para fornecer informação precoce sobre as propriedades de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADME-Tox) dos compostos (JONES et al., 2015).

Por mais de uma década, a previsão *in silico* das propriedades dos compostos ADME-Tox representou a pedra angular do desenvolvimento e descoberta de drogas. As avaliações do ADME-Tox foram deslocadas para os estágios iniciais de desenvolvimento do medicamento, porque várias dessas propriedades podem ser consideradas na construção de bibliotecas combinatórias (ALQAHTANI, 2017).

Os modelos ADME-Tox *in silico*, quando comparados com os ensaios experimentais tradicionais, possuem uma aplicabilidade maior para atender a enorme demanda gerada pela triagem em larga escala de novas moléculas. Além disto os ensaios *in vitro* e *in vivo* apresentam desvantagens que limitam o seu uso em larga escala: são complexos e dispendiosos em termos de materiais e infraestrutura e necessita de pessoa qualificada (OPREA, 2002; HOU, XU, 2002).

O objetivo final da modelagem *in silico* das propriedades ADME-Tox é prever o comportamento da disposição *in vivo* de moléculas de drogas potenciais no corpo humano, reunindo todos os processos cinéticos em um modelo inclusivo. A modelagem farmacocinética com base na fisiologia (PBPK) integra todos os processos cinéticos, além dos dados relacionados ao medicamento, para prever e simular o perfil farmacocinético

de um medicamento no plasma e nos tecidos. Os modelos PBPK podem fornecer uma estrutura mecanicista quantitativa para a previsão de exposições sistêmicas e teciduais e, quando combinados com modelos farmacodinâmicos, podem ser usados para estimar o tempo de resposta do fármaco para diversos regimes de dosagem em diferentes espécies, populações ou estados de doença (JONES et al., 2015).

2.6 MODELOS EXPERIMENTAIS DE DEPRESSÃO

Os modelos animais são recursos indispensáveis na identificação de novos fármacos antidepressivos mais efetivos, bem como no melhor entendimento da fisiopatologia deste transtorno. Para isto, modelos animais de depressão têm sido desenvolvidos para que os resultados obtidos sejam extrapoláveis para os humanos. Infelizmente esses modelos apresentam certas restrições uma vez que são incapazes de mimetizar características mais psicológicas, como sentimento de culpa, ideação suicida e humor depressivo (SIBA, 2013).

Em razão disto, há alguns critérios, desenvolvidos por McKinney e Bunney (1969), que devem ser lembrados quando se trata de modelos animais de depressão, possibilitando então a criação de um paralelo entre o comportamento animal (embora carente de todos os sintomas da doença) e a patologia em si. Por isso foram estabelecidos critérios para validar os modelos animais de desordens psiquiátricas, que se dividem em: validade de face ou semelhança, que trata da similaridade entre o comportamento exibido pelo animal e sintomas específicos da desordem em humanos; validade do constructo, referente à semelhança entre a interpretação teórica do modelo e os conhecimentos sobre a neurobiologia do distúrbio; a validade preditiva baseia-se no isoformismo farmacológico, quando um fármaco é efetivo na clínica e também no modelo animal (MARKOU et al., 2009).

Modelos com validade preditiva como o teste do nado forçado (TNF) e o teste de suspensão da cauda (TSC) são amplamente utilizados para desenvolvimento de novos fármacos, bem como para o melhor entendimento dos mecanismos neurais envolvidos na depressão (NESTLER et al., 2002; MCARTHUR; BORSINI, 2006)

2.6.1 TESTE DO NADO FORÇADO (TNF)

O Teste do Nado Forçado foi desenvolvido por Porsolt e colaboradores (1978), na American National Standard, com ratos e, posteriormente, com camundongos. O TNF tem sido, juntamente com o Teste de Suspensão da Cauda e o Teste do Desamparo Aprendido, a ferramenta mais utilizada para avaliar atividade antidepressiva de fármacos (DUMAN; MONTEGGIA, 2006).

Este modelo é de uso difundido nos laboratórios por ser de fácil utilização e apresentar confiabilidade no resultado e se baseia na observação de que roedores colocados num cilindro com água, após tentativas iniciais de fuga, rapidamente mostram imobilidade, interpretada como prejuízo do comportamento esperado de tentar fugir ou como desenvolvimento de comportamento passivo capaz de afastar o animal de formas ativas de enfrentamento da situação estressora. Se um fármaco antidepressivo for administrado entre as duas exposições, o animal apresentará comportamento mais ativo, persistindo na tentativa de escapar por tempo mais prolongado, quando comparado a animal que recebeu solução inócua (PORSOLT et al., 1978; CRYAN et al., 2002).

Dentre os testes comportamentais que avaliam o efeito antidepressivo, o teste do nado forçado é um dos mais amplamente utilizados, devido a sua elevada validade preditiva, além de baixo custo e fácil execução (SLATTERY; CRYAN, 2012).

2.6.2 TESTE DE SUSPENSÃO PELA CAUDA (TSC)

O TSC em camundongos foi descrito por Steru e colaboradores (1985). Este modelo foi desenvolvido para avaliar se a redução da imobilidade deveria ser interpretada como um comportamento relacionado com efeito antidepressivo da substância testada, ou a um efeito estimulante da atividade locomotora tal como ocorre com uso de psicoestimulantes (HUNT et al., 2006).

Nesse teste, os animais são suspensos pela cauda impedidos de tocar o chão ou fugir, e defrontam-se com o conflito entre o estresse físico gerado pela tentativa de fuga sem sucesso e a motivação para continuar tentando. Provavelmente, no momento em que esse estresse físico ultrapassa a motivação para a fuga, eles adquirem uma postura imóvel característica (corpo e cabeça alongados, patas dianteiras unidas e traseiras

separadas) cuja duração e frequência aumentam ao longo do tempo. Esse modelo tem validade preditiva, uma vez que drogas com atividade antidepressiva utilizadas na terapia da depressão em humanos diminuem o tempo de imobilidade (efeito anti-imobilidade) de camundongos nesse teste (CRYAN, MOMBÉREAU; VASSOUT, 2005).

2.7 MODELO EXPERIMENTAL DE ATIVIDADE MOTORA

2.7.1 TESTE DO CAMPO ABERTO

Este modelo foi proposto por Hall (1936) para a avaliação da atividade locomotora dos animais. O aparato consiste em uma caixa de madeira medindo 40x60x50 cm, com o chão dividido em 12 quadrantes iguais. O número de quadrantes cruzados em um período de 6 minutos é o parâmetro utilizado para avaliar a atividade locomotora (RODRIGUES et al., 2013). Como fármacos que apresentam um efeito psicoestimulante podem produzir um resultado “falso positivo” no TNF, o teste do campo aberto é imprescindível para se determinar a especificidade do efeito antidepressivo.

2.7.2 TESTE DE ROTAROD

O ROTAROD é um teste comportamental descrito pela primeira vez por Dunham; Miya em 1957, muito utilizado para avaliar o desempenho psicomotor, o efeito miorelaxante, a incoordenação motora e a capacidade de equilíbrio provocado por fármacos administrados em modelos animais (KUDAGI et al., 2012).

A coordenação motora dos animais será avaliada utilizando o teste de ROTAROD. O aparelho consiste de uma barra rotacional, que roda em uma velocidade constante de 12 rpm. A barra é dividida em cinco compartimentos. O animal será posicionado na barra e assim que começar a andar será marcado o tempo. O tempo em que o animal permanecer caminhando na barra será registrado (RODRIGUES, 2013).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 PROCEDIMENTOS/ASPECTOS ÉTICOS

A pesquisa foi elaborada seguindo os princípios éticos da experimentação animal, estando de acordo com critérios propostos pela Lei nº 11.794 - 2008: experimentação animal. Os protocolos experimentais foram submetidos ao Comitê de Ética em Experimentação com Animais da Universidade Federal do Piauí sendo aprovado sob protocolo N°449/18.

3.2 TESTE *IN SILICO*

3.2.1 As Análises de ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade)

Para a realização do estudo de *docking* do óxido de rosa foram utilizadas as ferramentas swisstarget prediction e swissdock. As estruturas alvo foram avaliadas através das bases de dados do repositório da RCSB PDB, sendo posteriormente trabalhada no *software* Chimera 1.12. As estruturas de *docking* foram visualizadas no aplicativo PyMol.

Para avaliação dos resultados de metabolismo foram utilizados os seguintes critérios: se as substâncias sofrem metabolismo de fase 1, se inibem alguma CYP e quais CYP foram inibidas. Substâncias que inibem 2 ou mais CYP, em especial CYP3A4 e CYP2C9, podem interferir no metabolismo de um grande número de fármacos e outras substâncias, podendo contribuir para elevação da sua toxicidade. Para substâncias que inibem apenas uma CYP, pode ocorrer redução do número de fármacos que possuem interação farmacocinética com esta. Substâncias não inibidoras e não indutoras de CYP são consideradas substâncias ideais, pois não interferem no metabolismo de outros fármacos.

Para a predição da mutagenicidade utilizou-se o Teste Ames, sendo usadas várias estirpes da bactéria *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100 e TA1535). A variável testada é a capacidade de o agente mutagênico provocar a reversão para o crescimento em meio isento de histidina (AMES; MCCANN; YAMASAKI, 1995). Para interpretação dos resultados do teste de Ames considerou-se positivo quando houve reversão da

mutação em uma ou mais bactérias, negativo quando não foi observada reversão da mutação nas mesmas. Quando houve falso positivo, isto é, não houve reversão da mutação em nenhum clone da bactéria e mesmo assim o programa classificou como mutagênico, o resultado não foi considerado.

A predição do potencial carcinogênico dos compostos em roedores (Rodent Carcinogenicity) foi realizada a partir dos dados de National Toxicology Program (NTP) e FDA (Food and Drug Administration). Os resultados foram expressos em: + carcinogênico e – não carcinogênico.

Quanto à avaliação dos critérios de toxicidade em organismos marinhos, foram considerados os seguintes parâmetros: toxicidade em algas - tóxicos < 1 mg/L e não tóxicos > 1 mg/L (COSTA et., 2008); toxicidade em *Daphnia* sp - tóxico < 0,22 µg/mL e não tóxico > 0,22 µg/mL (GUILHERMINO et al., 2000); toxicidade em peixes Medaka - muito tóxico < 1 mg/L, tóxico entre 1-10 mg/L, prejudiciais entre 10-100 mg/L e não tóxico > 100 mg/L (ZUCKER, 1985).

3.2.2 Análises de Docking

O estudo da albumina, óxido de rosa, receptores de serotina, glutamato e GABA foi realizado por *docking* molecular, o composto foi acoplado usando *SwissDock* (<http://swissdock.ch>), uma ferramenta web para rastreamento virtual baseado em ligantes rápidos de pequenas a bibliotecas ultra-grandes sem precedentes de pequenas moléculas. Após a conclusão do acoplamento, foram escolhidas as conformações do ligante que apresentam maior afinidade de ligação e menores energias ancoradas. As ligações de hidrogênio, comprimentos de ligação e interações hidrofóbicas entre enzimas e todos os ligantes foram determinadas usando o programa PyMol. Os programas Chimera e PyMol também são usados para inspeção visual e representações gráficas dos resultados do *docking*. Para a geração de gráficos bidimensionais da proteína-ligante no sítio ativo das enzimas utilizou-se o software *Discovery Studio® Visualizer*.

3.3 ANIMAIS

Foram utilizados camundongos albinos (*Mus musculus*), variedade *Swiss* adultos machos, pesando entre 25 e 30 g, foram acondicionados em gaiolas de acrílico e mantidos

a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ com a água e comida *ad libitum*, mantidos em um ciclo claro/escuro 12:12 horas (7:00-19:00 h). Os animais foram provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Piauí (UFPI) e mantidos no biotério setorial do LAPNEX da Universidade Federal do Piauí nas mesmas condições. Após os procedimentos experimentais, os animais sofreram eutanásia com sobredose de Pentobarbital sódico, 150 mg/kg, via intraperitoneal (i.p.) associado a 10 mg/Kg de lidocaína.

3.4 ADMINISTRAÇÃO

Para cada teste comportamental os animais foram divididos obedecendo o tipo de tratamento: Controle Negativo (CN) o qual foi administrado o veículo (água destilada) de 0,1 mL/10g de peso, o Grupo Teste (GT) o qual os animais foram divididos em quatro grupos de acordo com a dose recebida de óxido de roa (OR) (12,5; 25; 50 e 100 mg/ Kg) e o grupo Controle Positivo (CP) onde os animais receberam uma droga antidepressiva de referência, fluoxetina (20 mg/Kg). Todos os compostos investigados foram administrados por via oral (gavagem) em dose única, 60 min antes de cada teste comportamental.

3.5 TESTES COMPORTAMENTAIS

3.5.1. Teste do Nado Forçado (TNF)

No TNF foram utilizados 36 camundongos distribuídos nos seguintes grupos: Foram utilizados para este experimento três grupos: grupo controle negativo (CN), grupo teste (GT) sendo este grupo dividido em quatro subgrupos de acordo com a dose de óxido de rosa, Grupo 1 - 12,5 mg/Kg, Grupo 2 - 25 mg/Kg, Grupo 3 - 50 mg/Kg, Grupo 4- 100 mg/Kg; e grupo controle positivo (CP), sendo 6 animais por grupo. O grupo CN composto por 6 animais recebeu aplicação do veículo na dose de 0,1 mL/10g de peso. O grupo CP composto por 6 animais recebeu 20mg/Kg de fluoxetina.

O TNF foi realizado segundo o protocolo estabelecido por Porsolt et al. (1977). Cada camundongo foi colocado em um cilindro plástico de 10 cm de diâmetro e 24 cm de altura contendo 19 cm de altura de água, à temperatura de $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$. O tempo de imobilidade do animal foi definido com a ausência de movimentos ativos, ou seja,

movimentos necessários apenas para manter sua cabeça acima da água e quando o animal estiver flutuando, o tempo foi cronometrado durante 5 minutos.

3.5.2 Teste de Suspensão da Cauda (TSC)

Para o experimento de TSC foram utilizados 30 camundongos organizados da seguinte forma: grupo CN, GT sendo este grupo dividido em três subgrupos de acordo com a dose de óxido de rosa, Grupo 1 – 25 mg/Kg, Grupo 2 – 50 mg/Kg, Grupo 3 – 100 mg/Kg; e grupo CP, sendo 6 animais por grupo. O grupo CN composto por 6 animais recebeu aplicação do veículo na dose de 0,1 mL/10g de peso. O grupo CP composto por 6 animais recebeu 20 mg/Kg de fluoxetina. O Teste de Suspensão pela Cauda foi realizado obedecendo o método descrito por Steru et al. (1985). Os camundongos foram suspensos 50 cm acima do chão por uma fita adesiva e o tempo de imobilidade registrado durante 5 minutos. Considera-se uma invasão quando o animal coloca as quatro patas dentro do quadrante. Os animais foram isolados acusticamente e visualmente. Os camundongos foram considerados imóveis apenas quando pendurados passivamente e completamente imóveis.

3.5.3. Teste do Campo Aberto (TCA)

No TCA foram utilizados 42 camundongos organizados da seguinte forma: grupo CN, GT sendo este grupo dividido em 5 subgrupos de acordo com a dose de óxido de rosa, Grupo 1 - 6,25 mg/Kg, Grupo 2 - 12,5 mg/Kg, Grupo 3 – 25 mg/Kg, Grupo 4 – 50 mg/Kg, Grupo 5 – 100 mg/Kg e grupo CP, sendo 6 animais por grupo. O CN composto por 6 animais recebeu aplicação do veículo na dose de 0,1 mL/10g de peso. O grupo CP composto por 6 animais recebeu 20 mg/Kg de fluoxetina. Este modelo realizado obedeceu ao método proposto por Hall (1936) para a avaliação da atividade locomotora dos animais. Cada camundongo foi colocado no centro da gaiola onde procedeu o registro do número de quadrantes cruzados em um período de 5 minutos. O aparato consistiu em uma caixa de madeira medindo 40x60x50 cm, com o chão dividido em 12 quadrantes iguais.

3.5.4 Teste de ROTA ROD.

Para a realização do teste de ROTAROD foram utilizados 24 camundongos. Sendo utilizados dois grupos testes: grupo 1 e grupo 2, sendo 6 animais por grupo o qual serão utilizadas as doses de 25 mg/Kg e 50 mg/kg de óxido de rosa. O grupo CN será composto por 6 animais que receberão veículo na dose de 0,1 mL/10 g de peso. O grupo CP será composto por 6 animais que receberão 20 mg/Kg de fluoxetina.

Na barra giratória foram avaliados a coordenação motora e o possível relaxamento muscular (MARQUES; MELO; FREITAS, 2012). Os animais serão colocados um de cada vez, com as quatro patas apoiadas sobre uma barra giratória durante três minutos. Todos os animais passarão por um pré-teste na barra giratória para se habituarem as condições do equipamento antes de realizarem os experimentos. Os critérios para avaliação desse teste serão o tempo de permanência na barra giratória, em segundos, e o número de quedas.

3.5.5 . Avaliação do mecanismo de ação antidepressiva do óxido de rosa no TNF. Envolvimento do sistema serotoninérgico

Para investigar a participação dos receptores 5-HT1A no efeito antidepressivo do Óxido de rosa, os animais foram pré-tratados com WAY100635 (0,1mg/kg, s.c., antagonista seletivo de receptores 5-HT1A) e após 30 min da administração, os animais receberam óxido de rosa na dose de 50mg/Kg. Decorridos 60 minutos os animais foram submetidos ao TNF. (Kaster et al. 2005).

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados utilizando *One-Way* ANOVA seguido do pós teste de Tukey. Para todos os testes foi considerado um nível de significância de 5%. Os resultados foram expressos como médias e desvio padrão. Os resultados foram considerados significativos quando houve uma diferença estatisticamente ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 Análises de ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade)

Na Tabela 2 pode-se observar os valores previstos de absorção de LogP, LogS, AIH, Caco2 previstos para o OR. Entre as propriedades moleculares que influenciam à absorção se destacam a solubilidade e lipofilia.

Tabela 2: Predição de absorção do Óxido de Rosa pela análise ADMET *in silico*.

Predição de Absorção	Óxido de Rosa
SKlogP_valor	2.84935
SKlogS_puro	-2.34974
Absorção Intestinal em Humano – AIH (%)	100%
CACO2 (nm/seg)	38.1376

Na Tabela 3 pode-se observar grau de permeabilidade de uma substância em células renais, barreira Hematocefálica, pele e seu potencial de ligação com proteínas plasmáticas.

Tabela 3: Predição de distribuição do Óxido de Rosa pela análise ADMET *in silico*.

Predição de Distribuição	Óxido de Rosa
SKlogD_valor	2.84935
Penetração da Barreira Hematoencefálica (BHE) <i>in vivo</i>	2.40358
Ligação às Proteínas Plasmáticas	100.000
Inibição _Pgp	Não
MDCK (mandin darby canine kidney) – Permeabilidade celular <i>in vitro</i>	100%

Na Tabela 4 pode-se observar os valores previstos para metabolização e excreção do Óxido de rosa.

Tabela 4: Predição de metabolização e excreção do Óxido de Rosa pela análise ADMET *in silico*.

Predição de Metabolização e Excreção	Óxido de Rosa
CYP_2C19 inibição	Inibidor
CYP_2C9 inibição	Inibidor
CYP_2D6 inibição	Não
CYP_2D6 substrato	Fracamente
CYP_3A4 inibição	Não
CYP_3A4 substrato	Fracamente

A tabela 5 mostra os parâmetros de toxicidade previsto para o Óxido de rosa.

Tabela 5: Predição de toxicidade do Óxido de Rosa pela análise ADMET *in silico*.

Predição de Toxicidade	Óxido de Rosa
Algas (mg/mL)	0.03486
Teste de AMES	Mutagênico
Carcinogenicidade em camundongos	Positivo
Carcinogenicidade em ratos	Negativo
Inibição da hERG	Médio risco
<i>Medaka</i> (mg/mL)	0.33846
<i>Daphnia</i> (mg/mL)	0.58637
<i>Minnow</i> (mg/mL)	0.13390
TA100-10RLI	Negativo
TA100-NA	Positivo
TA535-10RLI	Negativo

A tabela 6 mostra os parâmetros farmacocinéticos e físico-químicos considerando a regra de Lipinsk.

Tabela 6: Propriedades físico-químicas do óxido de rosa *in silico*.

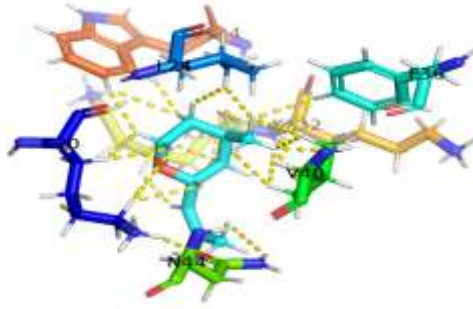

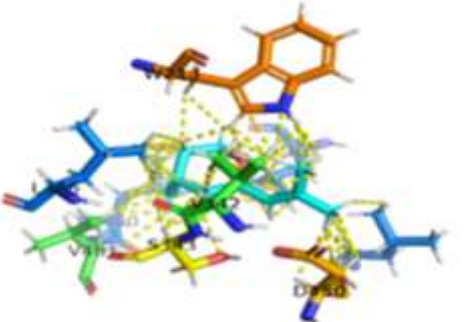
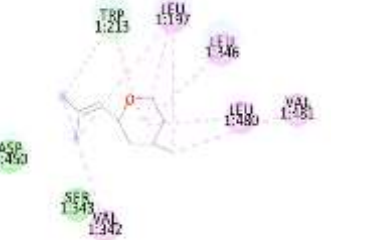
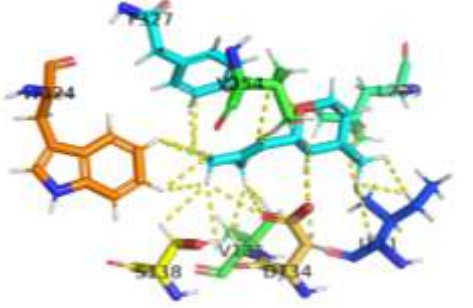
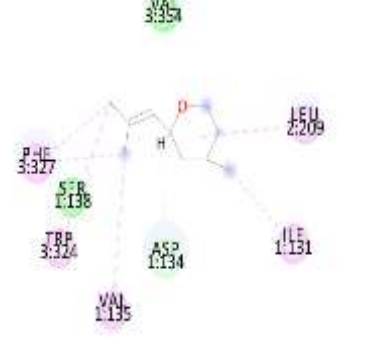
Propriedades Físico-químicas	Óxido de Rosa
Fórmula	C ₁₀ H ₂₀ O ₂
Log P	2.84935
Massa Molecular (MM)	172,6 g.mol ⁻¹
Nº de aceptores de ligação de Hidrogênio	2
Nº de Doadores de Ligação de Hidrogênio	1
Área Superficial Pólar (ASP)	18.45 Å ²

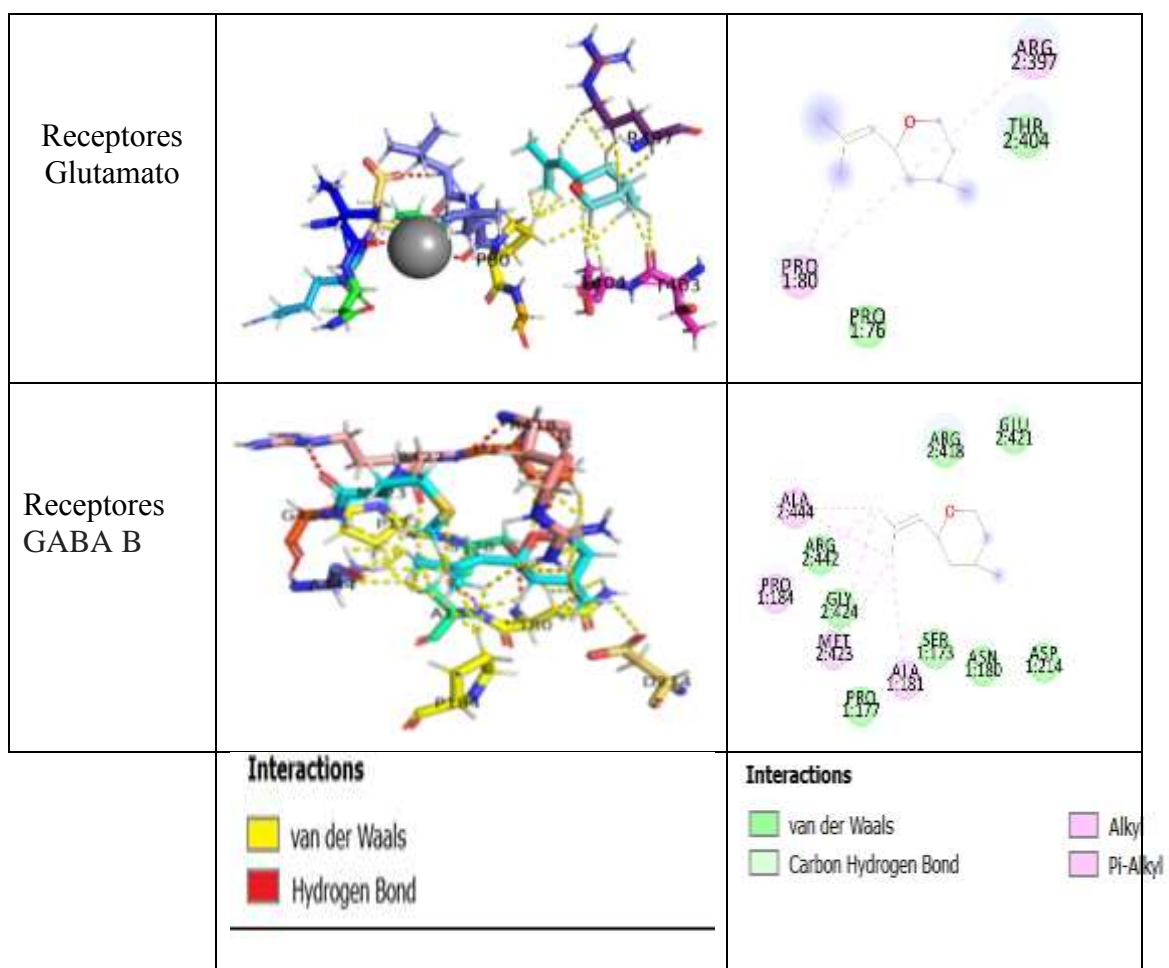
Legenda: log P ≤ 5, Massa Molecular ≤ 500, aceptores de ligação de Hidrogênio ≤ 10 e doadores de ligação de hidrogênio ≤ 5, ASP ≤ 140 Å² (LIPINSKI, 2004).

4.2 Estudo de Dockagem

Conforme os dados obtidos no estudo de alvos de ligação para o compostos foram realizados teste de *docking* em receptores de membrana celular: receptore GABA, de glutamato e 5-HT, e na proteína de transporte albumina. Em todos os teste foram encontrados diversos pontos de dockagem com energia de ligação favorável para cada estrutura analisada. No quadro 1 podemos observar, que aA docagem do óxido de rosa em receptores GABA dar-se através das interações de Van der Waals do composto com os aminoácidos valienamina, homosserina, isoleucina, leucina, tirosina, treonina, asparagina e triptofano com um ΔG de ligação estimado em – 22,80 KJ/mol paras as ligações do composto com os receptores GABA. Com glutamato as interações ocorrem nos aminoácidos argenina, tirosina, prolina, valienamina e homosserina, com ΔG de ligação estimado em – 23,60 KJ/mol para ligação com o glutamato. O composto também apresenta pontos de *docking* em receptores de serotonina com ΔG de ligação estimado em – 23,50 KJ/mol. O *docking* também foi realizado em albumina, onde foi encontrada um ΔG de ligação estimado em – 22,72 KJ/mol.

Quadro 1: Localização e tipo de ligação do òxido de rosa após teste de *docking* em receptores de membrana celular: receptor GABA, de glutamato e serotonina, e na proteína de transporte albumina.

Proteína/ Receptor Enzimático	Sítio de interação do ligante em 3D	Sítio de interação do ligante em 2D
Albumina Try-134		
Albumina Try-212		
Receptores Serotoninérgi cos		



Quadro 02: Códigos “PDBs” das proteínas e receptores utilizados como alvo para o óxido de rosa em modelos *in silico* de docking.

Proteína/ Receptor enzimático	Código PDB	Cadeia	Resíduo ativo do sítio	Organismo
Albumina	4F5S	A	Try-134	bos taurus
			Try-212	bos taurus
Receptores Serotoninérgicos	6BQG	A	Asp-134	human being
Receptores Glutamato	5KZN	A	Mg ²⁺	human being
Receptores GABA B	4F11	A	Gly-424	human being

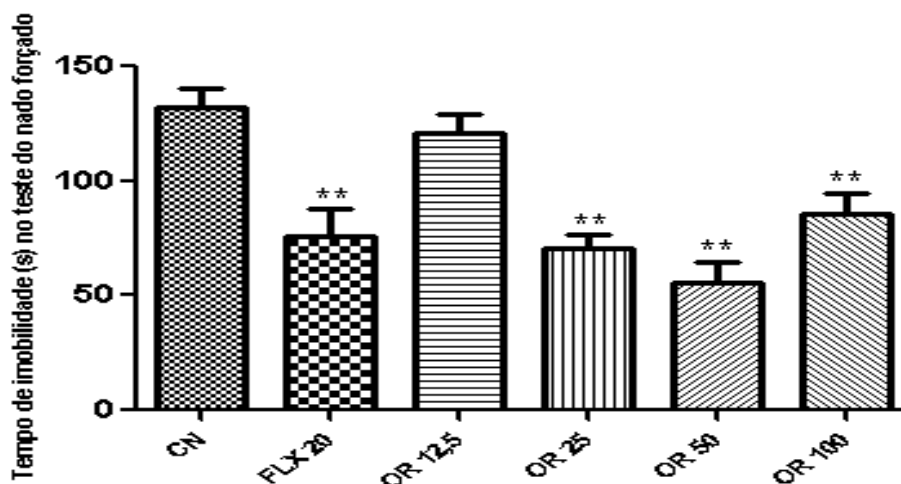
Quadro 03: Sítios ativos de ancoragem do Óxido de Rosa em modelos *in silico* de docking.

Proteína/ Receptor enzimático	Marcador do sítio ativo	Full Fitness (kcal/mol)	ΔG (kcal/mol)
Albumina	Try-134	-4003,54	-6,81
	Try-212	-4002,10	-6,49
Receptores Serotoninérgicos	Asp-134	-2318,14	-6,43
Receptores Glutamato	Mg ²⁺	-2501,66	-6,46
Receptores GABA B	Gly-424	-2300,40	-6,29

4.3 Efeito da administração do óxido de rosa no tempo de imobilidade dos animais no teste de nado forçado.

No TNF o tratamento com óxido de rosa nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg foram capazes de alterar o tempo de imobilidade dos animais quando comparado ao grupo controle negativo. Entretanto, a dose de 12,5 mg/Kg de óxido de rosa (OR) não reduziu o tempo de imobilidade dos animais (Figura 11). O controle positivo utilizado no teste, Fluoxetina 20 mg/kg, reduziu o tempo de imobilidade dos animais.

Figura 6: Efeitos do tratamento do óxido de rosa em diferentes doses, no tempo de imobilidade em teste nado forçado em camundongos.

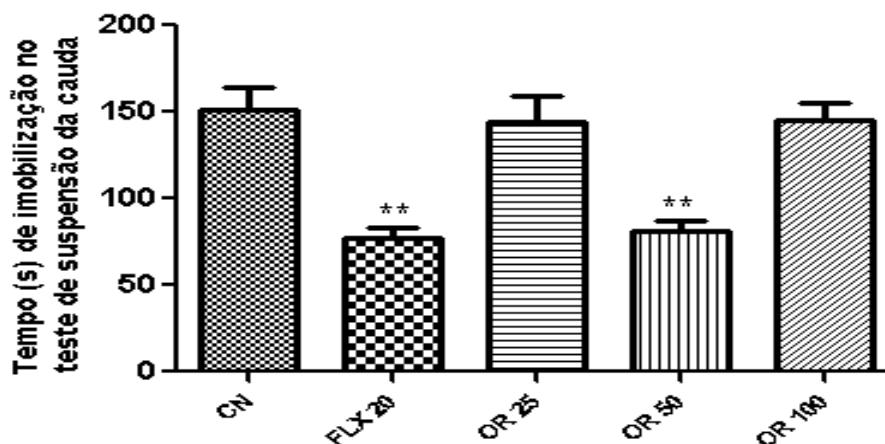


Legenda: **= $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle negativo (CN); CN (Controle Negativo); FLX 20 (Fluoxetina 20 mg/Kg v.o.); OR 12,5 (Óxido de Rosa 12,5 mg/Kg, v.o.); OR 25 (Óxido de Rosa 25 mg/Kg, v.o.); OR 50 (Óxido de Rosa 50 mg/Kg, v.o.); OR 100 (Óxido de Rosa 100 mg/Kg, v.o.).

4.4 Efeito da administração do óxido de rosa no tempo de imobilidade dos animais pelo teste de suspensão da cauda.

O tratamento com OR nas doses de 25 e 100 mg/kg não foram capazes de alterar o tempo de imobilidade dos animais quando comparado ao grupo controle negativo, no teste de suspensão pela cauda. Entretanto, a dose de 50 mg/Kg de OR reduziu o tempo de imobilidade dos animais (Figura 12). O controle positivo utilizado no teste, Fluoxetina 20 mg/kg, reduziu o tempo de imobilidade dos animais.

Figura 7: Efeitos do tratamento do óxido de rosa em diferentes doses, no tempo de imobilização no teste de suspensão da cauda em camundongo.

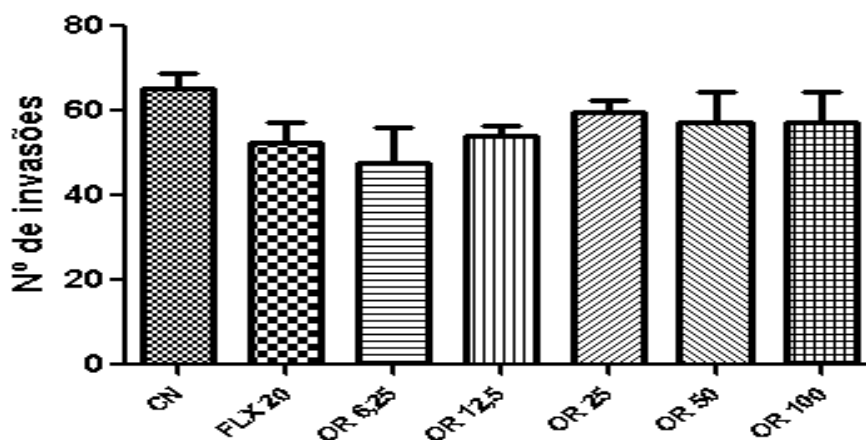


LEGENDA: **= $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle negativo (CN); CN (Controle Negativo); FLX 20 (Fluoxetina 20 mg/Kg v.o.); OR 12,5 (Óxido de Rosa 12,5 mg/Kg, v.o.); OR 25 (Óxido de Rosa 25 mg/Kg, v.o.); OR 50 (Óxido de Rosa 50 mg/Kg, v.o.); OR 100 (Óxido de Rosa 100 mg/Kg, v.o.).

4.5 Efeito da administração do óxido de rosa no número de invasões no teste do campo aberto.

No teste de campo aberto nenhum dos tratamentos produziu alteração na atividade exploratória dos animais que os permitissem diferencia-los do grupo controle (Figura 13).

Figura 8: Efeitos do tratamento do óxido de rosa em doses crescentes, em relação ao número de cruzamentos no teste de campo aberto.

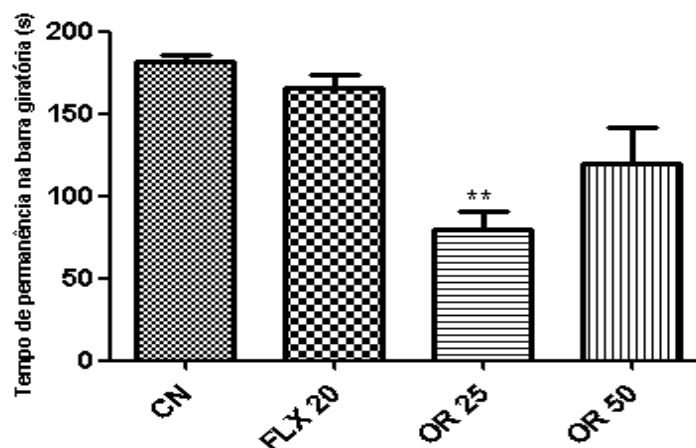


Legenda: CN (Controle Negativo); FLX 20 (Fluoxetina 20 mg/Kg v.o.); OR 6,25 (Óxido de Rosa 6,5 mg/Kg, v.o.); OR 12,5 (Óxido de Rosa 12,5 mg/Kg, v.o.); OR 25 (Óxido de Rosa 25 mg/Kg, v.o.); OR 50 (Óxido de Rosa 50 mg/Kg, v.o.); OR 100 (Óxido de Rosa 100 mg/Kg, v.o.).

4.6 Efeito da administração do óxido de rosa no tempo de permanência na barra giratória no teste Rota rod.

O tratamento com OR no teste de Rota rod na dose de 50 mg/kg não foi capaz de alterar o tempo de permanência dos animais na barra giratória quando comparado ao grupo controle. Entretanto, a dose de 25 mg/Kg de óxido de rosa reduziu o tempo de permanência dos animais na barra giratória (figura 14). O controle positivo utilizado no teste, Fluoxetina 20 mg/kg, não foi capaz de alterar o tempo de permanência dos animais na barra giratória quando comparado ao grupo controle.

Figura 9: Efeitos do tratamento do óxido de rosa em diferentes doses, no tempo de permanência na barra giratória no teste Rota Rod.

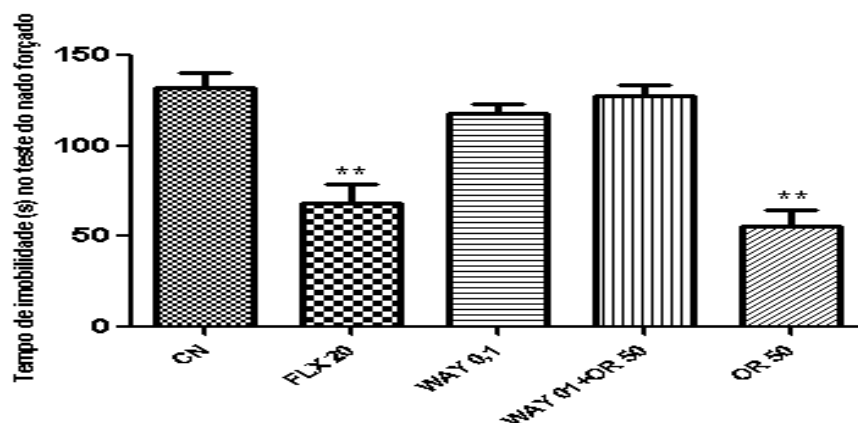


LEGENDA: **= $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle negativo (CN); CN (Controle Negativo); FLX 20 (Fluoxetina 20 mg/Kg v.o.); OR 12,5 (Óxido de Rosa 12,5 mg/Kg, v.o.); OR 25 (Óxido de Rosa 25 mg/Kg, v.o.); OR 50 (Óxido de Rosa 50 mg/Kg, v.o.).

4.7 Efeito da administração do óxido de rosa e Way no tempo de imobilidade dos animais no teste de nado forçado.

No TNF o tratamento com OR (Figura 15) na dose, 50 mg/kg e Fluoxetina 20 mg/kg foram capaz de alterar o tempo de imobilidade dos animais quando comparado ao grupo controle negativo. Entretanto, quando administrado o OR na dose de 50 mg/Kg associado ao Way na dose de 0,1 mg/Kg, não observou alteração no tempo de imobilidade dos animais quando comparado ao controle negativo.

Figura 10: Efeitos do tratamento do óxido de rosa e way, no tempo de imobilidade em teste nado forçado.

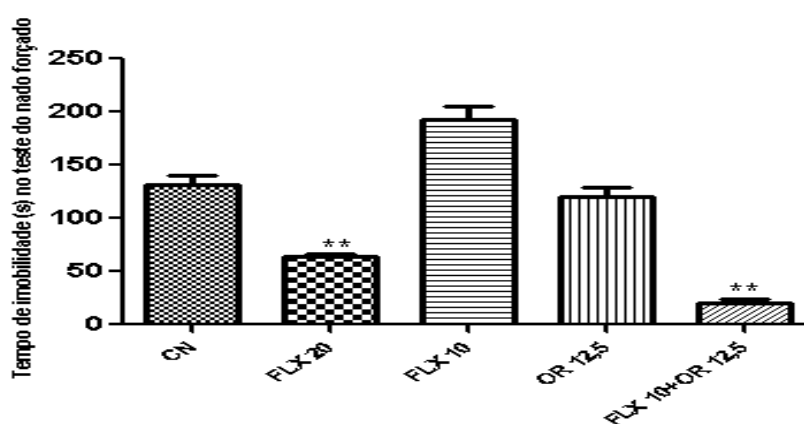


LEGENDA: **= $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle negativo (CN); CN (Controle Negativo); FLX 20 (Fluoxetina 20 mg/Kg v.o.); WAY 0,1 (WAY100635, 0,1mg/kg s.c); WAY 0,1 + OR 50 (WAY100635, 0,1mg/kg s.c, associado com óxido de rosa 50 mg/Kg v.o.); OR 50 (Óxido de Rosa 50 mg/Kg, v.o.).

4.8 Efeito da administração de dose subclínica do óxido de rosa no tempo de imobilidade dos animais no teste de nado forçado.

No TNF o tratamento com OR na dose de 12,5 mg/Kg não reduziu o tempo de imobilidade dos animais, mas quando administrado com a dose subclínica de Fluoxetina 10 mg/Kg, observou-se um sinergismo com diminuição do tempo de imobilidade dos animais quando comparado ao grupo controle negativo (Figura 16).

Figura 11: Efeitos do tratamento do óxido de rosa em dose subclínica, no tempo de imobilidade em teste nado forçado.



Legenda: **= $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle negativo (CN); CN (Controle Negativo); FLX 20 (Fluoxetina 20 mg/Kg v.o.); FLX 10 (Fluoxetina 10 mg/Kg v.o.); OR 12,5 (Óxido de Rosa 12,5 mg/Kg, v.o.); FLX 10 +OR 12,5 (Fluoxetina 10 mg/Kg v.o.+ Óxido de Rosa 12,5 mg/Kg, v.o.).

5. DISCUSSÃO

No presente estudo foi investigado a predição e descritores significativos do composto óxido de rosa em relação a mutagenicidade e nível de dosagem toxicológica para diferentes tecidos (Tabela 5). As propriedades farmacologicamente relevantes foram previstas usando o servidor computacional PreADMET e SwissADME. Investigamos ainda o efeito antidepressivo do óxido de rosa em modelos experimentais de depressão. As análises de ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade) (Tabelas 2, 3, 4 e 5) são importantes na avaliação da farmacocinética de uma molécula candidata a medicamento (SAURAV et al., 2014). Atualmente, ferramentas computacionais on-line e off-line são capazes de auxiliar na previsão e análise de perfis ADMET.

Uma baixa solubilidade do fármaco está relacionada à uma alta lipofilia, entretanto, moléculas muito hidrofílicas (baixa lipofilia) também apresentam problemas de permeabilidade, resultando em uma absorção inadequada. A lipofilia está associada ao coeficiente de partição (Log P) que representa a passagem do meio extracelular para o meio intracelular através da bicamada lipídica. Normalmente, a lipofilicidade é um bom preditor da penetração da BHE (GOLANI, 2015). Os valores de LogP recomendados para os fármacos atuarem no SNC estão entre 1 e 4 (EIGENMANN et al., 2019), baseado nisto o OR indica uma boa lipofilicidade com possível ação no SNC (Tabela 2). A solubilidade aquosa pode afetar significativamente a capacidade de absorção e distribuição no meio biológico, tendo como parâmetro para avaliação da solubilidade o LogS, cujo valor desejável seja maior que -4 mol/L (NUNES, 2016). Para o parâmetro de LogS o OR não demonstrou valores como o estimado, mas de acordo com Ritchie e Macdonald nem todos os medicamentos disponíveis se enquadram na regra estabelecida.

O processo de absorção é imprescindível para a potência farmacológica das substâncias (KOVACEVIC et al., 2014; TRIFUNOVIC et al., 2016). Prever a absorção intestinal humana (AIH) de drogas é um dos principais mecanismos da passagem entre as membranas, sendo um parâmetro muito importante para identificar potencial candidato a drogas, bem como prever sua via de administração e eficácia (MITEVA et al., 2006; VISTOLI; PEDRETTI; TESTA, 2008). Para avaliação de AIH foram considerados: 0 a 20% baixa absorção, 20 a 70% absorção moderada, 70 a 100% alta absorção (NUNES, 2016) Os testes *in silico* prevêm a porcentagem de absorção intestinal humana (AIH %)

de 100% para o candidato a fármaco em estudo, o que demonstra que o óxido de rosa é capaz de ser completamente absorvido pelo intestino (YEE, 1997). Foram considerados os respectivos critérios para permeabilidade em células Caco2 - Alta permeabilidade >70 nm/sec, média permeabilidade 4-70 nm/sec e baixa permeabilidade <4 nm/sec (YAZDANIAN, M. et al., 1998). Em relação a permeabilidade em células Caco2 está relacionada a absorção intestinal e utilizadas como modelo para seleção de candidatos a fármacos para via de administração oral, o sistema classifica o OR como de média permeabilidade através do epitélio intestinal (VISTOLI; PEDRETTI; TESTA, 2008).

Quanto aos valores de MDCK (Tabela 3), são úteis para o rastreamento rápido da permeabilidade da membrana celular, isso significa que o OR apresenta uma média permeabilidade em células renais (>500 – alta permeabilidade, entre 25-500 – média permeabilidade, <25 – baixa permeabilidade) (VISTOLI et al., 2008; YAMASHITA et al., 2000). A avaliação *in silico* de MDCK prediz o grau de permeabilidade de uma substância em células renais demonstrando assim seu perfil de excreção pela urina, esse parâmetro é importante, pois aponta se a substância testada permanece ou não por muito tempo no sistema biológico, em outras palavras se a substância permanece tempo suficiente para gerar efeito farmacológico, mas é devidamente excretada evitando toxicidade (HAWERROUTH, 2015).

O OR apresenta boa absorção em relação a penetração de barreira hematoencefálica (BHE) (Tabela 3), esse parâmetro é importante em estudos de ADMET, uma vez que fornece informações sobre drogas terapêuticas no SNC, o modelo de ligação às proteínas plasmáticas, sua disposição e eficácia (HARIKA et al., 2017; SEKHAR et al., 2014). Foi utilizado o respectivo parâmetro para avaliação da penetração da BHE: atravessa livremente a BHE >2,0, atravessa de forma moderada a BHE 2,0-0,1 e atravessa de forma reduzida ou não atravessa <0,1 (AJAY; MERMIS; MURKCO, 1999). Por se tratar de uma molécula de ação no SNC (Sistema Nervoso Central) é de fundamental importância alta permeabilidade na barreira hematoencefálica assim, testes de BHE *in silico* são ferramentas cruciais para ajudar a prever a absorção cerebral de candidatos a fármacos antes de estudos dispendiosos e laboriosos *in vivo* (CHO et al, 2017). Sabe-se que moléculas com peso molecular menor que 500 Da alcançam facilmente o SNC, o OR atende esse requisito podendo tornar-se um novo fármaco disponível no mercado devido seus bons valores de BHE associado a baixo peso molecular (Tabela 5).

Clark (2003) leva em consideração os valores de LogD, algoritmo do coeficiente de distribuição de um composto é recomendado quando este apresenta valor

no intervalo de 0-3, a distribuição dos fármacos nos tecidos está relacionada com a ligação às proteínas plasmáticas (albumina, glicoproteína P e lipoproteínas) (Tabela 3). A ligação às proteínas plasmáticas é outra propriedade farmacocinética muito importante no planejamento de fármacos. Possui papel central no transporte de fármacos no organismo humano, afetando de forma significativa a distribuição e excreção, e conseqüentemente os efeitos farmacológicos e toxicológicos (MODA, 2007).

O OR apresentou forte ligação à albumina, tendo como bases os respectivos valores: ligado fortemente à albumina >90% e ligação moderada a fraca à albumina <90%(14). Os fármacos com baixa ligação à albumina estão mais disponíveis para a distribuição aos órgãos e tecidos, incluindo SNC. Apenas o fármaco livre está disponível para difusão passiva através da BHE, e conseqüentemente, para efeito farmacológico, no entanto, a porção ligada pode atuar como um reservatório ou depósito para qual o fármaco é liberado lentamente na forma não ligada. À medida que o fármaco é metabolizado e/ou excretado do corpo a fração ligada irá ser liberada a fim de manter o equilíbrio (GOLANI; GOLANI, 2015). A glicoproteína-P tem baixa capacidade de ligação e alta afinidade, portanto, fármacos para o SNC não devem ser um substrato de glicoproteína-P eficiente e um ligante de albumina sérica de elevada afinidadecapacidade (HAWERROUTH, 2015).

A permeabilidade da pele (Tabela 3) também é outro parâmetro importante em ensaios de ADMET, pois permite prever a taxa de permeabilidade da pele, um parâmetro crucial para a absorção transdérmica de medicamentos e para a avaliação de risco de quaisquer tipos de produtos químicos que entram em contato com a pele acidentalmente ou por *design* (GLEESON, 2008). Os valores dos testes *in silico* comparados aos valores de referências na literatura (EDDERSHAW; BERESFORD; BAYLISS, 2000; LAGORCE et al., 2008) demonstram que o composto apresenta uma boa absorção via cutânea.

O composto em estudo apresenta segundo os testes *in silico* no preADMET atividade inibidora para as enzimas CYP2C19 e CYP2C9 (Tabela 4). Esse tipo de inibição resulta no aumento das concentrações plasmáticas dos medicamentos e, em alguns casos, podem ocorrer resultados adversos (GHOSE; VISWANADHAN; WENDOLOSKI, 1998; SEKHAR et al., 2014; TEAGUE et al., 1999). Como observado na Tabela 4, a substância não apresenta atividade inibidora quanto ao gene CYP2D6, responsável pelo metabolismo oxidativo de muitas drogas e produtos químicos no ambiente celular, e envolvido no metabolismo de drogas como antiarrítmicos, antagonistas de adrenoceptores

e antidepressivos. Apresentando apenas baixa atividade quanto à atividade como substrato enzimático dessa proteína. O citocromo CYP3A4, enzima responsável pela oxidação de xenobióticos, essa isoforma é responsável pela metabolização de 50% dos fármacos além de ser a forma mais predominante no fígado, também não sofre inibição pelo composto, que atua discretamente como substrato dessa enzima. O composto também não apresenta capacidade inibidora contra a glicoproteína de permeabilidade (P-gp), que atua como bomba de efluxo de drogas de células localizadas no intestino delgado, barreira hematoencefálica, hepatócitos e túbulo proximal do rim, servindo uma função protetora para o corpo contra substâncias estranhas (OPREA, 2000).

Estudos toxicológicos *in silico* são essenciais para compreender mecanismos de interação entre agentes tóxicos e alvos importantes, de forma a permitir um planejamento racional de fármacos com baixa afinidade para esses alvos. Quanto a avaliação da toxicidade do OR (Tabela 5), a substância analisada foi positivo para o teste de Ames (Tabela 5), um método simples para testar a mutagenicidade de um composto, que usa várias cepas da bactéria *Salmonella typhimurium* que carregam mutações em genes envolvidos na síntese de histidina (ARAKI et al., 2004; PRIVAL; ZEIGER, 1998). O teste no preADMET (Tabela 5) previu também toxicidade para TA100, uma cepa de *Salmonella typhimurium* que é frequentemente usado no teste de Ames (AMES et al., 1972). Atualmente, peixes pequenos são comumente usados como modelos de pesquisa de toxicologia em todo o mundo, são em grande parte espécies de água doce, como o minnow de cabeça gorda (*Pimephales promelas*), medaka (*Oryzias latipes*), com concentração de toxina máxima aceitável de 0.1 e 0,3 mg.L⁻¹, desta forma o OR não apresenta efeito de toxicidade a essas espécies de peixes analisadas (ANKLEY; VILLENEUVE, 2006; MAKI, 1979; PADILLA et al., 2009). No entanto, a substância mostrou carcinogenicidade, capacidade de causar câncer em camundongos quando expostos ao OR. Os testes de toxicidade aguda para roedores, peixes, *Daphnia*, e o teste de inibição de crescimento em algas foram realizados com base em propriedades físico-químicas e ecotoxicológicas segundo dados obtidos e baseados na diretiva 92/32/CEE da legislação europeia em matéria de substâncias químicas (WEYERSet al., 2000), desta forma o composto tem a capacidade de poder causar efeitos adversos apenas a longo prazo no meio ambiente aquático (solubilidade < 1mg/L). O OR apresenta médio risco para a inibição do gene hERG, que codifica o canal de potássio de tensão retificada para dentro no coração (IKr) envolvido na repolarização cardíaca.

A tabela 6 mostra os parâmetros farmacocinéticos e físico-químicos considerando a regra de Lipinski, nos quais estabelece que uma molécula deve apresentar valores para 4 parâmetros múltiplos de 5, a molécula para ser bem absorvida deve possuir $\text{Log P} \leq 5$ (ser capaz de solubilizar em água e atravessar membranas), peso molecular ≤ 500 Da, no máximo 10 grupos aceptores de hidrogênio e no máximo 5 doadores de hidrogênio e alguns extensores como número de ligações rotacionais ($n\text{Rot} \leq 10$) e área de superfície polar ($\text{ASP} \leq 140 \text{Å}^2$) (LIPINSKI, 2004). A regra de Lipinski avalia se um determinado composto possui propriedades físico-químicas adequadas para serem biodisponíveis por v.o. (LIPINSKI, 2004; MIGNANI et al., 2016). O OR é uma molécula promissora pois a análise demonstra que o OR teoricamente terá bom comportamento farmacocinético, biodisponibilidade e bioatividade, visto que, o OR não viola nenhum parâmetro da “regra dos cinco”, características essenciais para uma estrutura química candidata a fármaco.

Deacordo com Matsoon et al. (2016) a permeabilidade celular, absorção e biodisponibilidade são características fundamentais para compostos protótipos, e, normalmente, são conseguidas por fármacos de baixa MM. Hipoteticamente, o aumento da MM tem sido correlacionado com a diminuição da solubilidade e da permeabilidade e com o aumento do efluxo mediado por transportador e toxicidade. O aumento da lipofilicidade (representado por LogP) promove o aumento da permeabilidade celular com consequentemente acúmulo em membranas e tecido adiposo, e risco de toxicidade (MATSSON et al., 2016). Então, LogP indica boa permeabilidade a substância em estudo.

Para Alex et al. (2011), a ASP está associada com a capacidade de formar ligações de hidrogênio e facilitar o transporte entre as membranas, um composto/molécula que apresente valor de ASP dentro do desejado aumenta a probabilidade de uma boa absorção oral, característica esta que se encaixa o OR. Conforme He e Lee (2015), as moléculas são capazes de modificar sua conformação para interagir com seus receptores, ligantes mais flexíveis ligam-se facilmente a uma quantidade maior de receptores diversos, desta forma está relacionado a eficácia clínica. O OR apresenta boa flexibilidade e conformação sendo capaz de permear membranas biológicas para interagir com seus receptores alvo.

Quanto a regra dos cinco e regra *leadlike* (protótipo-similar) o composto não apresenta violações, obedecendo assim, a todos os seus parâmetros, podendo de acordo com esses índices qualificar o OR como do tipo *druglike*. Moléculas do tipo *Leadlike* são

geralmente menores e permitem incorporações estruturais para aumentar a eficácia durante a otimização de *leads*, podendo, também, serem incorporadas em processos de otimização de *leads* (VISTOLI et al., 2008).

Os testes mais conhecidos para determinação da atividade antidepressiva são os testes de nado forçado e suspensão da cauda (MOON et al., 2018; POVARNINA et al., 2018). Em ambos os testes a imobilidade corresponde a um estado depressivo em resposta à situação inescapável em que o animal é colocado. De modo geral as drogas de ação antidepressiva são capazes de prolongar o tempo em que o animal apresenta comportamento de fuga que é inversamente proporcional ao tempo de imobilidade (PIMENTA et al., 2016). Quando os tratamentos antidepressivos são administrados antes os testes, os animais persistirão ativamente em envolver-se em comportamento de fuga, por períodos mais longos do que após o tratamento do veículo (FREITAS et al., 2010).

Neste estudo, o tratamento com óxido de rosa nas doses de 25,50 e 100 mg/Kg foram capazes de alterar o tempo de imobilidade dos animais através do teste do nado forçado (Figura 6). No teste de suspensão da cauda observamos resposta semelhante na dose de 50 mg/Kg de peso (Figura 7). Embora tanto o TSC quanto o TNF sejam semelhantes em suas construções e objetivos, eles são diferentes em termos de substratos biológicos que subjacente ao comportamento observado (FREITAS et al., 2010). TSC foi proposto ter maior sensibilidade farmacológica quando comparada com o TNF (CAN et al., 2012). Estabelecendo assim a dose de 50mg/Kg de peso como sendo a melhor dose de efeito antidepressivo.

Os resultados do oxido de rosa foram semelhantes ao observado no grupo controle positivo (fluoxetina), não observando diferenças significativas. A Fluoxetina está entre as drogas farmacêuticas mais utilizadas na terapia antidepressiva (FERNANDES et al., 2012). Atua como inibidor seletivo da recaptação da serotonina (ISRSs), além de induzir a neurogênese hipocampal em roedores (MICHELIA et al., 2018).

Para avaliar a ação do óxido de rosa sobre a atividade motora, utilizamos o teste de campo aberto. Os resultados demonstraram que os grupos tratados com óxido de rosa e fluoxetina não apresentaram alteração, no número de quadrados invadidos pelos animais no teste, quando comparados ao grupo veículo (Figura 8). Estes resultados demonstram que o óxido de rosa não altera a atividade motora dos animais. Tais comportamentos como explorar o ambiente circundante, concorda com sintomas clínicos de animais sem alteração motora (XIE et al., 2012). Em roedores, o reduzido

comportamento exploratório em um ambiente desconhecido reflete uma "perda refratária de interesse" está relacionado a anedonia, que é a perda da capacidade de sentir prazer, próprio dos estados gravemente depressivos, porque coisas estranhas são normalmente vistas como recompensador em roedores (UTTIL et al., 2018).

Saeidienik et al. (2018) utilizando os testes de nado forçado e campo aberto, em seu estudo, demonstraram que o uso de nanopartículas de óxido de ferro podem ser usadas como uma alternativa para terapia antidepressiva. Nesse estudo de Saeidienik et al. (2018) o efeito das nanopartículas de óxido de ferro foi estudado sobre comportamentos de depressão induzida por lipopolissacarídeo. Os resultados deste estudo sugeriram que as nanopartículas de óxido de ferro melhoram a condição de pacientes deprimidos. Azarfarin et al. (2018) também utilizando os testes de nado forçado e campo aberto, demonstraram que a troxerrutina tem propriedades ansiolíticas e antidepressivas. No seu estudo, observou que o tratamento com troxerrutina diminuiu significativamente imobilidade e aumento do tempo de natação no TNF, sugerindo uma atividade semelhante ao antidepressivo. Tamadon-Nejad et al. (2018) avaliou em seu estudo, o papel da vitamina K no sistema nervoso relatando que no cérebro, a vitamina K está presente na forma de menaquinona-4 (MK-4). Na utilização do teste de campo aberto, demonstrou que a depleção de MK-4 no cérebro está associada com comprometimento cognitivo, menor atividade locomotora e comportamento exploratório. Com base na interpretação dada aos resultados de campo aberto e do teste de nado forçado e corroborando com os resultados encontrados neste estudo, pode-se afirmar que o óxido de rosa administrado apresenta atividade antidepressiva e que a dose de 50mg/Kg demonstra maior efetividade.

Determinado o efeito antidepressivo e a dose mais efetiva (50 mg/Kg) do óxido de rosa, foi avaliado se a mesma altera o desempenho psicomotor, o efeito miorrelaxante, a incoordenação motora e a capacidade de equilíbrio, através do teste Rota-Rod. O tratamento com óxido de rosa na dose de 50 mg/kg, não foi capaz de alterar o tempo de permanência dos animais na barra giratória quando comparado ao grupo controle negativo, apresentando resultado semelhante ao da fluoxetina (Figura 9).

No campo da neurociência, tem sido comum por várias décadas medir o desempenho motor de roedores usando Rota-Rod, que consiste em uma barra girando a uma velocidade constante. O animal é forçado a caminhada para acompanhar a barra, até que ele perde o seu equilíbrio e cai, determinando assim o tempo de permanência na barra (SHIOTSUKI et al., 2010). O teste de desempenho do Rota-Rod fornece como objetivo

a mensuração de habilidades motoras com um alto nível de confiabilidade entre avaliadores (VAN DEN BERG et al., 2016).

Shiotsuki et al. (2010), conseguiram obter uma curva de aprendizado baseado no desempenho do teste Rota-Rod modificado, o qual sugere que roedores com degeneração do sistema nigrostriatal, ou modesta mudança na neurotransmissão dopaminérgica resulta em um déficit na habilidade motora de aprendizagem, ao invés de distúrbios da marcha. Os resultados farmacológicos sugerem que tal comprometimento é mediado pela transmissão de dopamina. E que o teste Rota-Rod modificado é potencialmente útil para a análise dos mecanismos de sintomas não motores na doença de Parkinson. Mugikura et al. (2016) em seus estudos, demonstram que camundongos *Dgcr2*-KO exibiram reduzida a atividade locomotora geral nos testes de campo aberto e coordenação motora no teste Rota-Rod. Os resultados indicam que a expressão de *Dgcr2* no cérebro, particularmente a expressão no cerebelo e Células de Purkinje, desempenha um papel na regulação da atividade locomotora e coordenação. Com base na interpretação dos resultados dos estudos descritos, podemos afirmar que o óxido de rosa na dose de 50 mg/kg não altera o desempenho psicomotor e não tem efeito miorelaxante, pois os animais não apresentaram incoordenação motora pois os animais mantiveram a capacidade de equilíbrio, através do teste Rota-Rod.

Visando esclarecer os mecanismos antidepressivos do OR foram realizados dois protocolos. Inicialmente realizamos a análise por dockin e em seguida confrontamos com um modelo in vivo de avaliação de mecanismo. Através da análise de dockin, nossos resultados evidenciaram possíveis pontos de ligação do OR com receptores serotoninérgicos, gabaérgicos e glutamatérgicos. Os códigos “PDBs” das proteínas e receptores utilizados como alvo, assim como sítios ativos da ancoragem do Óxido de Rosa, são mostrados nos quadros 2 e 3.

Entre os receptores mais importantes estão os receptores 5HT_{1A}. Trabalhos mostram que há uma diminuição destes receptores no hipocampo de indivíduos com transtornos depressivos, assim como em animais submetidos a estresse crônico e níveis elevados de glicocorticoides. Por outro lado, o tratamento com drogas antidepressivas promove aumento da sensibilidade desses receptores no sistema límbico em estruturas pós-sinápticas e este aumento de receptores estaria diretamente relacionado com a manifestação do efeito antidepressivo dessas substâncias (DEURWAERDÈRE; GIOVANNI, 2017; PETRUNICH-RUTHERFORD et al., 2018). Dessa forma, torna-se

importante avaliar a interação do OR com o sistema serotoninérgico e especificamente como os receptores 5HT_{1A}. Esta avaliação foi feita em duas etapas.

Inicialmente administramos uma dose subefetiva de OR (12.5 mg/kg) associado com uma dose subefetiva de fluoxetina (10 mg/kg) ambos por via oral. Após uma hora da administração podemos constatar um sinergismo entre as doses através de uma diminuição significativa no tempo de imobilidade dos animais no TNF (Figura 11). A Fluoxetina é uma droga antidepressiva que quando aplicada na dose clínica promove um aumento dos níveis de serotonina por conta da inibição da recaptação desse neurotransmissor na fenda sináptica. Este bloqueio, provoca um aumento da serotonina, porém, em dose subefetiva isso não seria suficiente para gerar efeito no TNF (CHIOVATTO et al 2011). Em associação com o OR e considerando que esta substância poderia também interferir com a neurotransmissão serotoninérgica, podemos assim justificar o efeito observado na associação das duas substâncias. Este protocolo, no entanto, não é suficiente para indicar o possível receptor no qual o OR pode está interagindo. Frente a esta necessidade e considerando a importância do receptor 5HT_{1A} na fisiopatologia da depressão, investigamos a participação desse receptor nos efeitos do OR.

Para isso, os resultados do presente estudo demonstraram que o pretratamento com WAY100635 (um antagonista dos receptores 5HT_{1A}) administrado previamente ao OR na dose de 50mg/Kg, provocou uma reversão do efeito antidepressivo do terpeno no TNF, demonstrando assim que o OR pode manifestar seu efeito devido sua interação com estes receptores específicos da serotonina (Figura 10). Dessa forma, podemos concluir que o OR apresenta características cinéticas favoráveis para ser um bom candidato a uma droga antidepressiva e bom perfil de segurança nas análises *in silico*. Além disso, o OR apresentou efeito antidepressivo *in vivo* atuando provavelmente através da via serotoninérgica a partir da interação com receptores 5HT_{1A}.

6 CONCLUSÕES

Os conjuntos de dados gerados e obtidos sobre as propriedades farmacocinéticas e toxicológicas indicam que o óxido de rosa possui absorção intestinal, ligação à albumina, baixo peso molecular, ligação aos receptores de serotonina, GABA e glutamato, boa metabolização hepática e baixa toxicidade nos testes *in silico*.

Os resultados obtidos do óxido de rosa na dose de 50mg/Kg indicam atividade antidepressiva nos testes de nado forçado e suspensão pela cauda, caracterizada pela diminuição no tempo de imobilidade do animal. Além disso, administração oral de óxido de rosa na dosagem de 50 mg /Kg produziu pequena interferência na atividade locomotora nos animais pelo teste de campo aberto e ROTAROD.

O tratamento com o óxido de rosa de 50mg/Kg e WAY100635 (um antagonista dos receptores 5HT_{1A}) não foi capaz de reverter o tempo de imobilidade do animal no TNF, podendo especular o envolvimento do sistema serotoninérgico no efeito antidepressivo do OR. Envolvimento serotoninérgico também observado pelo teste de docagem, indicando o acoplamento do OR com os receptores serotoninérgicos.

. Dessa forma, pode-se concluir que o OR apresenta características cinéticas favoráveis para ser um bom candidato a uma droga antidepressiva e bom perfil de segurança nas análises *in silico*. Além disso, o OR apresentou efeito antidepressivo *in vivo* atuando provavelmente através da via serotoninérgica a partir da interação com receptores 5HT_{1A}.

Assim, o presente trabalho é de extrema relevância para estudos posteriores sobre atividade antidepressiva do OR em diferentes modelos animais de depressão, ou ainda, para estudos clínicos com abordagem de um possível efeito benéfico do OR no tratamento da depressão

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, C. C. Drogas Antidepressivas. **Acta Med Port**, v. 24, p. 091-098, 2011.
- AJAY, A.; MERMIS, G. W.; MURKCO, M. A. Designing libraries with CNS activity. **J Med Chem**, n. 42, v. 24, p. 4942-4951, 1999.
- ALEX, A. Intramolecular hydrogen bonding to improve membrane permeability and absorption in beyond rule of five chemical space. **Medicinal Chemistry Communication Journal**, v. 2, p. 669-674, 2011.
- ALMEIDA, A. A. C.; CARVALHO, R. B. F.; COELHO, M. L.; FREITAS, R. M. Utilização De Plantas Medicinais Para O Tratamento Da Depressão: Uma Prospecção Tecnológica. **GEINTEC**, v. 3, n. 2, p.157-166, 2013.
- ALSTERS, P. L. et al. “Dark” singlet oxygenation of β -citronellol: a key step in the manufacture of rose oxide. **Org Process Res Dev**. v. 14, p. 259-62, 2010.
- ALVES, A. C. S.; MORAES, D. C; FREITAS, G. B. L.; ALMEIDA, D. J. Aspectos botânicos, químicos, farmacológicos e terapêuticos do *Hypericum perforatum* L. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.16, n.3, p.593-606, 2014.
- ALVES, T. C. T. F. Depressão – bases biológicas e neuroanatomia. **Rev Saúde Pública**, 2010.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Manual Diagnóstico E Estatístico De Transtornos Mentais – Dsm**. Ed. 5, Artmed. São Paulo –SP, 2014.
- AMES, B. N.; GURNEY, E. G.; MILLER, J. A.; BARTSCH, H. Carcinogens as frameshift mutagens: metabolites and derivatives of 2-acetylaminofluorene and other aromatic amine carcinogens. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 69, n. 11, p. 3128–3132, 1972.
- AMES, B. N.; MCCANN, J.; YAMASAKI, E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/Mammalian-microsome mutagenicity test. **Mutation Research**, v. 31, p. 347-364, 1995.
- ANKLEY, G. T.; VILLENEUVE, D. L. The fathead minnow in aquatic toxicology: Past, present and future. **Aquatic Toxicology**, v.78, n.1, p.91–102, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.01.018>.
- ARAKI, A. et al. Mutagenicity of Carbon Tetrachloride and Chloroform in *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, and TA1537, and *Escherichia coli* WP2uvrA/pKM101 and WP2/pKM101, Using A Gas Exposure Method. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v.43, n. 2, p. 128–133, 2004.
- AZARFARIN, M. et al. Effects of troxerutin on anxiety- and depressive-like behaviors induced by chronic mild stress in adult male rats. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 21, n. 8, p.781-786, 2018.

BABU, K. G. D. et al. Essential oil composition of Damask rose (*Rosa damascena Mill.*) distilled under different pressures and temperatures. **Flav Fragr J**, v.17, p. 136-40, 2002.

BAUNE, B.T. et al. The role of cognitive impairment in general functioning in major depression. **Psychiatry Res**, v. 176, p. 183–189, 2010.

BLACK. C. N. et al. Oxidative stress in depression: A meta-analysis. **Psychoneuroendocrinology**, v. 51, p. 164-175, 2015.

BORTOLATO, B. Cognitive remission: a novel objective for the treatment of major depression? **BMC Medicine**, v.14, n. 9, p. 1-18, 2016.

BRAMBILLA, P, et al. Increased M1/decreased M2 signature and signs of Th1/Th2 shift in chronic patients with bipolar disorder, but not in those with schizophrenia. **Transl Psychiatry**, v. 406, n. 4, 2010.

BRATS. **Boletim Brasileiro de Avaliação de Tecnologias em Saúde**. Vol. VI, n. 18, 2012.

BRINK, C. B., HARVEY, B. H., BRAND, L. Tianeptine: a novel atypical antidepressant that may provide new insights into the biomolecular basis of depression. **Recent Patents CNS Drug Discov**, v. 1, p. 29-41, 2006.

BROCARDI, P. S. et al. Antidepressant-like effect of folic acid: Involvement of NMDA receptors and L-arginine-nitricoxide-cyclic guanosine monophosphate pathway. **Eur. J. Pharmacol**, v. 598, p. 37-42, 2008.

CAIRES, J. S. et al. A utilização das terapias complementares nos cuidados paliativos: benefícios e finalidades. **Cogitare Enferm**, v. 19, n. 3, p. 514-20, 2014.

CAN, A. et al. The Tail Suspension Test. **Journal of Visualized Experiments**, v. 59, n. 3769, p. 1-5, 2012.

CARDOSO, L. Psicoterapias comportamentais no tratamento da depressão. **Psicol. Argum**, v.29, n.67, 2011.

CARLSON, N. R. **Fisiologia do Comportamento**. Editora Manole ed, 2002.

CHANG, T. H. et al. Structure of a Heterotetrameric Geranyl Pyrophosphate Synthase from Mint (*Mentha piperita*) Reveals Intersubunit Regulation. **The Plant Cell Online**, v. 22, n. 2, p. 454-467, 2010.

CHIOVATTO, R. D. et al. Fluoxetina ou *Hypericum perforatum* no tratamento de pacientes portadores de transtorno depressivo maior leve a moderado? Uma revisão. **Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde**, v.36, n. 3, p. 168-75, 2011.

CHIRITA, A. L. et al. Current understanding of the neurobiology of major depressive disorder. **Rom J Morphol Embryol**, v. 56, p. 651-8, 2015.

CHO, B. P. et al. **Pathological dynamics of activated microglia following medial forebrain bundle transection.** *Glia*, v. 53, p. 92-102, 2006.

CHO, C. F. et al. Blood-brain-barrier spheroids as an in vitro screening platform for brain-penetrating agents. **Nature communications**, v. 8, p. 15623, 2017

COLLA, A. R. S. Efeito tipo-antidepressivo e tipo-ansiolítico do ácido ursólico em camundongos em diferentes modelos animais. **Tese de Doutorado apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Neurociências.** Florianópolis, 2015.

COSTA, C. R. et al. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Quim Nova**, n. 3, v.7, p. 1820-1830, 2008.

COUTINHO, M. E. M. et al. Aspectos biológicos e psicossociais da depressão relacionado ao gênero feminino. **Revista Brasileira de Neurologia e Psiquiatria**. n. 19, v.1, p.49-57, 2015.

CRYAN, J. F.; MARKOU, A.; LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent development and future needs. **Pharmacological Sciences**. v. 23, n. 5, p. 238-245. 2002.

CRYAN, J. F.; MOMBÉREAU, C.; VASSOUT, A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 29, n. 4-5, p. 571-625, 2005.

DA SILVA, G. D. et al. Evidence for dual effects of nitric oxide in the forced swimming test and in the tail suspension test in mice. **Neuroreport**, v. 11, p. 3699-702, 2000.

DAVID, I. M. et al. Nrf2-signaling and BDNF: A new target for the antidepressant-like activity of chronic fluoxetine treatment in a mouse model of anxiety/ depression, **Neuroscience Letters**, vol. 597, p. 121–126, 2015.

DEURWAERDÈREA, P.; GIOVANNIBI, G. Serotonergic modulation of the activity of mesencephalic dopaminergic systems: Therapeutic implications. **Progress in Neurobiology**, v. 151, p 175-236, 2017.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products biosynthetic approach.** Chichester: Wiley, 2009.

DHIR, A.; KULKARNI, S. K. Nitric oxide and major depression. **Nitric Oxide**, v. 24, p. 125–131, 2011.

DUMAN, R. S. Pathophysiology of depression: the concept of synaptic plasticity. **European Psychiatry**. v. 17, n 3, p. 306-310, 2002.

DUMAN, R. S.; MONTEGGIA, L. M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. **Biological Psychiatry**, v. 59, n. 276, p. 1116-1127, 2006.

[DUNN, A. L. et al.](#) Exercise treatment for depression: efficacy and dose response. **Am J Prev Med**, v. 28, n.1, p.1-8, 2005.

EDDERSHAW, P.; BERESFORD, A.; BAYLISS, M. ADME/PK as part of a rational approach to drug discovery. **Drug discovery today**, v.5, n. 9, p. 409–414, 2000.

EIGENMANN, D. E. et al. In vitro blood-brain barrier permeability predictions for GABA_A receptor modulating piperine analogs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 103, p. 118-126, 2016.

EL-SEEDI, H. R. et al. Chemical composition and repellency of essential oils from four medicinal plants against *Ixodes ricinus* nymphs (Acari: Ixodidae). **J. Med. Entomol**, v. 49, p. 1067-1075, 2012.

FEITOSA, M. P.; BOHRY, S.; MACHADO, E. R. Depressão: Família, e o seu papel no tratamento do Paciente. **Encontro: Revista de Psicologia**, v. 14, n.21, p. 127-144, 2011.

FERNANDES, V. S. Repeated treatment with a low dose of reserpine as a progressive model of Parkinson's disease. **Behavioural Brain Research**, v. 231, p. 154-63, 2012.

[FERRARI, F.](#); [VILLA, R. F.](#) The Neurobiology of Depression: an Integrated Overview from Biological Theories to Clinical Evidence. **Mol Neurobiol**. v.54, n.7, p.4847-4865, 2017.

FLECK, M. P. et al. Revisão das diretrizes da Associação Médica Brasileira para o tratamento da depressão (Versão integral). **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 31, 2009.

FORLENZA, M. J., MILLER, G. E. Increased serum levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in clinical depression. **Psychosom Med**, v.68, p. 1-7, 2006.

FREITAS, A. E. et al. **Antidepressant-like action of the ethanolic extract from *Tabebuia avellanedae* in mice: Evidence for the involvement of the monoaminergic system.** *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, v. 34, n. 2, p. 335-343,2010.

FRIEDMAN, M. Chemistry and multibeneficial bioactivities of carvacrol (4-isopropyl-2-methylphenol), a component of essential oils produced by aromatic plants and spices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 31, p. 7652–7670, 2014.

GHOSE, A. K.; VISWANADHAN, V. N.; WENDOLOSKI, J. J. Prediction of hydrophobic (lipophilic) properties of small organic molecules using fragmental methods: An analysis of ALOGP and CLOGP methods. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 102, n. 21, p.3762–3772, 1998.

GLEESON, M. P. Generation of a set of simple, interpretable ADMET rules of thumb. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.51, n. 4, p.817–834, 2008.

GOLANI, M.; GOLANI, L. L. On a simulation approach to drug blood brain barrier permeation: Neural net ensemble based. **International Journal of Computer Science**,

v. 42. N1, p. 31-40, 2015.

GONÇALVES, A. M. C. et al. Prevalência de depressão e fatores associados em mulheres atendidas pela Estratégia de Saúde da Família. **J Bras Psiquiatr.** v. 67, n. 2, p.101-9, 2018.

GUILHERMINO, L. et al. Acute toxicity test with *Daphnia magna*: Na alternative to mammals in the Prescreening of Chemical Toxicity? **Ecotoxicol Environ Saf;** n. 46, v. 3, p. 357-362, 2000.

HALL, C. S. Emotional behaviour in the rat: III The relationship between emotionality and ambulatory activity. **J. Comp. Psychol,** 22: 345–352, 1936.

HARIKA, M. S.. Docking studies of benzimidazole derivatives using hex 8.0 M. Reddy Department of Pharmaceutical Chemistry, **Creative Educational Society's College of Pharmacy**, Chinnatekur, Kurnool, Andhra Pradesh, India., v. 8, n.4, p.1677–1688, 2017.

HASEGAWA, S.; FIKRE-MERID, M.; DIKSIC, M.. 5-HT_{2A} receptor antagonist M100907 reduces serotonin synthesis: An autoradiographic study. **Brain Res Bull,** v. 04, n. 87, p. 44–49, 2014.

HAWERROUTH, B. **Avaliação *in silico* e *in vivo* do potencial anticonvulsivante e toxicológico de derivados tiazolidinodionicos.** Dissertação submetida à Universidade do Vale do Itajaí como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Itajaí – SC, 2015.

HOLT, R. I et al. The relationship between depression, anxiety and cardiovascular disease: findings from the Hertfordshire Cohort Study. **J. Affect. Disord,** v. 150, p. 84–90, 2013.

HONG, Y. K. et al. Neuroprotective effect of SuHeXiang Wan in *Drosophila* models of Alzheimer's disease. **J. Ethnopharmacol.,** v. 134, p.1028-1032, 2011.

HOU, T.; XU, Z. ADME Evolution in Drug Discovery. **J. Mol. Model,** v.8, p.337-349, 2002.

HUANG, H. L. et al. Antidepressant-like effects of Gan-Mai-Dazao-Tang via monoamine regulatory pathways on forced swimming test in rats. **Journal of Traditional and Complementary Medicine,** 2017.

HUNT, M. J.; RAINAUD, B.; GARCIA, R. Ketamine dose-dependently induces highfrequency oscillations in the nucleus accumbens freely moving rats. **Biol Psychiatry,** v.60, p. 1206–14, 2006.

HUR, J. et al. Borneol alleviates oxidative stress via upregulation of Nrf2 and Bcl-2 in SH-SY5Y cells. **Pharm. Biol.,** v. 51, p. 30-35, 2013.

JAKOBSEN, C.; KATAKAM, K.; SCHOU, A. Selective serotonin reuptake inhibitors versus placebo in patients with major depressive disorder: A systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. **BMC Psychiatry**, v.17, n. 58, 2017.

JONES H. M. et al. Physiologically based pharmacokinetic modeling in drug discovery and development: a pharmaceutical industry perspective. **Clin Pharmacol Ther.** v. 97, p. 247-62, 2015.

KLEIN-JÚNIOR, L. C. et al. The monoamine oxidase inhibitory activity of essential oils obtained from *Eryngium* species and their chemical composition. **Pharm. Biol.**, v. 54, p. 1071-1076, 2016.

KOVAČEVIĆ, S. Z. et al. Prediction of *In silico* ADME Properties of 1,2-O-Isopropylidene Aldohexose Derivatives. **Iran J Pharm Res**, v.13, n. 3, p. 899–907, 2014.

KUDAGI, B. L.; KUMAR, R. P.; BASHA, S. K. S. Evaluation of anti-anxiety, sedative and motor coordination properties of ganaxolone in comparison with diazepam in rodent Models. **Journal of Dental and Medical Science**, v. 1, n. 4, p. 42-47, 2012.

KUIATE, J. R.; BESSIÈRE, J. M.; ZOLLO, P. H. A. Composition of the essential oils from three *Lagera* spp. from Cameroon. **Flav Fragr J.** v. 17, p. 105-8, 2002.

KULMATYCKI, K. M.; JAMALI, F. Drug disease interactions: role of inflammatory mediators in depression and variability in antidepressant drug response. **J Pharm Pharmsci**, v. 9, n. 3, p. 292-306, 2006.

LAFER, B.; VALLADA FILHO, H. P. Genética e fisiopatologia dos transtornos depressivos. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 21, 1999.

LAGORCE, D. et al. FAF-Drugs2: Free ADME/tox filtering tool to assist drug discovery and chemical biology projects. **BMC Bioinformatics**, v.9, p.1–9, 2008.

LEE, G.; BAE, H. Therapeutic Effects of phytochemicals and Medicinal Herbs on Depression. **BioMed Research International**, v. 2017, p. 1-11, 2017.

LEICHSENDRING, F.; STEINERT, C.; HOYER, J. Psychotherapy versus pharmacotherapy of depression: What's the evidence? **Psychosom. Med. Psychother**, v. 62, p.190–195, 2016.

LIPINSKI, C. A. Lead-and drug-like compounds: the rule of five revolution. **Drug Discov Today Technol**, n.1, v.4, p. 337-341, 2004.

LISTUNOVA, L. et al. Cognitive Impairment Along the Course of Depression: Non-Pharmacological Treatment Options. [Psychopathology](#), v. 5, p. 1-1, 2018.

LIU, Q. F. et al. *In vivo* screening of traditional medicinal plants for neuroprotective activity against A β 42 cytotoxicity by using *Drosophila* models of Alzheimer's disease. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 38, p. 1891-190, 2015.

LOPES, C. S.; HELLWIG, N.; SILVA, G. A.; MENEZES, P. R. Inequities in access to depression treatment: results of the Brazilian National Health Survey – PNS. **Int J Equity Health**. 2016;15:154.

MACHADO, B. M. **Neuroanatomia funciona**. 2 ed. São Paulo: Sarvier, 2008.

MAKI, A. W. Correlations Between Daphnia magna and Fathead Minnow (Pimephales promelas) Chronic Toxicity Values for Several Classes of Test Substances. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, v. 36, n. 4, p. 411–421, 1979.

MARKOU, A. et al. Removing obstacles in neuroscience drug Discovery: the future path for animal models. **Neuropsychopharmacology**, v. 1, n. 34, p. 74 – 89, 2009

MARQUES, T. H. C.; MELO, C. H. S. D.; FREITAS, R. M. D. In vitro evaluation of antioxidant, anxiolytic and antidepressant-like effects of the Bellis perennis extract. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 5, p. 1044-1052, 2012.

MATSSON, P. et al., Cell permeability beyond the rule of 5. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 101, p. 42-61, 2016.

McARTHUR, R., BORSINI, F. Animal models of depression in drug discovery: A historical perspective. **Pharmacol. Biochem. Behav**, v. 84, p. 436-452, 2006.

MELLO, A. S.; QUINCOZES-SANTOS, A.; FUNCHAL, C. Correlação entre hiperglicemia e células do SNC, com enfoque na atividade glial. **Rev Neurocienc**, v.20, n. 2, p. 294-301, 2012.

MICHEL, T. M.; PÜLSCHEN, D.; THOME, J. The Role of Oxidative Stress in Depressive Disorders Current. **Pharmaceutical Design**, v.18, p. 5890-5899, 2012.

MICHELIA, L.; CECCARELLIA, M.; D'ANDREAA, G.; TIRONEA, F. Depression and adult neurogenesis: Positive effects of the antidepressant fluoxetine and of physical exercise. **Brain Research Bulletin**, v. 143, p. 181-193, 2018.

MIGNANI, S. et al. Why and how have drug discovery strategies in pharma changed? What are the new mindsets? **Drug Discovery Today**, v.21, n. 2, p. 239-249, 2016.

MILANOVIC, S. et al. Treatment of depression, anxiety, and trauma-related disorders during the perinatal period: A systematic review. **Clinical Psychology Review**, v. 66, p. 136-148, 2018.

MILLER, A. H.; RAISON, C. L. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. **Nat Rev Immunol**, v.16, p. 22-34, 2016.

MITEVA, M. A. et al. . FAF-Drugs: Free ADME/tox filtering of compound collections. **Nucleic Acids Research**, v. 34, p.738–744, 2006.

MKADDEM, M. et al. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of Mentha (longifolia L. and viridis) essential oils. **J. Food Sci.**, v. 74, 2009.

MODA, T. L. Desenvolvimento de modelos *In silico* de propriedades de ADME para a triagem de novos candidatos a fármacos. **Dissertação de Mestrado Área de Física Aplicada**, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

MOON, E. J.; et al. Dexmedetomidine Ameliorates Sleep Deprivation-Induced Depressive Behaviors in Mice. **Int Neurol J**, v. 22, n. 3, p. 139-146, 2018.

MOSTAFAVI, S. et al. Type I interferon signaling genes in recurrent major depression: increased expression detected by whole-blood RNA sequencing. **Mol Psychiatry**, v. 19, p. 1267–1274, 2013.

MOTTER, J. N. et al.: Computerized cognitive training and functional recovery in major depressive disorder: a metaanalysis. **J Affect Disord**, v.189, p. 184–191, 2016.

MOZDZEN, E. et al. Antidepressant-like effect of 1, 2, 3, 4-tetrahydroisoquinoline and its methyl derivative in animal models of depression. **Pharmacological Reports**, v. 69, p. 566–574, 2017.

MUGIKURA, S. C. et al. Abnormal gait, reduced locomotor activity and impaired motor coordination in Dgcr2-deficient mice. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 5, p. 120-126, 2016.

MÜHLBAUER, R. et al. **Common herbs, essential oils and monoterpenes potently modulate bone metabolism**. *Bone*, v. 32, p. 372-380, 2003.

NESTLER, E. J. et.al. Neurobiology of Depression. **Neuron**. v. 34, p. 13-25, 2002.

NESTLER, E. J.; GOULD, E.; MANJI, H. Preclinical models: Status of basic research in depression. **Biol Psychiatry**, v. 52, n. 6, p. 503-528. 2002.

NG, F. et al. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. **Int. J. Neuropsychopharmacol.**, v.11, p. 851-876, 2008.

NILLNI, Y. I.; MEHRALIZADE, A.; MAYER, L.; MILANOVIC, S. Treatment of depression, anxiety, and trauma-related disorders during the perinatal period: A systematic review. **Clinical Psychology Review**, v. 6, p.81-151, 2018.

NONATO, F. R. et al. Anti-inflammatory properties of rose oxide. **International Immunopharmacology**, v. 14, p. 779–784, 2012.

NUNES, J. P. S. Síntese e avaliação *in silico*, *in vitro*, *in vivo* de chalconas e derivados pirazolínicos hidroxilados frente às atividades antinoceptiva, anti-inflamatória e antiúlcera. **Tese de Doutorado – Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas**. Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí – SC, 2016.

OPREA, T. I. Property distribution of drug-related chemical databases. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 14, n. 3, p. 251–264, 2000.

OPREA, T. I. Virtual Screening in Lead Discovery: A Viewpoint. **Molecules**, v. 7, n. 1, p. 51-62, 2002.

- PADILLA, S. et al.. Use of Medaka in toxicity testing. **Current Protocols in Toxicology**, 2009.
- PADUCH, R. et al. Terpenes: substances useful in human healthcare. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 55, n. 5, p. 315–327, 2007.
- PALTA, P. et al. Depression and Oxidative Stress: Results From a Meta-Analysis of Observational Studies. **Psychosom Med**, v.76, n. 1, p. 12–19, 2015.
- PASSOS, C. S. et al. Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). **Rev. bras. Farmacognosia**, v.19, n.1^a, p. 140-149, 2009.
- PERITO, M. E. S.; FORTUNATO, J. J. **Marcadores Biológicos da Depressão: Uma Revisão Sobre a Expressão de Fatores Neurotróficos**. **Rev Neurocienc**, v. 20, n. 4, p. 597-603, 2012.
- PETRUNICH-RUTHERFORD, M. L.; GARCIA, F.; BATTAGLIA, G. 5-HT1A receptor-mediated activation of neuroendocrine responses and multiple protein kinase pathways in the peripubertal rat hypothalamus. **Neuropharmacology**, v. 139, p. 173 - 181, 2018.
- PIMENTA, A. B. et al. Actividad antidepressiva del extracto etanolico de la *Kielmeyera Rubriflora* Cambes (Pau Santo) en ratones. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.21, n.2, p.181-195, 2016.
- PITTENGER, C., DUMAN, R. S. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. **Neuropsychopharmacology**, v.33, p. 88-109, 2008.
- PORSOLT, R. D. et al. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v. 266, p. 730-732, 1978.
- POVARNINA, P. Y. et al. Antidepressant Effect of an Orally Administered Dipeptide Mimetic of the Brain-Derived Neurotrophic Factor. **Acta naturae**, v. 10 n. 3, p.81-84, 2018.
- PRIVAL, M. J.; ZEIGER, E. Chemicals mutagenic in Salmonella typhimurium strain TA1535 but not in TA100. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 412, n.3, p. 251–260, 1998.
- RAISON, C. L.; LOWRY, C. A.; ROOK, G. A. Inflammation, sanitation, and consternation: loss of contact with coevolved, tolerogenic microorganisms and the pathophysiology and treatment of major depression. **Arch Gen Psychiatry**, v. 67, p. 1211–1224, 2010.
- RANG et al. **Farmacologia**. Rio de janeiro. Elsevier, 8 ed, 2016.
- REIS, R. K. et al. Avaliação dos sintomas depressivos somáticos e afetivo-cognitivos de pessoas vivendo com HIV/AIDS. **Acta paul. Enferm**, v.30, n.1, p. 60-65, 2017.

RODRIGUES, F. T. S. **Estudo do efeito comportamental e neuroprotetor da *Erythrina velutina* na isquemia cerebral aguda em camundongos**. Dissertação submetida à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Farmacologia. Fortaleza, 2013.

ROOK, G. A.; LOWRY, C. A.; RAISON, C. L. Hygiene and other early childhood influences on the subsequent function of the immune system. **Brain Res**, v. 1617, p. 47–62, 2015.

SAEED, A. *In silico* ADME-Tox modeling: progress and prospects. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 13, n. 11, p. 1147-1158, 2017.

SAEIDIENIK, F. et al. The Effects of Iron Oxide Nanoparticles Administration on Depression Symptoms Induced by LPS in Male Wistar Rats. **Basic and Clinical Neuroscience**, v. 9, n. 3, p. 209-216, 2018.

SAMUEL, E. T. et al. Rod Microglia: A Morphological Definition. **PLOS ONE**, v. 9, 2014.

SANTOS, R. B.; VALE, W. F.S.; COSTA, C. L. S. Planejamento estrutural, desenvolvimento e análise de propriedades farmacocinéticas *in silico* de análogos do ácido salicílico para fins cosméticos. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 1, p. 103-112, 2017.

SARRIS, J.; KAVANAGH. D. J. Kava and St. John's wort: Current evidence for use in mood and anxiety disorders. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 15, n. 8, p. 827–836, 2009.

SATO, V. A. H. Participação da serotonina no efeito tipo-antidepressivo induzido pela inibição da nNOS no hipocampo de ratos. **Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Farmacologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências**, 2011.

SAURAV, K.; ZHANG, W.; SAHA, S.; ZHANG, H.; LI, S.; ZHANG, Q.; VERMA, G. In silico molecular docking, preclinical evaluation of spiroindimicins A-D, lynamycin A and D isolated from deep marine sea derived *Streptomyces* sp. SCSIO 03032. **Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences**, v. 6, n. 3, p.187–196, 2014.

SCHANAIDER, A; SILVA, P. C. Uso de animais em cirurgia experimental. **Acta cirúrgica brasileira**, v. 19, n. 4, 2004.

SCHILDKRAUT, J. J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **J. Psychiatry**, n 122, p. 509–522, 1965.

SCHMIDT, H. D.; DUMAN, R. S. The role of neurotrophic factors in adult hippocampal neurogenesis, antidepressant treatments and animal models of depressive-like behavior. **Behav Pharmacol**, v. 18, n. 5-6, p. 91-418, 2007.

SCHMIDT, H.D., DUMAN, R.S. The role of neurotrophic factors in adult hippocampal SCHMIDT, M. V.; WANG, X. D.; MEIJER, O. C. Early life stress paradigms in rodents: potential animal models of depression. **Psychopharmacology**, v. 214, n.1, p.131-40, 2011.

SEKHAR, K. C.; et al.. Novel heteroaryl phosphonicdiamides PTPs inhibitors as anti-hyperglycemic agents. **DARU, Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.22, n. 1, 2014.

SHADRINA, M.; BONDARENKO, E. A.; PETR, A. Slominsky Genetics Factors in Major Depression Disease. **Frontiers in Psychiatry**, v. 9, n. 334 p. 1-18, 2018.

SHIOTSUKI, H. et al. A rotarod test for evaluation of motor skill learning. **Journal of Neuroscience Methods**, v.189, p.180-185, 2010.

SIBA, I. P. **Avaliação pré-clínica do potencial efeito antidepressivo da miricitrina em modelos animais**. Curitiba, 2013.

SKOLNICK, P., LEGUTKO, B., LI, X., BYMASTER, F. P. Current perspectives on the SLATTERY, D. A.; CRYAN, J. F. USING the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. **Nat Protoc**, v. 3, n. 7, p. 1009-14, 2012.

SLATTERY, D. A.; CRYAN, J. F. Using the rat forced swim to assess antidepressant-like activity in rodents. **Nature Protocols**, v. 7, p. 1009-1014, 2012.

SOFI, F. et al. Physical activity and risk of cognitive decline: a meta-analysis of prospective studies. **J Int Med**, v. 269, p.107–117, 2011.

SULTANA, J. et al. Changes in the prescribing pattern of antidepressant drugs in elderly patients: an Italian, nationwide, population-based study. **Eur J Clin Pharmacol**, v. 4, n. 70, p. 469-478, 2014.

TAIT, E. M. et al. Use of complementary and alternative medicine for physical performance, energy, immune function, and general health among older women and men in the United States. **Journal of Women and Aging**, v. 24, n. 1, p. 23–43, 2012.

TAMADON-NEJAD, S. et al. Vitamin K Deficiency Induced by Warfarin Is Associated With Cognitive and Behavioral Perturbations, and Alterations in Brain Sphingolipids in Rats. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 10, Article 213, p.1-13, 2018.

TEAGUE, S. J.; DAVIS, A. M.; LEESON, P. D.; OPREA, T. The design of leadlike combinatorial libraries. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 38, n. 24, p. 3743–3748, 1999.

PORSOLT, R. D. The tail suspension test: ethical considerations. **Psychopharmacology**, v. 90, p.284–5,1986.

TRIFUNOVIĆ, J. et. al. Retention data of bile acids and their oxo derivatives in characterization of pharmacokinetic properties and in silico ADME modeling. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 92, p. 194-202, 2016.

UTTIL, L. et al. Behavioral and pharmacokinetic profile of indole-derived synthetic cannabinoids JWH-073 and JWH-210 as compared to the phytocannabinoid 19 -THC in rats. **Frontiers in Neuroscience**, v. 12, n. 703, p. 1-10, 2018.

VAN DEN BERGA, R. et al. Rotarod motor performance and advanced spinal cord lesion image analysis refine assessment of neurodegeneration in experimental autoimmune encephalomyelitis. **Journal of Neuroscience Methods**, v.262, p. 66-76, 2016.

VETULANI, J.; NALEPA, I. Antidepressants: past, present and future. **Eur J Pharmacol.** v. 405, p. 351–63, 2000.

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

VISTOLI, G.; PEDRETTI, A.; TESTA, B. Assessing drug-likeness - what are we missing? **Drug Discovery Today**, v. 13, n. 7–8, p. 285–294, 2008.

VITAL, T. M. et al. Atividade física sistematizada e sintomas de depressão na demência de Alzheimer: uma revisão sistemática. **J Bras Psiquiatr**, v. 59, n. 1, p. 58-64, 2010.

WANG, G. et al. Involvement of serotonergic, noradrenergic and dopaminergic systems in the antidepressant-like effect of ginsenoside Rb1, a major active ingredient of Panax ginseng C.A. Meyer. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 204, p. 118–124, 2017.

WASHINGTON, D. C. American Psychiatric Association. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders**, 2013.

WEYERS, A. et al. Acute toxicity data: a comprehensive comparison of results of fish, Daphnia, and algae tests with new substances notified in the European Union. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.19, n. 7, p. 1931–1933, 2000.

WILES, N. et al. Cognitive behavioural therapy as an adjunct to pharmacotherapy for primary care based patients with treatment resistant depression: results of the CoBaT randomised controlled trial. **The Lancet**, v. [381](#), p. 375-384, 2013.

WILLNER, P.; KRÜGER, J. S.; BELZUNG, C. **The neurobiology of depression and antidepressant action.** *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. [37](#), n. 10, p. 2331-2371, 2013.

WILNER, P.; SCHEEL-KRUGER, C.; BELZUNG, C. The neurobiology of depression and antidepressant action. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 12, 2012.

WONG, D.T., PERRY, K.W., BYMASTER, F.P. Case history: the discovery of fluoxetine hydrochloride (Prozac). **Nat. Rev. Drug. Discov**, v.4, p. 764-774, 2005.

XIE, Y. et al. Effects of nanoparticle zinc oxide on spatial cognition and synaptic plasticity in mice with depressive-like behaviors. **Journal of Biomedical Science**, v. 19, n.14, p.1-9, 2012.

YAZDANIAN, M. et al. Correlating partitioning and Caco-2 cell permeability of structurally diverse small molecular weight compounds. **Pharm Res**, n.15, v. 9, p. 1490-1494, 1998.

YEE, S. *In vitro* permeability across Caco-2 cells (colonic) can predict *in vivo* (small intestinal) absorption in man - fact or myth. **Pharmaceutical Research**, v. 14, n. 6, 1997.

ZOU, L. et al. Effects of Meditative Movements on Major Depressive Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. **J. Clin. Med**, v.7, n.195, p. 1-16, 2018.

ZUCKER, E. Hazard Evaluation Division Standard Evaluation Procedure: Acute toxicity test for freshwater Fish. **USEPA Publication**, n. 540, v.9, 1985

ANEXOS

ANEXO A – Certificado de aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil, CEP: 64049-550
Telefone (86) 3215-5734 _e-mail: ceap@ufpi.edu.br



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**Avaliação do efeito antidepressivo do Óxido de rosa em modelos experimentais de depressão**", registrada nº **449/18**, sob a responsabilidade do **Prof. Dr. LUCIANO DA SILVA LOPES** do Núcleo de Tecnologia Farmacêutica/CCS/UFPI que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de Pesquisa Científica- encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **Aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFPI) da Universidade Federal do Piauí, em Reunião na presente data **06/04/2018**.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	Abril/ 2018 à Dezembro/ 2018
Espécie/Linhagem/raça	1. Camundongos/ swiss 2. Rato heterogênico/ wistar
Nº de Animais	1. 270 2. 18
Peso/ Idade	1. 20-30g/ 2 meses 2. 250-300g/ 2 meses
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central da UFPI.

Teresina, 06 de Abril de 2018.


Prof. Ivete L. de Mendonça
 Coordenadora do Núcleo de Experimentação Animal-UFPI
 Coordenadora

ANEXO B –Certificado de Apresentação no XXV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil.



XXV SIMPÓSIO
DE PLANTAS
MEDICINAIS
DO BRASIL

6 A 9 DE SETEMBRO DE 2018
Centro de Convenções Frei Caneca
São Paulo, SP

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho Nº **PT.04.066** titulado: **"A VALIAÇÃO DO EFEITO ANTIDEPRESSIVO DO ÓXIDO DE ROSA EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE DEPRESSÃO"** de autoria de Maia WMN, Assunção AFC, Rodrigues NDS, Ferreira DCL, Maia Filho ALM, Monte SM, Sousa DP, Marques RB, Lopes LS, foi apresentado como Pôster no **XXV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, realizado de 06 a 09 de setembro de 2018, no Centro de Convenções Frei Caneca, São Paulo- SP.




Prof. E. A. Carlini
Presidente do XXVSPMB


Prof. Ricardo Tabach
Presidente da Comissão
Organizadora do XXVSPMB