



UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR
MESTRADO ACADÊMICO EM BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR

LARISSA ROLIM DE OLIVEIRA

ESTUDO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICOS
DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO
DAS FOLHAS DE *Passiflora Cincinnata* Mast. EM CAMUNDONGOS

CRATO – CE

2014

LARISSA ROLIM DE OLIVEIRA

**ESTUDO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICOS
DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO
DAS FOLHAS DE *Passiflora Cincinnata* Mast. EM CAMUNDONGOS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri - URCA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Bioprospecção Molecular.

Área de Concentração: Bioprospecção de Produtos Naturais; Linha de Pesquisa: Farmacologia de Produtos Naturais.

Orientadora:

Profa. Dra. Marta Regina Kerntopf Mendonça

Co-orientador:

Prof. Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe

CRATO – CE

2014

Esta Dissertação foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Bioprospecção Molecular / Área de Concentração em Bioprospecção de Produtos Naturais, outorgado pela Universidade Regional do Cariri, e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca Central da referida Universidade.

A citação de qualquer trecho desta Dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

Larissa Rolim de Oliveira

Dissertação aprovada em: ___/___/_____

Examinadores:

Prof^a. Dr^a. Marta Regina Kerntopf – Orientadora
Universidade Regional do Cariri – URCA

Prof. Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe – Co-orientador
Universidade Federal da Paraíba – UFPB

Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes – Membro Interno
Universidade Regional do Cariri – URCA

Prof. Dr. Francisco Romero Cabral – Membro Externo
Sociedade Beneficente Israelita Brasileira
Hospital Albert Einstein - Instituto do Cérebro.

*“Posso, tudo posso Naquele que me fortalece
Nada e ninguém no mundo vai me fazer desistir
Quero, tudo quero, sem medo entregar meus projetos
Deixar-me guiar nos caminhos que Deus desejou pra mim e ali estar
Vou perseguir tudo aquilo que Deus já escolheu pra mim
Vou persistir, e mesmo nas marcas daquela dor
Do que ficou, vou me lembrar
E realizar o sonho mais lindo que Deus sonhou
Em meu lugar estar na espera de um novo que vai chegar
Vou persistir, continuar a esperar e crer
E mesmo quando a visão se turva e o coração só chora
Mas na alma, há certeza da vitória”*

(Celina Borges)

Dedico a minha mãe, **Rita Elicidan Rolim Batista**, com amor e dedicação por me apoiar em todas as minhas escolhas e sempre acreditar em mim. A minha irmã **Andréa Maria Rolim de Oliveira** com todo amor por estar sempre ao meu lado.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Rita Elicidan Rolim Batista, minha mamis! Por todo amor e estar ao meu lado em todos os momentos da minha vida, me apoiando, me dando os conselhos necessários para nós (eu e Andréa) vencermos na vida, por ser o meu espelho, és nosso exemplo de mãe, és nossa rainha, nossa guerreira! Sem você mainha, não teria chegado até aqui! Te amo!!!

A Andréa Maria Rolim de Oliveira, minha Deinha, por todo amor, toda paciência comigo, por seus conselhos, por suas orações. Por ter se abdicado de seus sonhos para me ajudar. Te amo muito Déa, que Deus continue sempre do seu lado, e te protegendo sempre.

A Francisco Luiz de Oliveira Rodrigues, meu papis, por todo amor e por ter me apoiado em minhas decisões. Te amo pai!

A minha tia Andecieli Rolim de Brito, por sempre acreditar em mim, por ter sido a mentora do meu mestrado, sem você não teria conseguido, pelo amor e carinho de mãe me dado. Serei eternamente grata por tudo que tens feito por mim. Te amo tia!

A minha Família Rolim, por ser meu alicerce, a razão da minha existência, obrigada por tudo! Em especial a minha avó Dezinha e vovô Antonio pelo amor e carinho me dado, e a minha prima, Mariana (La bomba) que me apoia em tudo, pelos seus conselhos, pela sua amizade. Amo vocês.

A minha família Oliveira, por todo apoio, pelo carinho. Em especial a minha avó Elma e ao meu avô Luiz (*in memorian*) pelo amor, pelos ensinamentos e pelos conselhos. Amo muito vocês!

As minhas amigas, Graziela Cavalcante, Joyci Queiroga, Lilian Figueirôa, Eva Coura, pela amizade de vocês, sem o apoio, sem o carinho e amor de vocês teria sido difícil chegar até aqui. Obrigada por me aguentarem com meus aperreios, com minhas angústias e pela palavra amiga que sempre me deram quando mais precisei. Desculpa pela ausência, e que apesar da distância nossa amizade só tende a crescer. Amo muito vocês, minhas miguinhas, minhas pretinhas que estão no meu coração!

A minha amiga querida Andressa Pedroza, minha irmã do coração, você foi uma amiga ímpar. Sempre que precisei esteve ao meu lado, me apoiando e me ouvindo. Muito obrigada pela força, apoio e conselhos. Amo muito e você é especial pra mim.

AGRADECIMENTOS

A Deus, presença forte em mim. Pelo dom da vida, por ser meu chão e não me deixar cair nos momentos de fraqueza. Por ser meu escudo e proteção quando tentaram me atingir. A Nossa Senhora, minha devoção, por sempre me abençoar e proteger com seu manto protetor.

A minha orientadora Dra. Marta Regina Kerntopf, pela oportunidade que me deste para realizar o meu sonho, pela orientação, por sua competência e conhecimento a nós transmitido, por não ter medido esforços para a realização da minha pesquisa, por toda paciência que teve comigo, pelos conselhos de mãe para me tornar uma pessoa e uma aluna melhor. Muitíssimo Obrigada!

Ao meu co-orientador, Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe, pela sua competência, pelos seus conhecimentos a nós transmitidos, por se fazer presente, mesmo que a distância, na nossa pesquisa colaborando em tudo. Obrigada pelo apoio, pela ajuda e por acreditar em mim!

Ao professor Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes, por sua colaboração na pesquisa, por ter ajudado na pesquisa com seu conhecimento. Obrigada!

Ao Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN) coordenado pelo professor José Galberto Martins da Costa, pela realização da prospecção fitoquímica e aos alunos pela disponibilidade de ajudar. Obrigada!

Ao professor Dr. Giovany Michely Pinto da Cruz por aceitar em participar da banca de qualificação, pelas suas valorosas considerações. Obrigada!

A professora Dra. Roseli Barbosa, pela pessoa maravilhosa e carismática que és. Obrigada por tudo!

Ao Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM) coordenado pelo professor Dr. Henrique Douglas, pela realização dos testes microbiológicos e aos alunos por terem se mostrado dispostos a ajudarem sempre. Obrigada!

A Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte – FMJ, em nome da Dra. Glauce Viana, pelo fornecimento dos animais e por nos ceder o espaço para a realização do teste de dosagem de catecolaminas, em especial a seu Francisco do biotério e a Janice do laboratório de farmacologia pela ajuda.

A Universidade Federal de Santa Maria-RS, pela ajuda nos testes realizados de cromatografia dos extratos e da dosagem de catecolaminas, em especial a Aline Augusti Boligon e a Margareth Linde Athayde. Obrigada!

Ao Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima – HCDAL, coordenado pela professora Dra. Maria Arlene Pessoa, pela identificação do espécime botânico.

A minha querida Ana Luíza de Albuquerque Siebra, que não tenho nem palavras para explicar a nossa amizade, a nossa afinidade é imensa. E o que seria de nós sem a *Passiflora* hein?! Amiga, obrigada por tudo, por me ajudar nos momentos difíceis, pelos conselhos, pelos momentos de alegria, e por toda ajuda que me destes. Você é muito especial pra mim. E ao seu esposo David Siebra, pela amizade e pelo apoio.

Ao meu querido Valter, o que seria de mim sem você hein?! Você foi meu braço direito na pesquisa, me ajudou em tudo, cuidou de todos os detalhes para que os testes dessem certo. Agradeço também pela sua amizade, pelos conselhos me dado, pela companhia, e por ter me apoiado a chegar até aqui. Obrigada Valtinho!!!

A minha querida Kelly, obrigada por tudo 'Kellytxa', pela amizade, pelo apoio, por ter sido também meu braço direito durante a pesquisa. Por ter me dado conselhos, por muitas vezes escutar meus apereios, meus medos. Obrigada!!!

A Daniele, minha 'Maria' do coração, que foi a minha base e meu espelho para a realização da pesquisa, você foi uma amiga sem explicação. Devo muito a você, por tudo que me ensinaste. Muito obrigada por tudo Dani!

A Álefe, meu querido bolsista de IC. Sem palavras para explicar a nossa amizade, obrigada por tudo! Você foi também essencial para os testes serem realizados, esteve presente na maioria dos testes, e sempre disposto a ajudar em tudo. Você é especial pra mim.

A Anita Oliveira, Zé obrigada pela amizade, por todo carinho, pelos momentos de alegrias, pelos conselhos dados. Por toda ajuda a mim dada antes mesmo de entrar no mestrado e de nossa amizade se solidificar ainda mais. Obrigada também a André, seu esposo pela amizade e pelo apoio.

A amiga Silvana, nossa querida Silvaninha, obrigada por tudo amiga, pelo apoio, pelo carinho, os conselhos dado e sempre torcer por nós!

Aos 'pés', Sharlene, Cinara, Andreza e Luiz Jardelino, pela amizade e pelo apoio de vocês...Obrigada pelos momentos de descontração.

Aos colegas do LFQM, por terem ajudado durante a realização dos testes, pela amizade, pelos momentos de descontração, em especial a Gerlânia, Laura, Renata, Rodolpho, Cristina, Érika, Luiza, Emmily, Thales, Démonthier, Denício. Obrigado mesmo!

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Bioprospecção Molecular, pelos ensinamentos a nós transmitidos. Muito obrigada!

As secretárias do Mestrado, Andecieli e Lenira, por sempre estarem disposta a nos atender e nos ajudar. Obrigada por tudo!

A minha turma de mestrado 2012.1, pela amizade de vocês.

A CAPES, CNPq e FUNCAP pelo apoio financeiro, para a realização da pesquisa.

A todos que me ajudaram direta e indiretamente, obrigada por tudo! Estão em meu coração!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	10
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE TABELAS	14
RESUMO	15
ABSTRACT	16
1. INTRODUÇÃO	18
2. REFERENCIAL TEORICO	22
2.1. FAMILIA PASSIFLORACEAE.....	22
2.2. <i>PASSIFLORA CINCINNATA</i> MASTERS IN GARDEN, CHRON.....	39
3. OBJETIVOS	43
3.1 OBJETIVO GERAL.....	43
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	43
4. METODOLOGIA	45
4.1 MATERIAL.....	45
4.1.1 Material vegetal e Identificação do Espécime Botânico	45
4.1.2 Drogas e reagentes	46
4.1.3. Animais e aspectos éticos da pesquisa	48
4.2. MÉTODOS.....	49
4.2.1. Obtenção do Extrato Hidroalcoólico das Folhas de Passiflora Cincinnata	49
4.2.2. Prospecção fitoquímica do EHFPC	51
4.2.3. Protocolo para determinação da DL₅₀, Testes Comportamentais e neuroquímico	53
4.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.....	62
5. RESULTADOS	64
5.1. PROSPECÇÃO QUÍMICA DO EHFPC.....	64
5.2. DETERMINAÇÃO DA DL ₅₀ E TESTE HIPOCRATICO DE MALONE.....	66
5.3. TESTES COMPORTAMENTAIS.....	68
6.DISSCUSSÃO	99
7.CONCLUSÃO	117
REFERÊNCIAS	120
ANEXOS	135
APÊNDICES	145

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

5-HIAA - Ácido 5-hidroxi-indolacético

AMPARs – Receptores α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol

ANOVA - Análise de variância

ATC's - Antidepressivos tricíclicos

AVE – Acidente vascular encefálico

CA - Campo aberto

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência

COMT - Catecol-O-metiltransferase

DOPAC - Ácido dihidroxifenilacético

DS- Duração do Sono

DZP – Diazepam

EHFPC- Extrato hidroalcoólico das folhas de *Passiflora cincinnata*

EPM. - Erro padrão da média

FLU - Flumazenil

GABA - Ácido gama aminobutírico

GABA_A - Receptor do ácido gama-aminobutírico do tipo A

GABA_B - Receptor do ácido gama-aminobutírico do tipo B

HVA - Ácido homovanílico

i.p. – Intraperitoneal

IMIP - Imipramina

LS – latência de sono

MAO - Monoamina oxidase

NC - Número de cruzamentos

NE - Norepinefrina

NEBA - Número de entradas nos braços abertos

NEBF - Número de entradas nos braços fechados

NG - Número de *grooming*

NMDA - N-metil-D-Asparato

NR- Número de *rearing*

OMS - Organização Mundial de Saúde

OXO - Oxotremorina

PTB - Pentobarbital sódico

PTZ - Pentilenotetrazol

r.p.m - Rotações por minuto

TCE – Traumatismo crânio-encefálico

TI - Tempo de imobilidade

TPBA - Tempo de permanência nos braços abertos

TPBF - Tempo de permanência nos braços fechados

TS – Tempo de sono

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Localização da Chapada do Araripe – Crato-CE.	18
Figura 2. Características morfológicas da família <i>Passifloraceae</i>	23
Figura 3: Ramos da <i>Passiflora Cincinnata</i> Mast.	40
Figura 4. Localização geográfica do Sítio Barreiro Grande, município de Crato-CE.	45
Figura 5: Exsicata da espécie depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima.	46
Figura 6: Fluxograma do Preparo do EHFPC	50
Figura 7: Campo Aberto	56
Figura 8: Labirinto em Cruz Elevado	57
Figura 9: Demonstração do teste de tempo de sono	57
Figura 10: Cilindro do teste de nado forçado	58
Figura 11: Campo aberto usado no teste de acinesia	59
Figura 12: Campo aberto usado nos testes de convulsão	60
Figura 13: Campo aberto usado no teste de tremores por oxotremorina.	61
Figura 14: Perfil de compostos fenólicos e flavonóides do extrato das folhas de <i>P. cincinnata</i> por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	65
Figura 15: Efeito do EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de cruzamentos (NC) de camundongos submetidos ao campo aberto.	69
Figura 16: Efeito do EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de <i>Grooming</i> (NG) de camundongos submetidos ao campo aberto.	70
Figura 17: Efeito do EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de <i>Rearing</i> (NR) de camundongos submetidos ao campo aberto	71
Figura 18: Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre o número de entradas nos braços abertos do labirinto em cruz elevado	74
Figura 19: Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre o número de entradas nos braços fechados do labirinto em cruz elevado	75
Figura 19: Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre o número de entradas nos braços fechados do labirinto em cruz elevado	76
Figura 21: Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre o tempo de	77

permanência nos braços fechados do labirinto em cruz elevado	
Figura 22: Efeito do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a latência de sono em camundongos tratados com pentobarbital (40 mg/kg, i.p.).	79
Figura 23: Efeito do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a duração do sono em camundongos tratados com pentobarbital sódico (40 mg/kg, i.p.).	80
Figura 24: Efeito do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a Latência de Imobilidade.	82
Figura 25: Efeito do EHFPC (1 e 100 mg/Kg, i.p.) em associação com antidepressivos padrões sobre a Latência de Imobilidade.	83
Figura 26: Efeito do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre o número de cruzamentos na acinesia induzida por reserpina.	85
Figura 27: Efeito do EHFPC (50 e 100mg/Kg, i.p.) sobre a latência da primeira convulsão em camundongos tratados com pentilenotetrazol (PTZ).	87
Figura 28: Efeito do EHFPC (50 e 100mg/Kg, i.p.) sobre a latência da primeira convulsão em camundongos tratados com pentilenotetrazol (PTZ).	88
Figura 29: Efeito do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a latência da primeira convulsão de camundongos tratados com pilocarpina (400 mg/kg, i.p.).	90
Figura 30: Efeito do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a latência de morte em camundongos tratados com pilocarpina (400 mg/kg, i.p.).	91
Figura 31: Efeito do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a intensidade dos tremores em camundongos tratados com oxotremorina (0,5 mg/kg, i.p.).	93
Figura 32. Quantificação de catecolaminas (Dopamina) em corpo estriado de camundongos tratados com EHFPC (100 mg/Kg, i.p.).	95
Figura 33. Quantificação do metabólito (Dopac) em corpo estriado de camundongos tratados com EHFPC (100 mg/Kg, i.p.).	96
Figura 34. Quantificação de catecolaminas (Noradrenalina) em corpo estriado de camundongos tratados com EHFPC (100 mg/Kg, i.p.).	97

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1: Principais alterações comportamentais registradas em camundongos decorrentes da administração do EHFPC via intraperitoneal.	63
Tabela 1: Espécies de <i>Passifloras</i> e testes farmacológicos.	26
Tabela 2: Drogas e reagentes utilizados	46
Tabela 3: Constituintes específicos para coloração em determinado meio.	51
Tabela 4: Constituintes específicos para coloração referente ao meio.	51
Tabela 5: Resultado da Prospecção Fitoquímica do EHFPC (Extrato Hidroalcolico das Folhas de <i>Passiflora Cincinnata</i>).	60
Tabela 6: Quantificação dos compostos fenólicos e flavonóides do extrato das folhas de <i>P. cincinnata</i> por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência(CLAE).	62

RESUMO

O gênero *Passiflora* comporta mais de 500 espécies, dentre estas algumas são descritas em farmacopéias de diversos países por apresentar atividade ansiolítica e sedativa. Na região do Cariri, *Passiflora cincinnata* Mast. conhecida popularmente como maracujá-bravo e demais localidades como maracujá-do-mato. A *Passiflora cincinnata* ainda é pouco estudada do ponto de vista químico, farmacológico e toxicológico. O presente trabalho teve como objetivo identificar a constituição química, além avaliar os possíveis efeitos centrais do extrato hidroalcoólico das folhas de *Passiflora cincinnata* (EHFPC) através de testes comportamentais e neuroquímicos em camundongos. A fitoquímica do extrato indicou a presença de flavonóides e taninos. A técnica da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) confirmou e revelou a presença dos metabólitos secundários: ácido caféico, ácido gálico, ácido clorogênico, rutina, quercetina, caempferol, catequina, epicatequina, quercitrina e ácido elágico. O EHFPC apresentou baixa toxicidade *in vivo* e sua DL₅₀ é superior a 5000 mg/kg via intraperitonealmente. No teste hipocrático o extrato apresentou importante efeito depressor do SNC. Nos testes comportamentais, o efeito sedativo do extrato foi confirmado nas doses de 25, 50, 100, 200 e 400 mg/kg, ao reduzir significativamente o número de cruzamentos (NC), de *grooming* (NG) e *rearing* (NR) no campo aberto (CA). No teste para avaliação da atividade ansiolítica (Labirinto em Cruz Elevado – LCE), o efeito ansiolítico do extrato foi observado na dose de 100 mg/kg, ao aumentar o número de entradas (NEBA) e o tempo de permanência (TPBA) dos animais nos braços abertos, de forma semelhante ao diazepam. Esse efeito foi parcialmente revertido pelo flumazenil, antagonista benzodiazepínico, indicando que o extrato parece envolver a interação com o receptor GABA_A. O extrato também apresentou efeito hipnótico na dose de 400 mg/kg diminuindo a latência do sono e aumentando a duração do mesmo em animais pré-tratados com pentobarbital sódico. O efeito depressor central e neuroprotetor do EHFPC também foi observado em modelos de convulsão induzida por pentilenotetrazol (PTZ) e pilocarpina (PILO). No primeiro modelo, a dose de 100 mg/kg aumentou a latência para a primeira convulsão e prolongou o tempo de morte dos animais pré-tratados com PTZ. No modelo de convulsão induzida por PILO, um efeito semelhante foi observado com a dose de 50 mg/kg do extrato. Neste último caso, o efeito anticonvulsivante foi potencializado na presença de atropina, sugerindo que este efeito seja da interação de um ou mais componentes do extrato com o sistema colinérgico, em que no teste de tremores induzidos por oxotremorina, pode confirmar que o EHPFC age no sistema colinérgico. No teste de nado forçado, o EHFPC, na dose de 100 mg/kg, reduziu o tempo de imobilidade dos animais; este efeito foi potencializando na presença de antidepressivos clássicos como imipramina, fluoxetina e bupropiona. No teste da acinesia induzida por reserpina, a dose de 25 mg/kg do extrato foi mais eficaz e aumentou o número de cruzamentos dos camundongos. Estes resultados indicam que o efeito tipo antidepressivo pode estar associado ao aumento da concentração de monoaminas (noradrenalina e dopamina) no sistema nervoso central dos animais tratados com o EHFPC, que foi confirmada pela análise do conteúdo de monoaminas e metabólitos no corpo estriado de camundongos tratados com a dose de 100 mg/kg do extrato. A técnica da CLAE revelou um aumento nos níveis estriatais de noradrenalina e dopamina, corroborando com os efeitos comportamentais do extrato. Estes resultados sugerem que o efeito central do EHFPC parece depender da interação de um ou mais componentes do extrato com os sistemas GABAérgico, colinérgico e monoaminérgico.

Palavras-chaves: *Passiflora cincinnata*, maracujá, flavonóides, ansiedade, depressão, convulsão.

ABSTRACT

The genus *Passiflora* includes more than 500 species, some of which are described in various pharmacopoeias of several countries as having anxiolytic and sedative activities. In Cariri, *Passiflora cincinnata* Mast. is popularly known as maracujá-bravo (especially in the Araripe) or maracujá-do-mato (elsewhere in the region). The *Passiflora cincinnata* is still little studied from the point of view of its chemistry, pharmacology and toxicology. Thus, the present study aimed to identify the chemical constitution of the species, besides assessing the possible central effects of the hydroalcoholic extract of leaves of *Passiflora cincinnata* (EHFPC) through behavioral and neurochemical tests in mice. The phytochemical analysis of the extract indicated the presence of flavonoids, saponins and tannins. The technique of high performance liquid chromatography (HPLC) confirmed the previous findings and revealed the presence of the following secondary metabolites: caffeic acid, gallic acid, chlorogenic acid, rutin, quercetin, kaempferol, catechin, epicatechin, quercitrin and ellagic acid. The EHFPC showed low toxicity in vivo and its LD₅₀ was found to be greater than 5000 mg/kg when administered intraperitoneally. In Hippocratic test the extract showed significant CNS depressant action. This effect was investigated using specific behavioral tests. Initially, in the open field test (OF), the sedative effect of the extract was confirmed at doses of 25, 50, 100, 200 and 400 mg/kg, by significantly reducing the number of crossings (NC), grooming (NG) and rearing (NR) of mice. In the test for evaluating anxiolytic activity (elevated plus maze - LCE), the anxiolytic effect of the extract was observed at a dose of 100 mg/kg, as it increased the number of entries (NEOA) and length of the time spent (TSOA) by the animals in open arms of the apparatus in a manner similar to diazepam. This effect was partially reversed by flumazenil, a benzodiazepine antagonist, indicating that the anxiolytic effect of the extract appears to involve the interaction with the GABA_A receptor. The extract also showed hypnotic effect at a dose of 400 mg/kg as it decreased the sleep onset and increased its duration in animals pretreated with sodium pentobarbital. The depressant (and neuroprotective) effect of EHFPC effect was also observed in models of pentylenetetrazol (PTZ) and pilocarpine (PILO) induced seizure. In the first model, a dose of 100 mg/kg was more effective in increasing the onset for the first seizure and extend the time of death of PTZ-pretreated animals. In PILO-induced seizure model, a similar effect was observed with the dose of 50 mg/kg of the extract. In the latter case, the anticonvulsant effect was potentiated in the presence of atropine, suggesting that this effect is due, at least in part, from the interaction of one or more extract components with the cholinergic system, where in the oxotremorine-induced tremor test can confirm that the EHPFC acts on the cholinergic system. The EHFPC also showed antidepressant-like effect in animal models for antidepressant activity. In the first model EHFPC at a dose of 100 mg/kg reduced the immobility time of the animals as compared to the control group. This effect was potentiated the presence of classical antidepressants like imipramine, fluoxetine and bupropion. In the reserpine-induced akinesia test, the dose of 25 mg/kg of the extract was more effective and increased the number of crossings of the mice as compared to the control group. Taken together, these results indicate that the antidepressant-like effect may be associated with an increase in the concentration of monoamines (dopamine and norepinephrine) in the central nervous system of EHFPC-treated animals. This hypothesis was confirmed by analysis of the content of monoamines and metabolites in the striatum of mice treated with 100 mg/kg of the extract. The HPLC technique revealed an increase in striatal levels of norepinephrine and dopamine, corroborating to the behavioral (antidepressant-like) effects of the extract, as observed in the forced swim and reserpine-induced akinesia tests. These results suggest that the main effect seems to depend on the interaction of one or more components of EHPFC with the GABAergic, cholinergic and monoaminergic systems, which explains at least in part the popular use of the plant for the treatment of disorders of the system central nervous.

Keywords: *Passiflora cincinnata*, passion fruit, flavonoids, anxiety, depression, seizure.

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A região da Bacia do Araripe é muito conhecida por possuir diversos registros fósseis, grande reservatório aquífero e ecossistemas que misturam caatinga, cerrado, cerradão e árvores que se assemelham às encontradas em mata atlântica, o que muitas vezes ocasionam áreas de intensa fragilidade ambiental.

O município de Crato, que pertence a esta região, dispõe oficialmente de duas unidades de conservação federal, a Floresta Nacional do Araripe – FLONA Araripe e a Área de Proteção do Araripe – APA Araripe, protegida pelo Decreto Lei N° 9.226, de 02 de junho de 1946, sendo esta a mais antiga floresta nacional e situa-se no extremo sul do Estado do Ceará (Figura 1), possui área de 38.626,32 hectares (CEARÁ, 2008). A APA Araripe abrange 34 municípios nos Estados do Ceará, Pernambuco e Piauí, e a Floresta Nacional do Araripe – FLONA. (RIBEIRO-SILVA *et al.*, 2012; CEARÁ, 2008).

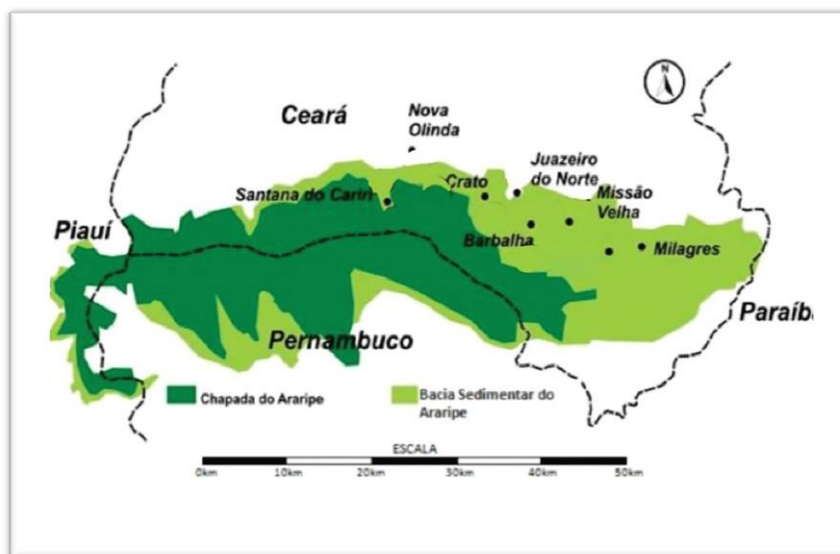


Figura 1: Localização da Chapada do Araripe – Crato-CE.

Fonte: Adaptado de Silveira et al, 2012

Passiflora cincinnata Mast. é uma espécie nativa da caatinga, especialmente do Nordeste brasileiro, com potencial econômico para consumo como alimento funcional, destacando-se entre as demais espécies do gênero *Passiflora* por apresentar maior longevidade e resistência às pragas (bactérias e fungos) (NUNES, 2002; LIMA,

2011). Esta espécie é facilmente encontrada na região do Cariri, principalmente em regiões da Chapada do Araripe.

O uso de plantas medicinais para tratamento de sinais e sintomas de diversas enfermidades refletem a adaptação do homem no manuseio e modificação dos recursos naturais para o seu próprio benefício. Tendo como prática milenar, passada por gerações, a fitoterapia ultrapassou diversas barreiras e obstáculos até a hordienidade, sendo amplamente utilizada pela população mundial como um recurso terapêutico eficaz (MÜLLER, 2006).

As plantas medicinais são importantes fontes de moléculas que podem ser empregadas na produção de novos medicamentos. De fato, muitos estudos etnobotânicos e etnofarmacológicos têm identificado na natureza uma grande diversidade de metabólitos secundários que constituem uma fonte inestimável para obtenção de novos medicamentos (FENNER, 2006, MÜLLER, 2006).

A pesquisa por moléculas derivadas de produtos naturais com potencial atividade sobre o sistema nervoso central tem crescido nos últimos anos. Apesar de serem facilmente encontrados na natureza, a dificuldade em padronizar métodos que garantam um controle e qualidade no uso de produtos de origem natural torna difícil estabelecer uma utilização terapêutica racional desses compostos. Muitas plantas citadas nos manuais de fitoterapia ainda não foram estudadas a fundo e ainda carecem de mais pesquisas que esclareçam a relação entre a composição química e mecanismo de ação dos seus constituintes relacionados (COLETA, 2008).

A utilização de agentes psicoativos derivados de produtos naturais para aliviar transtornos do SNC vem desde os primórdios da humanidade. Esses agentes produzem efeitos no sistema nervoso central sobre a emoção, cognição e consciência humana. No mundo há uma grande variedade de plantas com atividade psicoativa e várias espécies fornecem uma ampla quantidade de substâncias úteis que possam originar novos compostos farmacêuticos para o tratamento de distúrbios psicológicos. Os transtornos mentais são decorrentes de alterações neuroquímicas e, com a finalidade de tratar esses transtornos, muitos estudos têm sido realizados com plantas com potencial efeito sobre o sistema nervoso (SENA, 2009). Neste contexto, muitos

pesquisadores têm isolado metabólitos secundários visando a elucidação de seus possíveis mecanismos de ação e a influência destas substâncias sobre diferentes vias de neurotransmissão (SENA, 2009).

Algumas plantas já tem seu uso padronizado e são utilizadas como fitoterápicos para o tratamento de alguns transtornos psiquiátricos, devido às propriedades sedativa e ansiolítica, tais como a *Hypericum perforatum* (erva-de-São-João), *Ginkgo biloba* (ginkgo), *Panax ginseng* (ginseng), *Melissa officinalis* (melissa), *Crataegus oxyacantha* (pilriteiro ou crataego), *Piper methysticum* (kava-kava), *Tilia europaea* L (Tília) e diferentes espécies de *Passiflora* (maracujá) (SENA, 2009; COLETA *et al*, 2001).

Plantas do gênero *Passiflora* são usadas popularmente como ansiolítico e sedativo. *Passiflora actínia*, *Passiflora alata*, *Passiflora edulis*, *Passiflora incarnata*, e *Passiflora quadrangularis* são as mais espécies mais estudadas, sendo a *P.alata* a única espécie citada na Farmacopéia Brasileira como planta oficial nas 1ª, 2ª e 3ª edições. A *P. incarnata* está presente na composição de diversos medicamentos fitoterápicos de uso comercial no Brasil como calmante, sendo a espécie que possui maior número de estudos quanto a ação no sistema nervoso central (PROVENSI, 2007).

Devido à alta incidência de ansiedade, depressão e distúrbios do sono na população, o interesse da indústria farmacêutica em desenvolver novas drogas a partir de compostos isolados de plantas medicinais brasileiras aumentou nos últimos anos. O gênero *Passiflora* tem sido alvo de muitos destes estudos que vislumbram seu potencial para o desenvolvimento de fármacos ansiolíticos e hipnótico-sedativos (SENA, 2009).

Referencial Teórico

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 FAMÍLIA *PASSIFLORACEAE*

Nos séculos XVI e XVII a família Passifloraceae teve a sua primeira citação (a beleza de suas flores chamou atenção dos colonizadores). Em 1605, o Papa Paulo V recebeu uma planta e plantou-a em Roma, acreditando que a mesma representava uma revelação divina, pois escritores da época recitavam que a flor representava os três cravos usados na crucificação de Cristo e, por isso, a planta é conhecida como flor-da-paixão (CERVI, 1997 e NUNES, 2002). A figura 2 representa um exemplar da família *Passifloraceae* apresentando características morfológicas que evidenciam aspectos das plantas do gênero *Passiflora*.

A família *Passifloraceae* possui cerca de 20 gêneros e 650 espécies, nativas de regiões de clima tropical e subtropical, ocorrendo principalmente nas Américas, Ásia e Austrália. Suas espécies são caracterizadas por lianas, herbáceas, trepadeiras, lenhosas com gavinhas, flores solitárias ou inflorescência cimosas, frutos comestíveis e a sua maioria possui propriedades terapêuticas. (BRIZYCK, 1961; CERVI, 1997; NUNES, 2002). Grande parte das espécies pertence ao gênero *Passiflora* L. com cerca de 500 espécies, das quais 370 ocorrem somente no continente americano. Considera-se que a família pertence à ordem Malpighiales (BENTHAM E HOOKER, 1865; MASTERS, 1871). Há atualmente, cerca de 79 espécies do gênero *Passiflora* no Brasil, distribuídas em sua maior parte nos estados brasileiros de São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (PROVENSI, 2007).

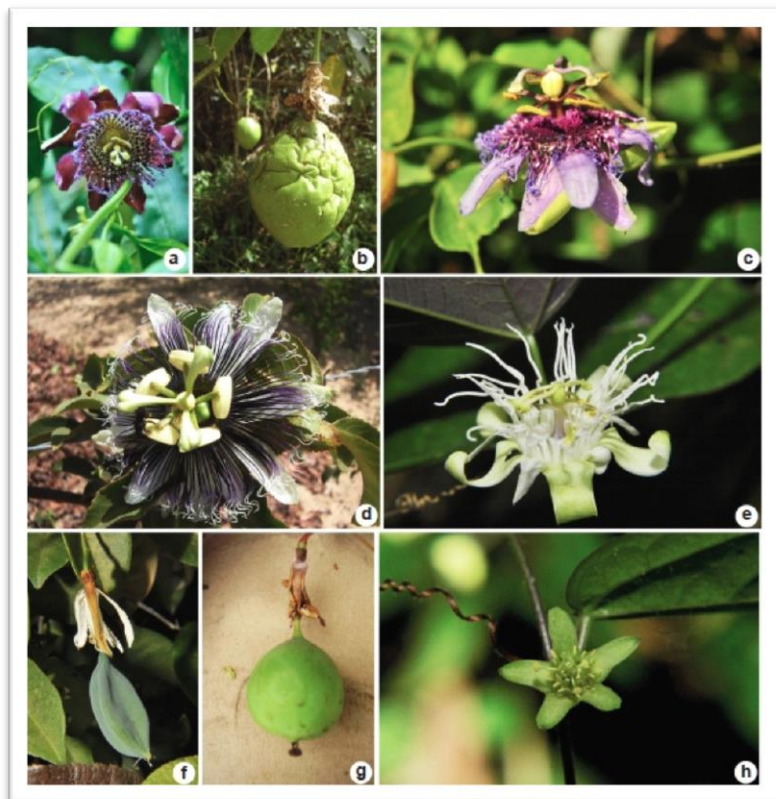


Figura 2: Características morfológicas da família *Passifloraceae*

a-b: *Passiflora alata* (a-flor; b-fruto); c: *Passiflora cincinnata* (flor); d: *Passiflora edulis* (flor); e: *Passiflora misera* (flor); f: *Passiflora silvetris* (fruto imaturo); g: *Passiflora watsoniana* (fruto); h: *Passiflora suberosa* (flor). Fonte: ARAÚJO & ALVES, 2013.

As *Passifloras* são caracterizadas por serem trepadeiras de caule frequentemente sulcado. Em algumas espécies as folhas têm características arredondadas, já em outras espécies, as folhas são profundamente partidas, com bordos serrados. Suas flores são grandes, de coloração vistosa que variam de branco-esverdeada, alaranjada, vermelho ou arroxeadas, dependendo da espécie. O período de floração varia de dezembro a abril. O fruto possui característica arredondada, de coloração verde, amarelada, alaranjada ou com manchas verde-claras, variando também de acordo com a espécie. As sementes são achatadas, pretas, envolvidas por um arilo de textura gelatinosa de coloração amarelada e translúcida (BARBOSA, 2006).

Do ponto de vista químico, as partes aéreas de espécies do gênero *Passiflora* possuem como principais metabólitos secundários os alcalóides e flavonóides, além de saponinas, taninos, aminoácidos, lignanas, ácidos graxos, glicosídeos cianogênicos, maltol e esteróides. (MULLER, 2006). Os alcalóides não são os constituintes predominantes nestas espécies e os flavonoides (em especial os C-glicosilados) são de grande importância para o controle de qualidade de fitoterápicos, uma vez que possibilitam a identificação de espécies de *Passiflora* (MULLER, 2006; BARBOSA, 2006). Oga e colaboradores (1984), através da técnica da Cromatografia de Camada Delgada (CCD), identificaram a presença dos seguintes flavonoides na *P. alata*: orientina, isorientina, vitexina, isovitexina e rutina. Estudos realizados com as espécies *P. incarnata*, *P. edulis*, *P. alata* e *P. quadrangularis*, identificaram outros flavonóides, a saber: vitexina, isovitexina, orientina e isorientina.

As plantas do gênero *Passiflora*, conhecido no Brasil como maracujá, destacam-se pelo fato de apresentarem várias atividades farmacológicas. As partes aéreas são tradicionalmente empregadas por suas propriedades sedativa, ansiolítica e anti-espasmódica. No Brasil, algumas espécies de *Passiflora* apresentam frutos comestíveis, a saber: *Passiflora edulis* (casca roxa), a *Passiflora alata* Dryander (maracujá-doce) e *Passiflora edulis* variedade *flavicarpa* (casca amarela); esta última é conhecida popularmente como maracujá amarelo ou maracujá de suco e representa a espécie de maior cultivo e comercialização no Brasil. No entanto, é importante ressaltar que nem todas as espécies são comestíveis, pois possuem elementos tóxicos (BARBOSA, 2006; MULLER, 2006).

Atualmente, um número considerável de espécies de *Passifloras* é utilizado como drogas officinais em farmacopéias de diversos países (BARBOSA, 2006), devido às propriedades sedativa e ansiolítica, comuns ao gênero em questão. Um exemplo disso é a *P. incarnata*, cujo uso é descrito nas farmacopeias da Suíça, França, Egito e Alemanha. Esta espécie, entretanto, é pouco difundida pelo Brasil por possuir sabor amargo, mas se adapta bem ao clima tropical brasileiro (VILLAS-BÔAS, 2007).

Segundo ZUANAZZI *apud* SIMÕES (2000) e SENA (2009), o gênero *Passiflora* (maracujá) possui as seguintes atividades farmacológicas (já testadas em modelos experimentais): calmante, sedativa, antiespasmódica, ansiolítica e hipnótica.

Estes efeitos farmacológicos parecem ser decorrentes da presença de alcalóides e, principalmente, flavonóides, que apresentam efeito modulador sobre sistema nervoso central (PROVENSI, 2007). Sabe-se que alguns flavonóides que apresentam o núcleo flavona possuem afinidade para receptores benzodiazepínicos (COLETA, 2008), o que pode justificar os efeitos farmacológicos anteriormente citados.

A tabela 1 apresenta um panorama geral dos estudos realizados com diversas espécies de *Passiflora* (*P. actínia*; *P. alata*; *P. cincinnata*; *P. edulis*; *P. edulis* variedade *flavicarpa*; *P. incarnata*; *P. quadrangulares*; *P. serratodigitata*), enfatizando os testes farmacológicos realizados com preparações diversas desses vegetais e seus respectivos efeitos farmacológicos.

Tabela 1: Espécies de *Passifloras* e testes farmacológicos.

ESPÉCIE/ PARTE DA PLANTA	TIPO DE PREPARAÇÃO	TESTE FARMACOLÓGICO	RESULTADOS OBSERVADOS	REFERÊNCIA
<i>P. edulis</i> / folhas	Extrato Aquoso	<ul style="list-style-type: none"> - Campo aberto - teste da catalepsia - tempo de sono induzido por pentobarbital - convulsão por cardizol e por eletrochoque máximo convulsivo (EMC) 	<ul style="list-style-type: none"> - diminuição da movimentação espontânea a partir de 15 minutos. - aumento do tempo de catatonía - aumento do tempo de sono na dose de 20mg/Kg 	Valle e Leite, 1983
<i>P. alata</i> /Folhas	Extrato Aquoso	<ul style="list-style-type: none"> - toxicidade aguda e DL50 - tempo de sono induzido por pentobarbital - convulsões induzidas por pentilenotetrazol - analgesia - atividade locomotora espontânea 	<ul style="list-style-type: none"> - presença de alcaloides do tipo Harmana, vitexina, isovitexina e isorientina na fração rica em flavonoides - efeito letal em doses superiores a 432 mg/kg (morte em 24 h) - DL50: 456mg/kg - aumento tempo de sono e diminuição da latência - atividade anticonvulsivante (aumento da latência e aumento do tempo de vida) - sem efeito analgésico - 150 mg/kg reduziu atividade motora, antagonizada por anfetamina 	Oga <i>et al</i> , 1984

<i>P. incarnata</i> / folhas e talos	Extrato Etanólico; fração de éter de petróleo; fração butanólica; fração aquosa.	<ul style="list-style-type: none"> - teste tail flick - teste da placa quente - vocalização - limiar convulsivo PTZ - sono barbitúrico - locomoção em caixa de atividade - toxicidade aguda 	<ul style="list-style-type: none"> - aumento da latência para convulsão e sobrevivência - aumento da latência para reação à dor - aumento tempo de sono (só a fração III que não obteve o aumento do sono) - diminuição da locomoção caixa atividade - toxicidade aguda > 900 mg/kg 	Speroni e Minguetti, 1988
<i>P. edulis</i> / folhas	Extrato aquoso e chás	<ul style="list-style-type: none"> - sono barbitúrico - teste da barra giratória - eletrocorticograma - convulsão induzia por PTZ - toxicologia - efeito hipnótico humano agudo - toxicologia Humana 	<ul style="list-style-type: none"> - chá via i.p. aumento do tempo de sono - não houve alteração no rota-rod - não houve alterações EEG - não houve efeito nas convulsões por PTZ - aumento das enzimas séricas após tratamento 60 dias - alterou algumas medidas séricas em voluntários - sem efeitos hipnóticos em voluntários - sem alteração ECG voluntários 	Maluf <i>et al</i> , 1991
<i>P. incarnata</i> / partes aéreas	Extrato etanólico; Extrato seco; multifrações	<ul style="list-style-type: none"> - atividade locomotora espontânea (caixa de atividade) - sono barbitúrico - limiar convulsivo e morte por PTZ 	<ul style="list-style-type: none"> - etanólico diminuição da atividade na dose de 125mg/Kg i.p. e na dose de 250mg/Kg v.o. - multifração: diminuição da atividade na dose de 60 mg/kg - multifração: aumento do tempo de sono dose de 60 mg/kg 	Speroni <i>et al</i> , 1996

		- multifração: aumento da latência início convulsões		
<i>P. incarnata</i> /partes aéreas	Extrato hidroetanólico; extrato aquoso; mistura de compostos purificados da planta	<ul style="list-style-type: none"> - teste da escada (hidroetanólico e aquoso doses: 3,6,25,100,400 e 800 mg/kg; alcaloides+maltol e flavonoides+maltol) - claro-escuro (hidroetanólico doses: 100,200,400 e 800 mg/kg) - exploração livre (aquoso doses: 25,100,400 e 800 e hidroetanólico dose de 800) - sono por pentobarbital (aquoso e hidroetanólico doses de 400 e 800) 	<ul style="list-style-type: none"> - aquoso: sedativo nas doses 400 mg/kg e 800 mg/kg (diminuição da atividade no staircase e na exploração livre) - aquoso: aumento do tempo de sono na dose 800 - flumazenil não modificou a atividade do extrato no teste da escada - hidroetanólico: sem efeitos sedativos; aumento do tempo e levantamentos no claro e atividade na dose 400 mg/kg - as misturas de alcaloides e flavonoides com maltol não exibiram nenhum efeito no teste da escada 	Soulimani <i>et al</i> , 1997
<i>P. incarnata</i> / não citou	Não indicado	Abstinência a opiáceos	Redução dos sintomas físicos e mentais da abstinência	Akhondzadeh <i>et al</i> , 2001a
<i>P. incarnata</i> /não citou	Não indicado	Transtorno de ansiedade generalizada	<ul style="list-style-type: none"> - eficácia comparada ao oxazepam no TAG - ausência de prejuízos ao 	Akhondzadeh <i>et al</i> , 2001b

<i>P. edulis</i> /folhas	Extrato aquoso	(TAG) - labirinto em cruz elevado - teste do campo aberto - teste do arame	desempenho profissional - a infusão das folhas de <i>P. edulis</i> não apresentou nenhum efeito	Coleta <i>et al</i> , 2001
<i>P. incarnate e P. edulis</i> / partes aéreas	Fração benzoflavona	- labirinto em cruz Elevado	- efeitos de <i>P. edulis</i> e <i>P. incarnata</i> são diferentes - <i>P. incarnata</i> metanólico apresentou efeitos equivalentes aos produzidos por diazepam - <i>P. incarnata</i> é a espécie medicinalmente interessante	Dhawan <i>et al</i> , 2001a
<i>P. incarnata</i> / folhas e pecíolos, talos e gavinhas, flores incluindo botões, raízes	Fração benzoflavona	- labirinto em cruz Elevado	- as raízes de <i>P. incarnata</i> , por serem desprovidas de efeitos, agem como adulterantes - presença de flores e talos também é indesejável - somente folhas apresentam resultados tipo-ansiolíticos	Dhawan <i>et al</i> , 2001b
<i>P. incarnata</i> / partes aéreas	Fração benzoflavona	-Labirinto em cruz elevado	-extrato metanólico aumentou a atividade ansiolítica na dose de 100mg/Kg	Dhawan <i>et al</i> , 2001c
<i>P. alata e P. edulis</i>	Extrato aquoso	- cromatografia - labirinto em cruz Elevado	- espectro UV de <i>P. edulis</i> e <i>P. alata</i> similares - <i>P. edulis</i> : quase 2 x mais flavonóides que <i>P. alata</i>	Petry <i>et al</i> , 2001

			<ul style="list-style-type: none"> - <i>P. edulis</i>: vitexina, isovitexina, orientina e isorientina. <i>P. alata</i> não - triterpenoides somente em <i>P. alata</i> - sem crisina - <i>P. alata</i> (100 e 150 mg/kg) e <i>P. edulis</i> (50, 100 e 150 mg/kg) aumento tempo nos braços abertos 	
<i>P. edulis</i> /folhas	Extrato hidroetanólico	<ul style="list-style-type: none"> - teste do campo aberto - sono induzido por pentobarbital - teste da catatonía 	<ul style="list-style-type: none"> - diminuiu locomoção - aumentou o tempo de sono apenas no tratamento ip - produziu catatonía -efeito depressor central 	Bruschi et al, 2002
<i>P. alata</i> e <i>P. edulis</i> /folhas	Extrato aquoso	<ul style="list-style-type: none"> - CLAE - labirinto em cruz Elevado 	<ul style="list-style-type: none"> - □ aumento tempo braços abertos (maiores doses) - aumento número de entradas braços abertos (maiores doses) - atividade tipo-ansiolítica - EA das folhas de <i>P. edulis</i> com o dobro de flavonoides de <i>P. alata</i> 	De-Paris et al, 2002
<i>P. incarnata</i> /partes aéreas	Fração benzoflavona	<ul style="list-style-type: none"> - tratamento crônico com etanol e labirinto 	<ul style="list-style-type: none"> - preveniu a dependência ao álcool e diminuiu a ansiedade após a abstinência - diminuição do desenvolvimento e da expressão da dependência - animais tratados não manifestaram comportamento de desejo do álcool 	Dhawan et al, 2002a

<i>P. incarnata</i> /partes aéreas	Fração benzoflavona	- tratamento durante 6 dias com a9-THC	- animais que receberam a fração desenvolveram menos tolerância e dependência - diminuição dos sintomas de abstinência	Dhawan et al, 2002b
<i>P. incarnata</i> /partes aéreas	Fração benzoflavona	- tratamento com DZP durante 21 dias e atividade locomotora	- tratamento repetido com fração (21 dias) não produziu dependência - bloquearam os efeitos de abstinência ao DZP	Dhawan et al, 2003
<i>P. incarnata</i> /não indicado	Extrato seco (cápsulas de Sedaxio® - 200mg)	Ansiedade generalizada e insônia	-efeito ansiolítico com ausência de miorelaxamento.	Anseau, 2004
<i>P. incarnata</i> /não indicado	Não indicado	- transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH)	- Eficácia comparada ao metilfenidato no TDAH -melhora já na segunda semana - ausência de diminuição de apetite e ansiedade - sem diferenças entre os dois grupos nos efeitos colaterais.	Akhondzadeh et al, 2005
<i>P. incarnata</i> /partes aéreas	Extrato etanólico	- hiper mobilidade induzida por anfetamina - sono induzido por pentobarbital	- diminuição da hiperatividade induzida pela anfetamina - kava kava + passiflora diminuiu ainda mais - tempo de sono aumentado em 53%	Capasso e Sorrentino, 2005
<i>P. actínia</i> /folhas	Extrato Hidroetanólico; Extrato metanólico; fração aquosa; frações A e C:	cataplexia induzida por haloperidol	- todos os extratos e frações testados produziram cataplexia na dose de 300 mg/kg, exceto fração aquosa, que produziu na dose de	Santos et al, 2005

			100 mg/kg - efeitos atribuídos à presença de saponinas e não flavonoides	
<i>P. incarnata</i> /partes aéreas	Extrato aquoso	- modelo sono interrompido - registro de EEG e EMG	- extrato de <i>P. incarnata</i> não apresentou efeito nem na latência para o início do sono nem nos padrões de EEG e EMG	Shinomiya et al, 2005
<i>P. edulis</i> /folhas	Infusão aquosa; fração rica em flavonoides.	- labirinto em cruz elevado - análise por CLAE - teste de esconder as esferas - teste do arame para avaliação motora	- resultados significativos após 60 minutos e não significativos após 90 ou 120 min - dose de 230 mg/kg diminuiu o tempo e o número de entradas nos braços abertos; aumentou o tempo gasto em esconder as esferas; sem alterações motoras - a fração rica em flavonoides aumentou o tempo e o número de entradas nos braços abertos na dose de 100 mg/kg e reduziu o tempo gasto em esconder esferas, mas com ligeiro déficit motor	Coleta et al, 2006
<i>P. edulis e P. alata</i> /folhas	Extrato aquoso	- labirinto em cruz Elevado - cromatografias	- <i>P. alata</i> (800 mg/kg) e <i>P. edulis</i> (400 e 800 mg/kg) aumento n° entradas e tempo nos braços abertos - ausência de crisina em ambos os extratos - extratos com perfis diferentes de	Reginatto et al, 2006

			flavonoides - presença da saponina quadrangulosídeo no extrato de <i>P. alata</i> - vitexina e orientina em <i>P. edulis</i> - 2,9% de flavonoides em <i>P. alata</i> e 4% em <i>P. edulis</i>	
<i>P. actínia</i> /folhas	Extrato metanólico; fração hexânica e Extrato aquoso	- labirinto em cruz elevado - teste do campo Aberto	- metanólico (300 e 600 mg/kg) ↓ entrada e tempo nos braços abertos, e levantamentos e cruzamentos no campo aberto (efeito sedativo) - frações A,B,C: ↓ □ atividade geral - aquoso (30 mg/kg): efeito ansiolítico seletivo - efeito ansiolítico e sedativo na dependência do tipo de extrato e da dose	Santos et al, 2006
<i>P. quadrangularis</i> /folhas	Extrato aquoso e hidroetanólico	- avaliação farmacológica geral - labirinto em cruz elevado - teste do campo aberto - teste da placa Perfurada	- flavonoides, alcaloides, taninos e saponinas em ambos os extratos - triterpenos e esteroides só no hidroetanólico - avaliação geral: doses maiores causaram apatia, mas a dose de 250 mg/kg do hidroetanólico aumentou a atividade - campo aberto: aquoso não promoveu alterações;	Castro et al, 2007

			hidroetanólico: diminui o congelamento e aumenta levantamento e ambulação periférica total - placa perfurada: hidroetanólico diminui o tempo e o número de imersões de cabeça	
<i>P. actínia</i> /folhas	Extrato metanólico e Hidroetanólico.	- labirinto em cruz elevado - sono induzido por pentobarbital - esquiva inibitória step down - teste do campo Aberto	- tratamento agudo de HE (300 e 600 mg/kg) e ME (100 e 300 mg/kg): aumento do número de entrada e tempo de permanência nos braços abertos - flumazenil bloqueou os efeitos - trat. repetido ME: aumento da exploração nos braços abertos, mas HE não - ME e HE aumento do tempo de sono (ME +) - sem efeitos no step down - campo aberto: HE (300 mg/kg) diminuição dos levantamentos	Lolli, L.F. et al, 2007
<i>P. incarnate</i> / folhas, frutos e flores	Extrato hidroetanólico	- convulsão por PTZ	- dose de 0,4 mg/kg aumenta a latência e diminui duração das convulsões - dose de 0,2 mg/kg apenas aumenta a latência - ação dose-dependente de proteção às convulsões - flumazenil reverteu os efeitos	Nassiri-Asl et al, 2007

			<ul style="list-style-type: none"> - naloxona reverteu os efeitos apenas na duração, não afetando a latência - papel importante dos receptores BZDs na ação anticonvulsivante e envolvimento de receptores opióides 	
<i>P. alata e P. edulis</i> /folhas	Extrato aquoso	<ul style="list-style-type: none"> - labirinto em cruz elevado - esquiva inibitória - campo aberto 	<ul style="list-style-type: none"> - ambos os extratos aumento do tempo de permanência nos braços abertos - ausência de efeitos sobre a esquiva inibitória - sem alterações no campo aberto - efeito tipo ansiolítico sem prejuízo de processos de memória 	Barbosa et al, 2008
<i>P. incarnata</i> /partes aéreas	Extrato hidroetanólico	<ul style="list-style-type: none"> - Labirinto em cruz elevado - campo aberto - análise por HPLC 	<ul style="list-style-type: none"> - presença dos falovonóides homoorientina, vitexina, isovitexina, orientina - aumento do tempo nos braços abertos do labirinto na dose de 375 mg/kg (curva em U invertido) - flumazenil bloqueou esse efeito e WAY-100635 não bloqueou o efeito - efeitos ansiolíticos mediados pelo sistema GABAérgico 	Grundmann et al, 2008
<i>P. edulis</i> variedade <i>flavicarpa</i> /Partes aéreas	Extrato aquoso	<ul style="list-style-type: none"> - teste da transição claro-escuro; - teste do sono induzido por 	<ul style="list-style-type: none"> - atividade ansiolítica - atividade antidepressiva - atividade neurofarmacológica 	Sena, 2009

		<p>éter;</p> <p>- teste da suspensão pela cauda;</p> <p>- testes das convulsões induzidas por pentilenotetrazol;</p> <p>- análise fitoquímica;</p> <p>- isolamento dos compostos dos extratos que possuem atividade neurofarmacológica;</p>	<p>dos flavonóides C-glicosilados</p> <p>- atividade hipnótico-sedativa sem causar prejuízo motor em camundongos</p>	
<i>P. edulis</i> /cascas	Farinha da casca acrescentada na ração (25%).	- teste de indução de diabetes com estreptozotocina	- redução de 145% dos valores iniciais da glicemia no grupo de animais que receberam dieta contendo farinha do maracujá.	Rockenbach, 2007
<i>P. cincinnata</i> /folhas	Extrato hidroalcolico	- efeito agudo e crônico do extrato sobre o estresse oxidativo em animais submetidos a exercício físico.	- na dose de 200mg/Kg, após 8 dias de tratamento preveniu a lipoperoxidação do aparelho urinário, sanguíneo, hepático e cardíaco. - prevenção de lesões oxidativas e proteínas hepáticas produzidas pelo exercício físico.	Lima, 2011
<i>P. actínia</i> Hooker/ folhas	extrato hidroalcolico; metanólico; sub-extrato metanol-água; fração alcalóide; Fração alcalóide-	- Labirinto em Elevado; - Campo aberto; - Teste de catalepsia	Aumento do tempo braços abertos - Aumento no numero de entradas braços abertos (maiores doses) - atividade tipo-ansiolítica	Santos, 2003

		flavonóide.			
<i>P. alata</i> folhas	Curtis /	Extrato seco, com 2,6 % de flavonoides;	<ul style="list-style-type: none"> - Teste de potencialização do sono barbitúrico; - Teste de locomoção no campo aberto; - coordenação motora; - indução de catatonia; - Labirinto em Cruz Elevado; - Convulsão por PTZ; - Temperatura corporal; -Toxicidade aguda. 	<ul style="list-style-type: none"> - potencializou o tempo de sono; -houve um aumento do tempo de permanência nos braços abertos - sem alterações no campo aberto - efeito tipo neuroprotetor; - baixa toxicidade; - não provocou alterações na temperatura corporal 	Fenner, 2006
<i>P. alata</i> folhas	Curtis/	<ul style="list-style-type: none"> - Extrato hidroalcolico; - Fração de saponinas; - Frações de Flavonóides. 	<ul style="list-style-type: none"> - Tempo de Sono; - Labirinto em Cruz Elevado; - Campo aberto; - Rota Rod; - Convulsão induzida por PTZ. 	<ul style="list-style-type: none"> - potencializou o tempo de sono; - ambos os extratos aumentaram o tempo de permanência nos braços abertos - sem alterações no campo aberto - efeito tipo neuroprotetor; - não apresentou alterações no efeito locomotor 	Provensi, 2007
<i>P. cincinnata</i> Mast./folhas		<ul style="list-style-type: none"> - experimental - fitoquímico - ratos <i>wistar</i> e camundongos <i>swiss</i> - 50, 100 e 200 mg/Kg. 	<ul style="list-style-type: none"> - Toxicidade; - Atividade gastroprotetora; - Cicatrização. 	<ul style="list-style-type: none"> - baixa toxicidade; - atividade gastroprotetora significativa; - atividade cicatrizante 	Siebra, 2013
<i>P. edulis</i> casca do fruto	Sims /	10g da farinha do maracujá na alimentação/dia.	- Teste de toxicidade clínico	- A farinha apresentou baixa toxicidade	Medeiros <i>et al</i> , 2009
<i>P. edulis</i>	Sims /	Extrato etanólico	- DL50;	O Extrato etanólico possui	Rojas <i>et al</i> , 2006.

folhas			-Determinação da hipertensão pela artéria basal através do aparelho LE 5002 Letica.	toxicidade entre 10.000mg/Kg.	
<i>P. edulis</i> Sims / frutas	Extrato liofilizado do suco.		- Testes do efeito anti-hipertensivo	- o Extrato do suco apresentou efeito anti-hipertensivo.	Rojas <i>et al</i> , 2009.
<i>P. serratodigidata</i> Linnaeus./Folhas e caules secos.	-Fração acetato de etila, - extrato hidroetanólico -fração aquosa residual, suspensão de nanopartículas do extrato hidroetanólico e fração acetato de etila (- Edema de pata; - Teste vascular - Atividade gastroprotetora	- Edema de pata; - Aumento da permeabilidade vascular; - Atividade antiúlcera induzida por etanol 60%.	Strasser, 2011
<i>P. edulis</i> Sims /Folhas	Hidroalcoolico		- Análise morfológica do tecido da bexiga em ratos, após procedimento cirúrgico.	- Apresentou um processo de cicatrização significativo	Gonçalves-Filho, 2006

2.2. *PASSIFLORA CININNATA* MASTERS IN GARDNER, CHRON

Passiflora cincinnata Masters in Gardner, Chron foi descrita em 1868 por Masters. e possui várias denominações por parte da população: flor-da-paixão, maracujá, maracujá-brabo, maracujá-cultivado, maracujá-de-boi, maracujá-do-mato e maracujá-muchila (MASTERS, 1871; NUNES, 2002).

Do ponto de vista botânico, *Passiflora cincinnata* apresenta as seguintes características: trepadeira lenhosa; caule cilíndrico, estriado, velutino; gavinhas presentes. Estípulas medindo de 9-10 x 1 mm, persistentes, inteiras, linear-subuladas, margem serrilhada. Pecíolo 1,5 a 5 cm de comprimento; glândulas pateliformes, sésseis, situadas na porção basal do pecíolo; lâmina membranácea, lobada a partida, lobada nas folhas jovens, nervação reticulada; lobos oblongos, ápice mucronulado, margem crenada a serrilhada, face abaxial levemente pubescente a glabra. Pedúnculo 2-8 cm de comprimento, levemente pubescente; brácteas 2,4 x 1,5-2,5 cm, persistentes, verticiladas situadas na porção distal do pedúnculo, foliáceas, oval-lanceolada, com glândulas na base (MASTERS, 1871; CERVI, 1997).

Flores 8-12 cm de diâmetro., solitárias; hipanto ca. 7 mm comprimento, curto-campanulado, glabro; sépalas 2,8-3,2 x 1-2 cm, carnosas, face externa verde, face interna roxa ou violácea, oblongo-lanceoladas, carenadas, aristadas no ápice da carena, corno 2-3 mm de comprimento; pétalas 2,5-3 x 8-10 cm, membranáceas, violáceas, linear-lanceoladas; filamentos da corona em várias séries, violáceos, com faixas rosadas e alvacentas próximas ao meio, os das duas séries mais externas ca. 3,5 cm de comprimento, maiores do que as sépalas, com ápice frisado, os das duas séries mais internas mais curtos, ca. 0,5 cm de comprimento, séries intermediárias com filamentos curtos, azul-claro; opérculo membranoso com ápice filamentosos, branco; anel nectarífero presente, amarelado; límen cupuliforme, envolvendo a base do androginóforo; androginóforo 2-3,5 cm de comprimento, verde-claro com manchas vináceas; filetes verdes, com manchas vináceas; anteras amarelas, com face dorsal verde com manchas vináceas; ovário globoso, verde-claro, glabro; estiletes verdes com manchas vináceas; estigmas verde-escuro. Baga ca. 5 x 3-4 cm, globosa, verde-escuro, glabra. Sementes ca. 5-6 x 4 mm, ovadas, reticuladas, foveoladas (MASTERS, 1871; CERVI, 1997; NUNES 2002). A *Passiflora cincinnata* pode chegar até 4,5 metros de

comprimento, com gavinhas espiraladas. Os frutos são bagas ovóides e suas sementes são ovais e negras (COELHO, 2009).

Passiflora cincinnata é uma espécie com distribuição ampla na América do Sul, do leste do Brasil até o oeste da Bolívia. No Brasil ocorre desde o Pará até São Paulo. É encontrada praticamente em diferentes ecossistemas, mas ocorre preferencialmente nas regiões de capoeiras e vegetação secundária das caatingas, agreste e brejos de altitude do Nordeste nos estados de Alagoas, Bahia, Pernambuco e Paraíba. Floresce durante quase todo o ano. Muito apreciada por seu fruto de sabor agridoce, é muitas vezes cultivada em pequena escala para produção de suco, visando o abastecimento de mercados locais (BARBOSA, 2006; NUNES, 2002). Seu cultivo é vantajoso por sua natureza perene e resistência à seca, desenvolvendo-se nos mais diversos solos da região semiárida, em condições absolutas de sequeiro. Seus frutos, isentos de agrotóxicos e de sabor exótico, já são comercializados em pequenas feiras livres de vários municípios do semiárido brasileiro, embora sua produtividade, de cerca de nove toneladas por hectare seja considerada bem menor do que a do maracujá-amarelo (ARAÚJO, 2007).



Figura 3: Ramos da *Passiflora Cincinnata* Mast. Fonte: Oliveira, L.R. (2013).

A espécie *P. cincinnata* Mast. é polimorfa, com frutos de forma e tamanho variável e ampla distribuição pelo Brasil. Tem sido utilizada por populações tradicionais para fins nutricionais, ornamental e medicinal (ZUCARELLI, 2007) e segundo Oliveira e Ruggiero (2005), têm grande resistência a patógenos sistêmicos que afetam outras espécies de *Passiflora*.

Apesar do amplo uso como anti-inflamatório, anti-hipertensivo, sedativo, hipnótico e antigripal, *P. cincinnata* Mast. é uma espécie presente na Região do Cariri que ainda é pouco estudada do ponto de vista químico, farmacológico e toxicológico. Evidências baseadas na literatura têm apontado os flavonoides como sendo os principais responsáveis pelos efeitos centrais atribuídos às muitas espécies de *Passiflora*. Esta observação, associada ao fato de que os compostos utilizados clinicamente para o tratamento de ansiedade, distúrbios do sono e crises convulsivas, a saber, os benzodiazepínicos, são dotados de importantes efeitos indesejados (relaxamento muscular, amnésia anterógrada, prejuízo no desempenho psicomotor, dependência, incompatibilidade com álcool e tolerância), levou ao desenvolvimento do presente estudo, que vem comprovar a eficácia de *P. cincinnata* Mast. no tratamento de distúrbios do sistema nervoso, através de testes farmacológicos pré-clínicos específicos. Espera-se, portanto, que este trabalho possa contribuir de forma significativa para um melhor conhecimento da espécie e de suas potencialidades terapêuticas, comprovando cientificamente os efeitos farmacológicos já descritos pela população, através da elucidação do possível mecanismo de ação da planta e de possíveis efeitos tóxicos, legitimando, assim, a sabedoria que existe por trás da medicina popular.

Objetivos

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos comportamentais e neuroquímicos da administração aguda do extrato hidroalcoólico das folhas *Passiflora Cincinnata* Mast. em camundongos

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Realizar a prospecção fitoquímica do extrato hidroalcoólico das folhas *Passiflora Cincinnata* Mast. (EHFPC), a fim de identificar os metabólitos secundários presentes no material vegetal;
 - Determinar os principais metabólitos secundários presentes no EHFPC através da técnica da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE);
 - Realizar o teste hipocrático para avaliar o perfil de efeitos obtidos com a administração intraperitoneal de doses crescentes do EHFPC;
 - Determinar a DL_{50} e identificar possíveis sinais de toxicidade aguda em animais tratados com EHFPC;
 - Avaliar os efeitos centrais da administração aguda do EHFPC em camundongos submetidos aos seguintes testes comportamentais: campo aberto (CA), labirinto em cruz elevado (LCE), potencialização do tempo de sono induzido por pentobarbital, convulsões induzidas por pentilenotetrazol (PTZ) e pilocarpina (PILO), tremores induzidos por oxotremorina (OXO), nado forçado (NF) e acinesia induzida por reserpina;
 - Determinar a concentração de monoaminas e metabólitos em corpo estriado de camundongos tratados com EHFPC, através da técnica de CLAE;
 - Sugerir um possível mecanismo que explique as ações centrais do extrato.
-

Metodologia

4. METODOLOGIA

4.1. MATERIAL

4.1.1. Material vegetal e Identificação do Espécime Botânico

O material vegetal (folhas de *Passiflora Cincinnata*) foi coletado na região de cerradão e cerrado, na Chapada do Araripe, em Crato-CE, Brasil, estando de acordo com o processo e licença do SisBio sob N° 33738-2 (Anexo 1). A coleta foi realizada no Sítio/Fazenda Barreiro Grande (07° 21'44,0''S e 39°28'41,0''W, com altitude de 901m acima do nível do mar), situado no município de Crato-CE e com proximidade de 65,9 km do município de Serrita - PE (Figura 4). As informações foram obtidas através de aparelho GPS.



Figura 4: Localização geográfica do Sítio Barreiro Grande, município de Crato-CE.

Fonte: Google Earth, 2013 – acessado em 14 de Junho de 2013.

Uma amostra do vegetal foi selecionada, coleta e identificada com o auxílio de um taxonomista vegetal (DI STASI, 1996). Um exemplar da espécie foi catalogada e depositada no Herbário Cariense Dárdano de Andrade Lima – HCDAL da Universidade Regional do Cariri – URCA registrado sob N° HCDAL 8284 (Figura 5; Anexo 2).



Figura 5: Exsicata da espécie depositada no Herbário Cariense Dárdano de Andrade Lima. Fonte: Oliveira, L.R., 2013.

4.1.2. Drogas e reagentes

Os reagentes de padrão analítico utilizados neste trabalho foram obtidos das companhias *Sigma* (St. Louis, MO, E.U.A.), *Merck* (Darmstadt, Germany), *Reagen* (Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e *Synth* (Diadema, São Paulo, Brasil) e mantidos em condições conforme as informações dos fabricantes. As drogas que foram utilizadas neste trabalho estão listadas na tabela 2, de acordo com sua procedência e uso, respectivamente.

Tabela 2. Drogas e reagentes utilizados

DROGAS/SOLVENTES	PROCEDÊNCIA	USO
Atropina	INC, Biomedicals	Utilizado como antagonista colinérgico muscarínico.
Diazepam	União Química, Brasil	Utilizado como padrão para efeito ansiolítico, hipnótico e anticonvulsivante.
Flumazenil	União Química, Brasil	Utilizado como antagonista benzodiazepínico.
Imipramina	Cristália Farma, Brasil	Utilizado como padrão para efeito antidepressivo.
Pentilenotetrazol	Sigma Chemical, Co, USA	Utilizado como droga convulsivante.
Fluoxetina	Medley, Brasil	Utilizado como droga padrão para efeito antidepressivo.
Bupropiona	Eurofarma, Brasil	Utilizado como droga padrão para efeito antidepressivo.
Oxotremorina	Sigma Chemical, Co, USA	Utilizado como droga agonista muscarínica para indução de tremores.
Pilocarpina	Sigma Chemical, Co, USA	Utilizado como droga convulsivante.
Reserpina	Sigma Chemical, Co, USA	Utilizado como droga padrão para indução da depressão química.
Pentobarbital	Syntec do Brasil/AS, Brasil	Utilizado como anestésico/sedativo/hipnótico para indução do sono.
Álcool etílico PA	-	Solvente utilizado para a formulação dos extratos

4.1.3. Animais e aspectos éticos da pesquisa

Foram utilizadas camundongos *Swiss* albinos fêmeas (*Mus musculus*), com peso médio de 25 g, provenientes do Biotério da Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte (Estácio/FMJ). Os animais foram mantidos no Biotério Experimental da URCA, em conformidade com as normas e procedimentos de biossegurança para biotérios (CARDOSO, 1998-2001) e bioéticas (BAZZANO, 2006), acondicionados em gaiolas de polipropileno em ambiente com temperatura de 23 ± 2 °C, ciclo claro/escuro de 12 h e com água e ração *ad libitum* (LAPA, *et al*, 2008). Todos os experimentos foram realizados de acordo com o *Guide for Care and Use of Laboratory Animals – National Institutes of Health Guide*.

Os protocolos experimentais com animais foram desenvolvidos mediante aprovação do Comitê de Ética. Para tanto, a proposta da pesquisa está em conformidade e foi conduzida em estrita obediência com as normas e diretrizes bioéticas vigentes para ensaios envolvendo seres vivos humanos (Resolução N° 196/1996 e 301/2000 do Conselho Nacional de Saúde – CNS), animais não-humanos (*Guide for the care and use of laboratory animals, do NIH - National Institute of Health-EUA*, 1996; Lei Federal N° 11.794/2008; Princípios Éticos da Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA); e integridade da fauna e flora (Lei Federal N° 9605/1998) (BAZZANO, 2006; MACHADO *et al*, 2006; BRASIL, 2008; BRASIL, 1998). Todos os procedimentos adotados foram estabelecidos de acordo com o decreto n°. 24.645 de 10 de julho de 1934 que asseguram os direitos dos animais, estabelecendo medidas de proteção aos mesmos, e conforme a lei n°. 6.638 de 8 de maio de 1979, que normatiza as práticas didático científicas da vivisseção de animais (BRASIL, 1934; BRASIL, 1979). A Lei 6.638 de 8 de maio de 1979 dispõe sobre a composição do CONCEA, estabelece as normas para o seu funcionamento e de sua secretaria executiva cria o Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais – CIUCA, mediante a regulamentação da Lei 11.794, de 08 de outubro de 2008 (Lei Arouca), que dispõe sobre procedimentos para o uso científico de animais.

O projeto foi submetido à aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da Universidade Regional do Cariri – URCA (CEUA) credenciado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), pelos termos da Portaria 196/96 do

Conselho Nacional de Saúde. Mediante submissão, foi concedida a aprovação do projeto para realização do estudo sob parecer de processo N° 19/2012 (Anexo 3).

4.2. MÉTODOS

4.2.1. Obtenção do extrato hidroalcoólico das folhas de *Passiflora cincinnata*

Inicialmente as folhas de *Passiflora cincinnata* foram lavadas em água corrente a fim de se retirar possíveis sujidades e, em seguida, foram expostas ao sol para secar, posteriormente foram pesadas com aproximadamente 742 gramas e em seguida maceradas. O solvente para obtenção dos extratos foi preparado a partir de água destilada e etanol a 96%, na proporção de 1:1, em quantidade suficiente para que o material seco pudesse ficar totalmente imerso na solução extratora. Em seguida à extração, o material recebeu dupla filtração em camada de algodão, sendo então levado ao rotaevaporador para remoção do solvente etanólico. O material remanescente desta separação foi posto em banho-maria para garantia da eliminação do excedente etanólico e foi posteriormente congelado. Uma vez congelado, o extrato foi levado ao liofilizador e então, seu rendimento foi calculado, totalizando aproximadamente 134g do líofilo (Figura 6).

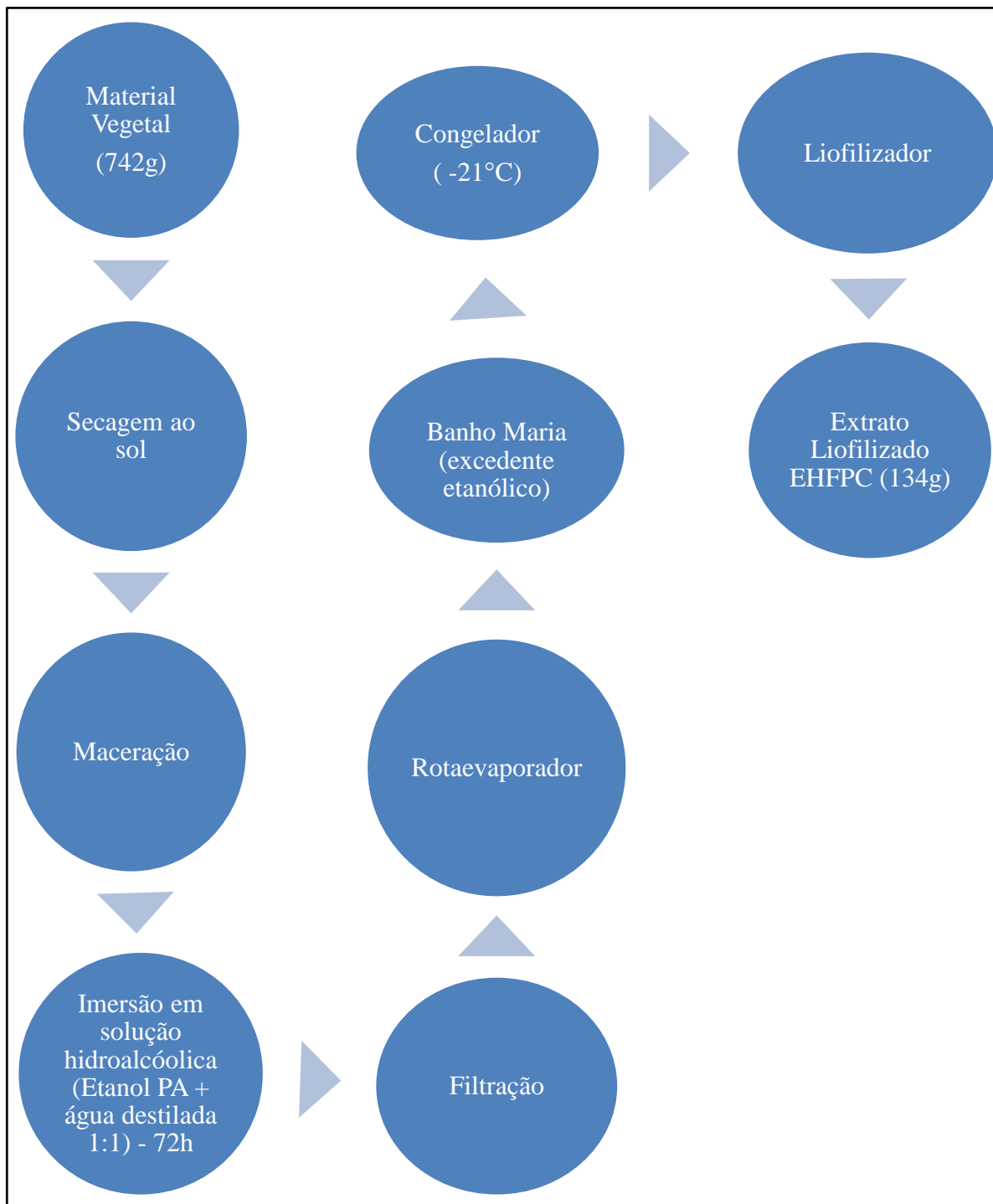


Figura 6: Fluxograma do Preparo do EHFPC

4.2.2. Prospecção fitoquímica do EHFPC

Trezentos miligramas (300 mg) do EHFPC foram solubilizados em 30 mL de uma mistura de etanol e água. Alíquotas de 3 mL da solução obtida foram distribuídas em seis frascos de vidro e enumeradas de 1 a 6 para a análise do conteúdo fitoquímico do extrato.

Teste para fenóis e taninos: no frasco 1 foram adicionadas 3 gotas de solução alcoólica de FeCl_3 . Após agitação, o resultado obtido foi comparado com um teste “branco” (mistura de água e FeCl_3). O surgimento de coloração variável entre azul e vermelho evidencia a presença de fenóis, quando o teste “branco” for negativo. Havendo precipitado escuro de tonalidade azul indica presença de taninos pirogálicos (taninos hidrolizáveis) e tonalidade verde indica presença de taninos flobabênicos (taninos condensados ou catéquicos). Para comprovar a presença de taninos, fez-se uso do teste de precipitação de gelatina, devido à habilidade desses compostos em interagir e precipitar proteínas, como o colágeno (STRUMEYER e MALIN, 1975).

Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonóides: os flavonóides representam um dos grupos mais amplamente distribuídos e diversificados no reino vegetal. Solventes de polaridade crescente facilitam a extração dos flavonóides (SIMÕES et al, 2007). Nos frascos 2, 3 e 4, foi adicionado HCl 1% (7 gotas, até atingir um valor de pH próximo a 3.0), NaOH 40% (2 gotas, até atingir um valor de pH próximo a 8.5) e NaOH 40% (4 gotas, até atingir um valor de pH compreendido entre 11 – 14), respectivamente. O surgimento de colorações diferentes indica presença de constituintes diversos, de acordo com a tabela 3.

Tabela 3: Constituintes específicos para coloração em determinado meio.

COR E PH DO MEIO			
Constituintes	Ácido (pH ~ 3.0)	Alcalino (pH ~ 8.5)	Alcalino (pH ~11)
Antocianinas	Vermelho	Lilás	Azul/púrpura
Antocianidinas	-	-	-
Flavonas	-	-	Amarelo
Flavonóis	-	-	-
Xantonas	-	-	-
Auronas/chalconas	Vermelho	-	Vermelho/púrpura
Flavononóis	-	-	Vermelho/laranja

Legenda: (-): ausência de qualquer cor.

Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas: ao frasco 5 foi adicionado HCl até atingir um valor de pH compreendido entre 1 – 3 e no frasco 6 foi adicionado NaOH até atingir um valor de pH próximo a 11. Os frascos foram posteriormente aquecidos durante 2 – 3 minutos. Seguindo o mesmo mecanismo de observação adotado no item anterior, o aparecimento ou intensificação de cores indica a presença de constituintes especificados na tabela seguinte:

Tabela 4: Constituintes específicos para coloração referente ao meio.

COR E PH DO MEIO		
Constituintes	Ácido	Alcalino
Leucoantocianidinas	Vermelho	-
Catequinas	Pardo/amarelo	-
Flavononas	-	Vermelho/laranja

Legenda: (-): ausência de qualquer cor.

Teste para alcalóides: o teste para alcalóides foi realizado diluindo-se o EHFPC (0,3g) em 30 ml de ácido acético a 5% e alcalinizado com 15 ml de amônia. Posteriormente, a solução foi aquecida até fervura, seguindo-se com a adição de hidróxido de amônia a 10% (10ml), clorofórmio (15ml) e posterior homogeneização em funil de separação. O

material foi colocado em repouso para posterior coleta da fase clorofórmica em Béquer, seguida da evaporação do solvente e adição de ácido clorídrico a 1%. Para finalizar, foi acrescentada uma gota de reagente Dragendorff. A formação de um precipitado que seria indicativo da presença de alcalóides.

Teste para quantificação de compostos fenólicos e flavonóides por CLAE: a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi utilizada para a quantificação dos ácidos fenólicos: ácidos gálico, clorogênico, elágico e caféico, e os flavonóides: quercetina, quercitrina, rutina, campferol, catequina e epicatequina, obtidos diante da comparação entre o seu tempo de retenção e do espectro de absorção de UV. Todos os produtos químicos utilizados eram de grau analítico. O metanol, ácido acético e os padrões para ácido gálico, ácido caféico, ácido clorogênico e ácido elágico foram adquiridos da Merck (*Darmstadt*, Alemanha). Os padrões para quercetina, quercitrina, rutina, campferol, catequina e epicatequina foram adquiridos da *Sigma Chemical Co.* (St. Louis, MO, EUA). A CLAE foi realizada em um cromatógrafo Shimadzu Prominence Sampler Auto (SIL-20A) sistema de HPLC (*Shimadzu*, Kyoto, Japão), equipado com bombas alternativas *Shimadzu* LC-20AT conectados a um degaseificador DGU 20A5 com a CBM 20^a, integrador SPD-M20A diodo detector de arranjo e solução de software SP1 LC 1,22.. Todas as operações cromatográficas foram realizadas em temperatura ambiente e em triplicata, seguindo a metodologia de Sabir *et al*, 2012 e Boligon *et al*, 2012.

4.2.3. Protocolos para determinação da DL₅₀, testes comportamentais e neuroquímicos

A manipulação dos animais foi realizada seguindo os princípios éticos para a experimentação animal, relatados nos princípios éticos da experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA. Todos os testes comportamentais foram realizados sempre no mesmo horário (no período de 12:00 às 16:00 horas), em uma sala fechada com temperatura constante ($23 \pm 1^\circ \text{C}$) e iluminação de pouca intensidade (lâmpada vermelha de 15V). Para a realização dos experimentos a toxicidade do EHFPC foi previamente avaliada pela determinação da DL₅₀. A determinação deste parâmetro serviu para a definição das doses que foram utilizadas neste trabalho. O teste hipocrático de Malone também foi realizado com a finalidade de

identificar o perfil do efeito farmacológico do extrato. Realizados esses ensaios, os animais foram divididos em grupos contendo grupos de seis e grupos de nove animais (o “n” variou em relação ao teste) e tratados, via intraperitoneal com veículo, EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) e uma droga padrão (controle positivo – variou em função do teste). Procedidos trinta minutos após a administração das drogas, os animais foram submetidos aos testes comportamentais descritos a seguir. Após os experimentos, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e acondicionados em sacos plásticos sob refrigeração a $- 20^{\circ}\text{C}$; o recolhimento foi realizado por empresa especializada no descarte de material biológico.

Teste hipocrático e determinação da DL_{50} : o teste hipocrático foi adotado para a investigação da toxicidade aguda do EHFPC e seguiu as diretrizes da OECD (*Organization for Economic Co-operation and Development*), para o teste de classe de dose aguda tóxica (Acute Toxic Class Method – OECD 425 - 2009) e as diretrizes da Portaria 116/96 do Ministério da Saúde, para avaliação da toxicidade aguda de substâncias químicas e estudos de toxicidade de dose única de novas drogas, além de se enquadrar nas exigências da RDC 17, de 24 de fevereiro 2000 da ANVISA/MS. Para determinar a classe de dose tóxica aguda, um grupo de cinco animais foram tratados com o EHFPC a cada dose, um animal para cada dose, sendo a classe definida como a menor dose que, na sequência considerada, induz a morte. Portanto, o extrato foi administrado na sequência da dose menor para a maior. O fator de progressão da dose foi de 3,2, uma vez que não existe qualquer informação sobre a inclinação da curva dose-resposta do extrato. Utilizando-se o fator de progressão padrão, as doses foram selecionadas a partir da sequência de: 19, 61, 195, 625 e 2000 mg/kg. Excepcionalmente, e somente quando justificado por regulação específica, o uso de dose superior a 5000 mg/kg deve ser considerada. O EHFPC foi administrado por via intraperitoneal. O volume administrado não excedeu 0,1 mL/10 g de peso corporal e, para manter o volume constante, ajustou-se as concentrações da solução de acordo com o nível de dose e peso dos animais. Os animais foram observados em intervalos regulares após a administração da droga (30 minutos, uma, duas, quatro e 24 horas) e, a partir de então, diariamente, até o décimo quarto dia. Todos os sinais de toxicidade, a época do seu aparecimento, intensidade, duração e progressão dos mesmos foram registrados. Observações comportamentais sistemáticas através do *screening* hipocrático (atividade geral, frêmito vocal, irritabilidade, resposta ao toque, resposta ao aperto da

cauda, contorção, posição do trem posterior, reflexo de endireitamento, tônus do corpo, força para agarrar, ataxia, reflexo auricular, reflexo corneal, tremores, convulsões, *straub*, hipnose, anestesia, lacrimação, ptose palpebral, micção, defecação, piloereção, hipotermia, respiração, cianose, hiperemia e morte) também foram realizadas. As intensidades dos eventos foram tabuladas de zero a duas cruzes (0, +, ++), correspondendo, respectivamente a: ausente, efeito presente, efeito presente intenso. As alterações encontradas na observação comportamental e exame clínico sistemático dos animais foram registrados em protocolo impresso com a lista de sinais a serem investigados. Esta lista e a pesquisa de sinais foram baseadas no modelo proposto por MALONE, 1977. Foi notificado também, o número de óbitos para a determinação da DL₅₀.

Campo aberto (CA): o CA é um dos aparelhos mais utilizado para a avaliação do efeito de drogas sobre a atividade locomotora. O aparelho consistiu em uma arena de formato quadrado, com as paredes confeccionadas em vidro transparente (30 x 30 x 15 cm) e piso em acrílico preto, dividido em nove quadrantes iguais (ARCHER, 1973). Grupos contendo 9 animais em cada receberam veículo (solução fisiológica 0,9%, i.p. – 10 mL/kg) e EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.). Trinta (30) minutos após o tratamento, cada camundongo foi colocado com as quatro patas no centro da arena do campo aberto e o seu comportamento foi observado por cinco minutos. Os parâmetros comportamentais observados neste teste foram: o número de cruzamentos (NC); o número de *rearing* (NR), postura na qual o animal fica na posição vertical, apoiado somente pelas patas traseiras, e o número de *grooming* (NG), ação de auto-limpeza do animal. Para o registro do NC, foram contados todos os quadrantes cruzados pelo animal, quando este se encontrava com as quatro patas dentro do mesmo quadrante.



Figura 7: Campo Aberto. Fonte: Oliveira, L.R., 2014

Labirinto em cruz elevado (LCE): o LCE para camundongos, segundo modelo validado por Lister (1987), consistiu em um aparelho formado por dois braços abertos (30 x 5 cm) e dois braços fechados (30 x 5 x 25 cm), unidos entre si por uma plataforma central (5 x 5 cm), formando uma cruz, a qual encontrava-se elevada a 45 cm do solo. As paredes do labirinto foram confeccionadas em madeira. Os animais foram divididos em grupos contendo 9 animais em cada. Decorrido o tempo de 30 minutos após a administração de diazepam (1 mg/kg), veículo (solução fisiológica 0,9%, i.p. – 10 mL/kg) e EHFPC (50 e 100 mg/kg, i.p.), cada animal foi colocado na plataforma central do labirinto, com o focinho voltado para um dos braços fechados, e seu comportamento foi observado por 5 minutos. Neste teste, os seguintes parâmetros de comportamento foram analisados: o número de entradas nos braços abertos (NEBA) e fechados (NEBF) e o tempo de permanência do animal nos braços abertos (TPBA – em segundos) e fechados (NEBF – em segundos). Para análise do possível mecanismo de ação ansiolítica do extrato, grupos distintos de camundongos foram tratados com flumazenil (10 mg/Kg, i.p. – antagonista benzodiazepínico dos receptores GABAérgicos) associado ao diazepam (1 mg/kg) e EHFPC (100 mg/kg, i.p.).



Figura 8: Labirinto em Cruz Elevado. Fonte: Oliveira, L.R., 2014.

Potencialização do tempo de sono induzido por barbitúrico: neste teste, os camundongos foram divididos em grupos contendo 9 animais em cada, que foram pré-tratados com veículo (solução fisiológica 0,9%, i.p. – 10 mL/kg), EHFPC (200 e 400 mg/kg, i.p.) e diazepam (2 mg/kg, i.p.). Decorridos 30 minutos da administração das drogas, cada animal recebeu uma injeção intraperitoneal de pentobarbital sódico (40 mg/kg – barbitúrico padrão para efeito hipnótico). A latência (indução do sono – em segundos) e a duração (tempo do sono – em segundos) da perda do reflexo postural (reflexo de endireitamento) dos animais foram os parâmetros observados no teste, que teve duração de 3 horas (CARLINI et al., 1986).

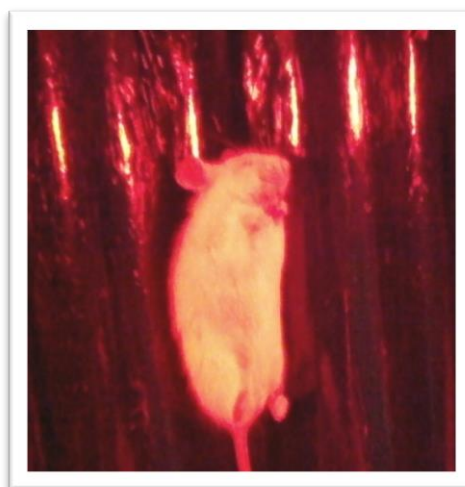


Figura 9: Demonstração do teste de tempo de sono. Fonte: Autora

Nado forçado (NF): o teste do nado forçado foi realizado utilizando cilindros de vidro transparente, medindo 18 cm de altura e 14 cm de diâmetro, com volume total de 2 L, contendo 1,5 L de água a 27° C. Os animais foram divididos em grupos contendo 9 animais em cada, que receberam veículo (solução fisiológica 0,9%, i.p. – 10 mL/Kg), EHFPC (1, 25, 50 e 100 mg/kg, i.p.), imipramina (1 e 30 mg/kg, i.p. – antidepressivo tricíclico usado como droga padrão de efeito antidepressivo), fluoxetina (1 e 10 mg/kg, i.p. – antidepressivo inibidor da recaptação de serotonina usado também como droga padrão de efeito antidepressivo) e Bupropiona (1 e 20mg/kg, i.p. – antidepressivo atípico que atua como inibidor de recaptação de dopamina e da noradrenalina, usado como droga padrão para efeito antidepressivo). Após o intervalo de 30 minutos da administração das drogas, cada camundongo foi colocado para nadar individualmente no cilindro durante 5 minutos. Durante este período foi registrado o tempo de imobilidade (em segundos) do animal (PORSOLT et al., 1978). Para análise do possível mecanismo de ação tipo antidepressiva do EHFPC, foi realizado um estudo de potencialização do efeito do extrato, que utilizou as doses mínimas dos antidepressivos padrões que não apresentaram efeito significativo, associadas com a dose mínima do EHFPC (1 mg/Kg), que, da mesma forma, não apresentou efeito significativo quando administrado isoladamente.

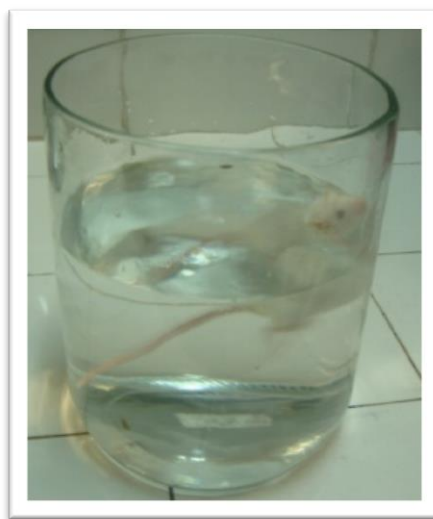


Figura 10: Cilindro do teste de nado forçado. Fonte: Oliveira, L.R., 2014.

Acinesia induzida por reserpina: para este procedimento foi utilizada a metodologia segundo Askew (1963), na qual os camundongos foram divididos em grupos contendo 6 animais, que foram tratados previamente com reserpina (10 mg/kg, i.p.) e um grupo

controle recebendo veículo (solução fisiológica 0,9%, i.p.). Decorridas 20 horas da administração da droga, os mesmos animais receberam veículo (solução fisiológica 0,9%, i.p. – 10 mL/kg), EHFPC (25, 50 e 100 mg/kg, i.p.), imipramina (30 mg/kg, i.p. – antidepressivo tricíclico), fluoxetina (10 mg/kg, i.p. – antidepressivo inibidor da recaptação de serotonina) e Bupropiona (20 mg/kg, i.p. – antidepressivo inibidor de recaptação da noradrenalina e dopamina) . Meia hora depois, cada animal foi colocado no centro do aparelho do campo aberto para a avaliação da atividade locomotora (durante 5 minutos). O número de cruzamentos (NC) foi o parâmetro comportamental observado. Para o registro do NC, foram contados todos os quadrantes cruzados pelo animal, quando este se encontrava com as quatro patas dentro do mesmo quadrante.



Figura 11: Campo aberto usado no teste de acinesia. Fonte: Oliveira, L.R., 2014.

Convulsões induzidas por Pentilenotetrazol: seguindo a metodologia validada por Lowson e colaboradores (1990) os animais utilizados neste teste foram divididos em diferentes grupos contendo 9 camundongos que foram tratados previamente com veículo (solução fisiológica 0,9%, i.p. – 1 mg/kg), EHFPC (50 e 100 mg/kg, i.p.) e diazepam (1 mg/kg, i.p. – droga padrão para efeito anticonvulsivante neste modelo experimental). Meia hora após a administração das drogas, cada animal recebeu uma injeção intraperitoneal de pentilenotetrazol (80mg/kg – uma neurotoxina com propriedade pró-convulsivante). Como parâmetros de avaliação do efeito da droga sobre as convulsões, foram avaliados a latência para o aparecimento da primeira convulsão (em segundos) e a latência da morte (também em segundos), o tempo total de observação foi de 30 minutos.



Figura 12: Campo aberto usado nos testes de convulsão. Fonte: Oliveira, L.R., 2014.

Convulsões induzidas por Pilocarpina: o efeito anticonvulsivante do EHFPC foi avaliado também através do antagonismo das convulsões induzidas por pilocarpina (PILO). Os animais utilizados neste teste foram divididos em diferentes grupos contendo 9 camundongos que foram tratados previamente com veículo (solução fisiológica 0,9%, i.p. – 1 mg/kg), EHFPC (5, 50 e 100 mg/kg, i.p.) e atropina (1 e 10 mg/kg, i.p. – antagonista colinérgico). Meia hora após a administração das drogas, cada animal recebeu uma injeção intraperitoneal de pilocarpina (400mg/kg – um agonista colinérgico). Como parâmetros de avaliação do efeito da droga sobre as convulsões, foram avaliados a latência para o aparecimento da primeira convulsão (em segundos) e a latência da morte (também em segundos), o tempo total de observação foi de 60 minutos. Para análise do possível mecanismo de ação anticonvulsivante do EHFPC, foi realizado um estudo de potencialização do efeito do extrato. Para tanto um grupo foi tratado com a associação atropina (0,1 mg/kg, i.p.) e EHFPC (5 mg/kg, i.p.).

Tremores induzidos por oxotremorina: o experimento foi realizado segundo a técnica descrita por Fukuzaki et al. (2000). Decorridos 30 minutos da administração do veículo (solução fisiológica 0,9% - 1 mg/Kg, i.p.), EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) e atropina (10 mg/Kg, i.p.), cada animal recebeu uma injeção de oxotremorina (0,5 mg/Kg, i.p.) e teve seu comportamento avaliado 10, 20 e 30 min após a administração deste último composto. A intensidade dos tremores apresentados pelos animais foi avaliada de acordo com uma escala descrita por Coward et al. (1977):

- 0 - Ausência de tremores;
- 1 - Tremores fracos e isolados;
- 2 - Tremores moderados e pouco persistentes;
- 3 - Tremores intensos e persistentes



Figura 13: Campo aberto usado no teste de tremores por oxotremorina.

Fonte: Oliveira, L.R., 2014.

Dosagem do conteúdo de monoaminas e metabólitos em corpo estriado: para determinação dos níveis de monoaminas e seus metabólitos foi utilizado o método de cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE. Inicialmente dois grupos contendo quatro animais em cada foram tratados com veículo (solução fisiológica 0,9%, i.p.) e EHFPC (100 mg/kg). Após 30 minutos, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e decapitados com tesoura cirúrgica. Imediatamente o encéfalo foi removido e colocado sobre gelo para retirada do corpo estriado (CE). Com auxílio de uma pinça reta de microdissecação, acompanhando a fissura sagital mediana, dissecando mais uma vez aos ventrículos laterais, e córtex fronto-occipital, que foi rebatido expondo parte do corpo estriado, que foi isolado e removido. As amostras obtidas foram envolvidas em papel alumínio, previamente identificado e pesado, mantidas a temperatura de -70°C , para posterior análise do conteúdo de monoaminas (noradrenalina, dopamina) e metabólitos DOPAC, através do teste bioquímico descrito a seguir. Para a obtenção dos homogenatos de tecidos cerebral, as amostras de tecido (corpo estriado) foram homogeneizadas em ácido perclórico 10% (HClO_4) e centrifugados por 30 minutos em

centrífuga refrigerada (4°C) a 15.000 rpm. Após foram filtradas e mantidas a 4 ° C até à análise pelo método de HPLC. Uma alíquota de 20µL do sobrenadante foi injetada no equipamento CLAE para análise química. Foi utilizado um equipamento de marca Shimadzu, com detecção amperométrica. Para a separação das monoaminas, foi usada uma coluna (CLC-ODS(M), 25 cm, calibre: 4,6 mm; diâmetro de partícula: 3 µm; Shimadzu). A fase móvel foi preparada com solução tampão de ácido cítrico 0,163M, pH 3,0, contendo ácido octanosulfônico sódico, 0,69 (SOS), como reagente formador do par iônico; acetonitrila 4% v/v e tetrahydrofurano 1,7% v/v. Para preparação da solução pesou-se 17,75 g de ácido cítrico, o qual foi dissolvido com água mili-Q para um volume de 400 mL e o pH foi ajustado para 3,0 com hidróxido de sódio 12,5 M. A esta solução foram adicionados 75mg de SOS (ácido octanosulfônico sódico) e o volume acrescido para 471,5 mL com água mili-Q. A solução preparada foi filtrada e degaseificada e acrescido 20 mL de acetonitrila e 10 mL de tetrahydrofurano, completando um volume final de 500 mL. Os padrões utilizados foram preparados em uma concentração final de 4 ng de DA, NA, e DOPAC (Sigma Chemical, Co, USA). A partir da altura ou área dos picos destes padrões, as amostras foram calculadas no programa Microsoft Excel em um computador PC, e os resultados expressos em ng/g de tecido.

4.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os resultados dos testes comportamentais foram analisados por Análise de Variância (ANOVA), seguido pelo teste de Student Newman Keuls (*post hoc*). Nas análises do conteúdo de monoaminas e metabólitos foi utilizado o teste T. Todos os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média e foram considerados estaticamente significativos os valores de $p < 0,05$. Para determinação da DL₅₀, foi adotada a metodologia da OECD (2009), onde a análise foi realizada seguindo o software PROBITOS.

Resultados

5. RESULTADOS

5.1. PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DO EHFPC

A prospecção fitoquímica do extrato, realizada segundo a metodologia de Matos (1997), identificou as classes de metabólitos secundários descritos na tabela 2. Nesta análise não foi observada a presença de alcalóides na amostra.

Tabela 5: Resultado da Prospecção Fitoquímica do EHFPC (Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Passiflora Cincinnata*).

		Metabólitos Secundários														
Amostras	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
EHFPC	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	

EHFPC = Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *P. cincinnata*. 1 – Fenóis; 2 – Taninos Pirogálicos; 3 – Taninos Condensados; 4 – Antocianinas; 5 – Antocianidinas; 6 – Flavonas; 7 – Flavonóis; 8 – Xantonas; 9 – Chalconas; 10 – Auronas; 11 – Flavononóis; 12 – Leucoantocianidinas; 13 – Catequinas; 14 – Flavononas; 15 – Flavonóides; (+) presença; (-) ausência.

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) do EHFPC identificou a presença de quercetina, ácido caféico, epicatequina, ácido clorogênico, rutina, ácido gálico, ácido elágico, quercitrina, catequina e campferol (figura 6). Estes compostos também foram quantificados (tabela 13). O Limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) foram avaliados com base no desvio padrão das respostas e a inclinação por meio de três curvas analíticas independentes, tal como definidos pela Boligon e colaboradores (2012). O LOD e LOQ foram calculados como $\sigma 3,3$ e $10 / S$, respectivamente, onde σ é o desvio padrão da resposta e S é o declive da curva de calibração.

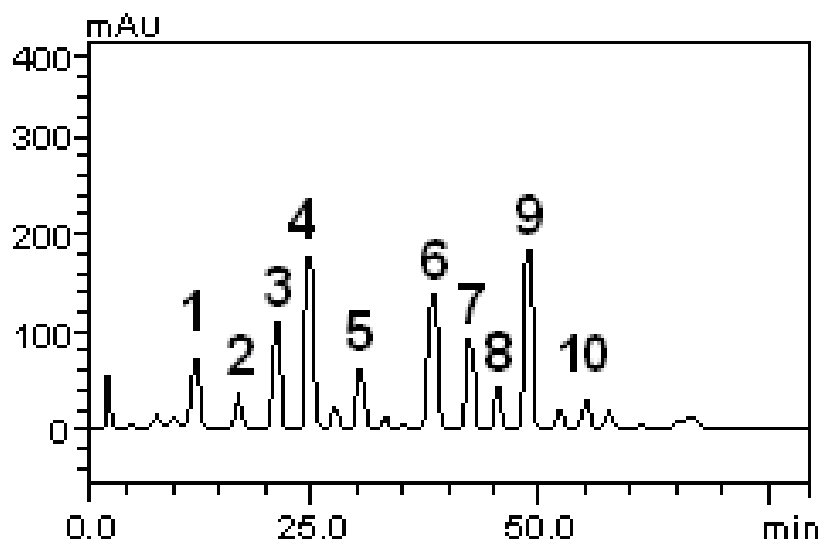


Figura 14: Perfil de compostos fenólicos e flavonóides do extrato das folhas de *P. cincinnata* por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. O ácido gálico (pico 1), catequina (pico 2), ácido clorogênico (pico 3), ácido cafeico (pico 4), ácido elágico (pico 5), epicatequina (pico 6), rutina (pico 7), quercitrina (pico 8), quercetina (pico 9) e kaempferol (pico 10).

Tabela 6: Quantificação dos compostos fenólicos e flavonóides do extrato das folhas de *P. cinnamata* por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Compostos	Percentual (%)	LOQ (µg/mL)	LOD (µg/mL)
Ácido gálico (1)	0,45 ± 0.02	0.014	0.047
Catequina (2)	0,21 ± 0.01	0.032	0.105
Ácido clorogênico (3)	0,72 ± 0.03	0.005	0.016
Ácido cafeico (4)	1,09 ± 0.02	0.027	0.089
Ácido elágico (5)	0,41 ± 0.01	0.026	0.085
Epicatequina (6)	0,83 ± 0.03	0.039	0.128
Rutina (7)	0,69 ± 0.04	0.011	0.034
Quercitrina (8)	0,35 ± 0.01	0.016	0.051
Quercetina (9)	1,18 ± 0.02	0.023	0.079
Kampferol (10)	0,15 ± 0.01	0.009	0.027

O ácido gálico (1), catequina (2), ácido clorogênico (3), ácido cafeico (4), ácido elágico (5), epicatequina (6), rutina (7), quercitrina (8), quercetina (9) e kaempferol (10).

5.2. DETERMINAÇÃO DA DL₅₀ E TESTE HIPOCRÁTICO DE MALONE

Os animais que receberam o EHFPC doses preconizadas pela OECD 2009 e metodologia padronizada por Malone (1977) (19, 61, 195, 625, 2000 e 5000 mg/kg via intraperitoneal), demonstraram que o EHFPC apresenta efeito depressor do SNC, evidenciado em todos os grupos testados. Neles observou-se a predominância dos parâmetros que determinam a inibição da excitabilidade dos animais em estudo. O valor da dose letal mediana (DL₅₀) foi também estabelecido com fins de evitar o uso inadequado de doses potencialmente tóxicas. O EHFPC nas concentrações testadas apresentou baixa toxicidade e foi destituído de efeito letal agudo e quando avaliado durante o período de 14 dias. O quadro 1 demonstra as principais alterações

comportamentais nos animais observados quando administrado o EHFPC nas doses 5000, 2000, 625, 195, 61 e 19 mg/Kg, via intraperitoneal.

Quadro 1: Principais alterações comportamentais registradas em camundongos decorrentes da administração do EHFPC via intraperitoneal.

EHFPC (mg/kg, i.p.)	AC	Tempo							
		10	30	60	120	180	240	360	720
5000	PI	0	++	++	++	++	+	+	+
	A	0	+	++	+	0	0	0	0
	CA	0	++	++	++	++	+	++	+
	DM	0	+	++	+	+	++	+	+
2000	PI	0	++	++	++	++	++	++	+
	A	0	+	+	+	0	0	0	0
	CA	0	++	++	++	++	++	++	++
	DM	0	+	+	+	+	+	+	+
625	PI	0	++	++	+	+	+	0	0
	A	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	+	+	+	+	0	0	0
	DM	0	+	+	+	+	+	+	+
195	PI	0	++	+	0	0	0	0	0
	A	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0
	DM	0	+	+	+	0	0	0	0
61	PI	0	0	0	0	0	0	0	0
	A	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0
	DM	0	+	+	0	0	0	0	0
19	PI	0	0	0	0	0	0	0	0
	A	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0
	DM	0	0	+	0	0	0	0	0

Onde: (AC) Alterações comportamentais, (0) ausente, (+) efeito presente, (++) efeito presente intenso, Piloereção (PI), Analgesia (A), Diminuição da motilidade (DM) Contorção abdominal (CA).

5.3. TESTES COMPORTAMENTAIS

Campo aberto (CA): os parâmetros analisados no campo aberto foram o número de cruzamentos (NC), o número de *rearing* (exploração vertical) e o número de *grooming* (movimento de auto-limpeza), conforme mostrados nas figuras 8, 9 e 10. Após a administração (i.p.) do EHFPC nas doses de 25, 50, 100, 200 e 400 mg/kg, houve uma redução do número de cruzamentos ($38,7 \pm 3,4$; $54,6 \pm 2,3$; $49,1 \pm 2,6$; $41,8 \pm 6,8$; $15,8 \pm 3,4$ respectivamente) em relação ao grupo controle ($64,7 \pm 3,1$). Em termos percentuais, o EHFPC nas doses de 25, 50, 100, 200 e 400 mg/kg reduziu o NC em 40,1%; 15,6%; 24,1%; 35,3%, 75,4% respectivamente, em relação ao grupo controle. Os animais tratados com o DZP 1 mg/kg (i.p.), também apresentaram redução deste parâmetro ($33,1 \pm 1,8$) com percentual em 48,8% em relação ao respectivo controle (Figura 8). O mesmo pode ser considerado para a dose de 100 mg/kg. O efeito dose-resposta entre os grupos é observado quando é aumentado a concentração do EHFPC para 50, 100, 200 e 400 mg/kg, onde é possível observar a redução do número de cruzamentos.

De forma semelhante, o EHFPC também reduziu os outros parâmetros analisados. O número de *grooming*, por exemplo, foi reduzido nas doses de 25, 50, 100, 200 e 400 mg/kg ($5,1 \pm 0,6$; $6,4 \pm 0,7$; $7,1 \pm 1,4$; $6,0 \pm 0,7$; $2,0 \pm 0,7$ respectivamente) em relação ao grupo controle ($11,4 \pm 0,7$) em 55,3%, 43,7%, 37,8%, 47,5%, 82,5%, respectivamente. O tratamento com DZP também reduziu o NG em 64,0% ($4,1 \pm 0,3$) em relação ao grupo controle (Figura 9). O número de *grooming* também apresentou um efeito dose-resposta quando os grupos foram comparados entre si. Este efeito foi evidente apenas na dose de 400 mg/kg.

Na figura 10, observa-se uma redução no número de *rearing* nos grupos tratados com EHFPC 25, 50, 100, 200 e 400 mg/kg, ($1,1 \pm 0,3$; $3,3 \pm 0,5$; $2,0 \pm 0,5$; $1,4 \pm 0,7$; $0,1 \pm 0,1$ respectivamente) e Diazepam ($0,6 \pm 0,3$) em relação ao grupo controle ($13,1 \pm 1,5$), correspondendo a 91,5%; 74,6%; 84,7%, 89,0%, 99,1% respectivamente. As doses do EHFPC, não apresentaram diferença estatística entre si.

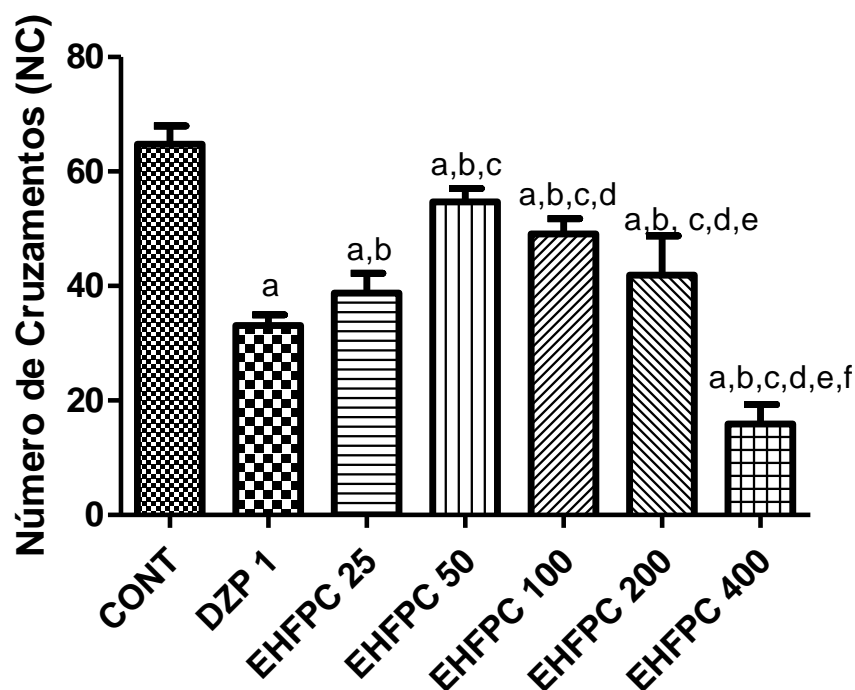


Figura 15: Efeito do EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de cruzamentos (NC) de camundongos submetidos ao campo aberto. Os animais foram divididos em grupos de 9 animais e pré-tratados com o Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Passiflora cincinnata* - EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) Diazepam (1mg/Kg, i.p.) e veículo (1mg/Kg, i.p.). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keusl (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c, d, e, f *versus* controle, diazepam 1, EHFPC 25, EHFPC 50, EHFPC 100, EHPFC 200, EHFPC 400, respectivamente quando $p < 0,05$. (a)CONT = salina 0,9% - 1mg/Kg, (b)Diazepam 1 = Diazepam 1mg/kg, i.p., (c)EHFPC 25 = EHFPC 25mg/kg, i.p., (d)EHFPC 50 = EHFPC 50 mg/kg, i.p., (e)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/kg, i.p., (f)EHFPC 200 = EHFPC 200 mg/Kg, i.p., (g)EHFPC 400 = EHFPC 400mg/Kg, i.p.

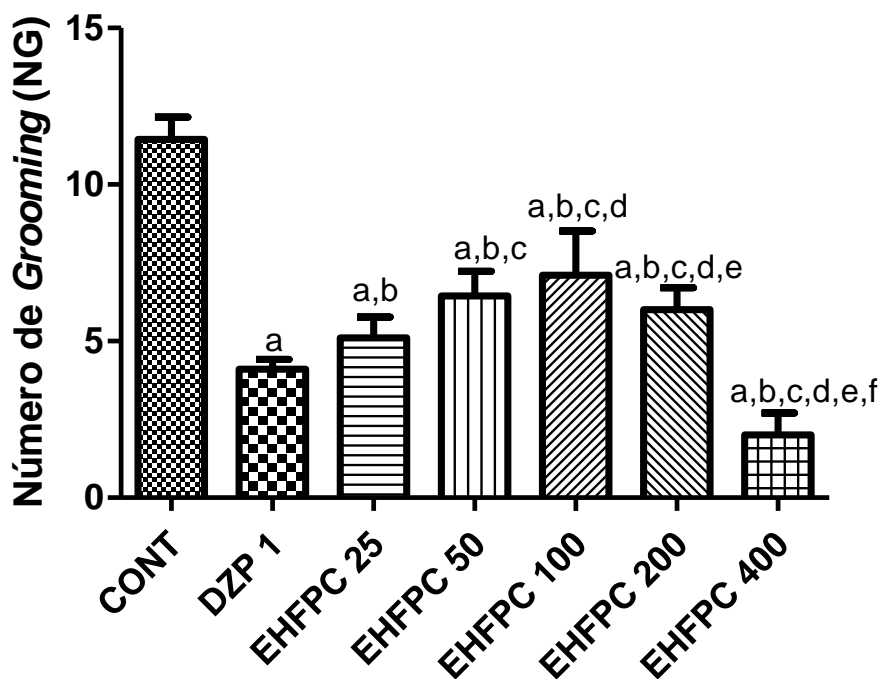


Figura 16: Efeito do EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de Grooming (NG) de camundongos submetidos ao campo aberto. Os animais foram divididos em grupos de 9 animais e pré-tratados com o Extrato Hidroalcolico das Folhas de *Passiflora cincinnata* - EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) Diazepam (1mg/Kg, i.p.) e veículo (1mg/Kg, i.p.). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keusl (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c, d, e, f *versus* controle, diazepam 1, EHFPC 25, EHFPC, 50, EHFPC 100, EHPFC 200, EHFPC 400, respectivamente quando $p < 0,05$. (a)CONT = salina 0,9% - 1mg/Kg, (b)Diazepam 1 = Diazepam 1mg/kg, i.p., (c)EHFPC 25 = EHFPC 25mg/kg, i.p., (d)EHFPC 50 = EHFPC 50 mg/kg, i.p., (e)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/kg, i.p., (f)EHFPC 200 = EHFPC 200 mg/Kg, i.p., (g)EHFPC 400 = EHFPC 400mg/Kg, i.p.

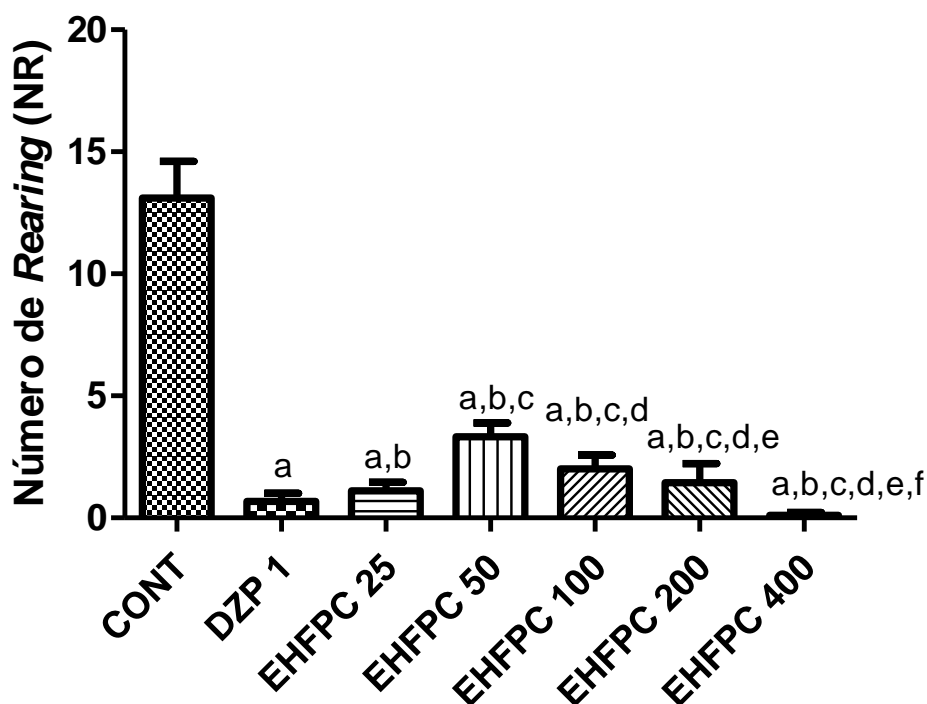


Figura 17: Efeito do EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de Rearing (NR) de camundongos submetidos ao campo aberto. Os animais foram divididos em grupos de 9 animais e pré-tratados com o Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Passiflora cincinnata* - EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) Diazepam (1mg/Kg, i.p.) e veículo (1mg/Kg, i.p.). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keusl (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c, d, e, f *versus* controle, diazepam 1, EHFPC 25, EHFPC, 50, EHFPC 100, EHPFC 200, EHFPC 400, respectivamente quando $p < 0,05$. (a)CONT = salina 0,9% - 1mg/Kg, (b)Diazepam 1 = Diazepam 1mg/kg, i.p., (c)EHFPC 25 = EHFPC 25mg/kg, i.p., (d)EHFPC 50 = EHFPC 50 mg/kg, i.p., (e)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/kg, i.p., (f)EHFPC 200 = EHFPC 200 mg/Kg, i.p., (g)EHFPC 400 = EHFPC 400mg/Kg, i.p.

Labirinto em cruz elevado (LCE): a administração do EHFPC (100 mg/kg, i.p.) promoveu diferença significativa em quase todos os parâmetros avaliados no teste do LCE, em relação ao grupo controle. Inicialmente, no parâmetro do NEBA (Figura 11), a dose de 100 mg/kg ($5,1 \pm 0,8$) foi significativamente diferente do controle ($1,7 \pm 0,2$) representando um aumento de 188% no NEBA. O grupo tratado com a dose de 50 mg/kg do EHFPC ($3,5 \pm 0,6$) não apresentou diferença estatística quando comparado ao controle. Quando comparadas entre si, as doses de 50 e 100 mg/Kg do EHFPC não apresentam diferença estatística indicando ausência da relação dose-efeito neste parâmetro. Por sua vez, a associação de flumazenil (10 mg/kg, i.p.) ao DZP 1 mg/kg ($4,5 \pm 0,7$), e ao EHFPC 100 mg/kg ($4,3 \pm 0,7$) reverteu o efeito de ambos em 154,2% e 142,9%, respectivamente quando comparados aos respectivos grupos isolados.

Em relação ao número de entradas nos braços fechados (NEBF), os grupos tratados com EHFPC nas doses 50 e 100 mg/kg ($5,7 \pm 0,6$ e $5,7 \pm 0,6$) diminuíram significativamente este parâmetro em 45,6% e 33,0%, respectivamente, quando comparados com o controle ($10,6 \pm 0,5$) (Figura 12), não apresentando diferenças significativas entre si. A associação com flumazenil 10 mg/kg reverteu parcialmente o efeito do DZP 1 mg/kg ($9,8 \pm 1,0$) e EHFPC 100 mg/kg ($9,5 \pm 0,3$), aumentando o NEBF em 7,5% e 10,4%, quando comparados aos respectivos grupos isolados.

No tocante ao tempo de permanência nos braços abertos (TPBA), observou-se um aumento significativo de 52,2% e 107,6%, respectivamente, nos grupos tratados com EHFPC 50 e 100 mg/kg ($77,8 \pm 18,3$ e $106,1 \pm 11,9$), quando comparados ao controle ($51,1 \pm 8,3$). Quando comparados entre si, os grupos tratados EHFPC 50 e 100 mg/kg não apresentam diferença significativa, não havendo, portanto, efeito dose-resposta neste parâmetro (Figura 13). A associação com flumazenil 10 mg/kg reverteu parcialmente o efeito do DZP 1 mg/kg ($53,5 \pm 9,3$) e EHFPC 100 mg/kg ($43,6 \pm 10,2$) em 13,3% e 7,1%, respectivamente, quando comparados aos respectivos grupos isolados.

Em relação ao tempo de permanência nos braços fechados, foi observada uma diminuição do TPBF nas doses de 50 e 100 mg/Kg do EHFPC ($190,2 \pm 13,6$; $152,2 \pm 10,3$), correspondendo respectivamente a 13,5% e 30,8% em relação ao grupo controle ($219,7 \pm 7,8$) (Figura 14). De forma semelhante, não foi observada diferença

significativa entre os grupos tratados com o extrato. O flumazenil administrado em associação ao DZP 1 mg/kg ($190,0 \pm 12,4$) e ao EHFPC 100 mg/kg ($203,5 \pm 6,5$), reverteu parcialmente o efeito de ambos em 4,6% e 14,5%, respectivamente quando comparados aos respectivos grupos isolados.

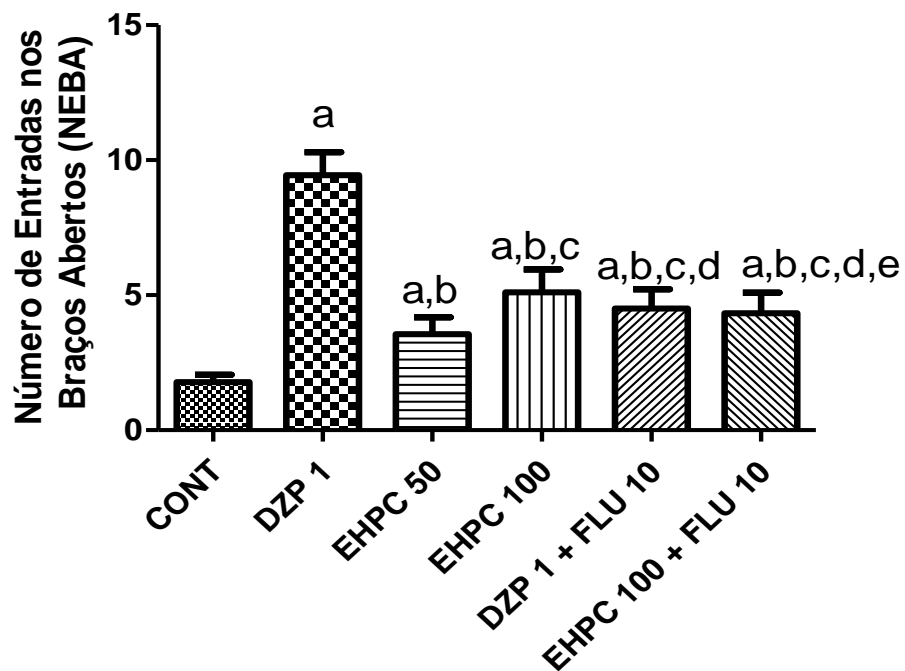


Figura 18: Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre o número de entradas nos braços abertos do labirinto em cruz elevado. Os animais foram divididos em grupos de 9 animais e pré-tratados com o Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Passiflora cincinnata* - EHFPC (50, 100 mg/Kg, i.p.) Diazepam (1mg/Kg, i.p.) e veículo (1mg/Kg, i.p.). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keusl (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c, d *versus* controle, DZP, 50, 100, respectivamente, quando $p < 0,05$. (a)CONT = salina 0,9% - 1mg/Kg, (b)DZP = Diazepam 1mg/Kg, i.p., (c)EHFPC 50 = EHFPC 50 mg/Kg, i.p., (d)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/Kg, i.p; (e)DZP + FLU = Diazepam 1mg/Kg + Flumazenil 10 mg/Kg, i.p., (f)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/Kg, i.p., (g)EHFPC 100 + FLU = EHFPC 100 mg/Kg + Flumazenil 10 mg/Kg, i.p.

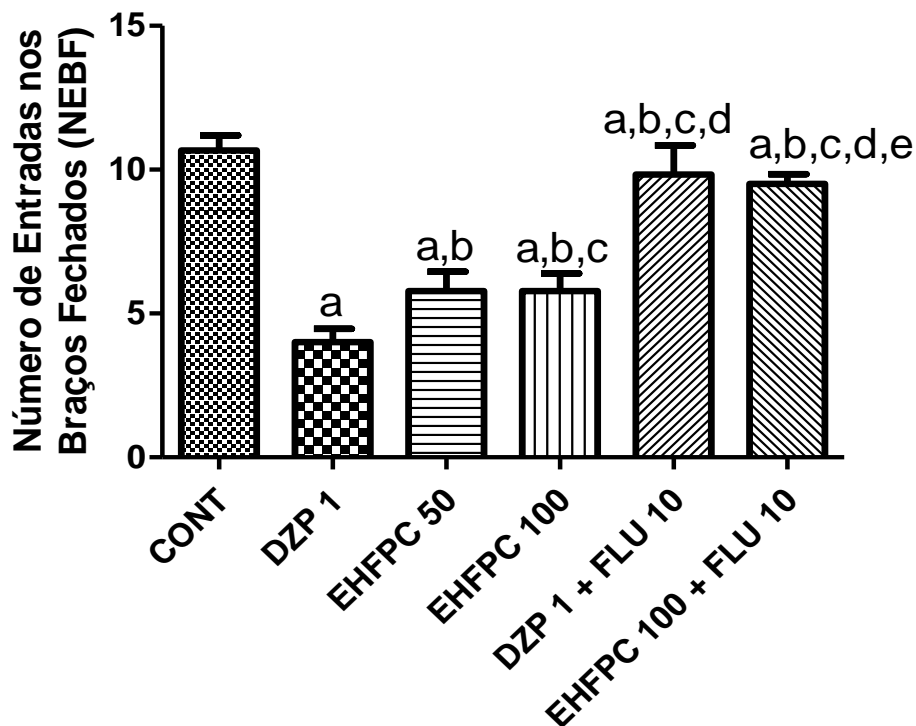


Figura 19: Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre o número de entradas nos braços fechados do labirinto em cruz elevado. Os animais foram divididos em grupos de 9 animais e pré-tratados com o Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Passiflora cincinnata* - EHFPC (50, 100 mg/Kg, i.p.) Diazepam (1mg/Kg, i.p.) e veículo (1mg/Kg, i.p.). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keusl (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c, d *versus* controle, DZP, 50, 100, respectivamente, quando $p < 0,05$. (a)CONT = salina 0,9% - 1mg/Kg, (b)DZP = Diazepam 1mg/Kg, i.p., (c)EHFPC 50 = EHFPC 50 mg/Kg, i.p., (d)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/Kg, i.p; (e)DZP + FLU = Diazepam 1mg/Kg + Flumazenil 10 mg/Kg, i.p., (f)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/Kg, i.p., (g)EHFPC 100 + FLU = EHFPC 100 mg/Kg + Flumazenil 10 mg/Kg, i.p.

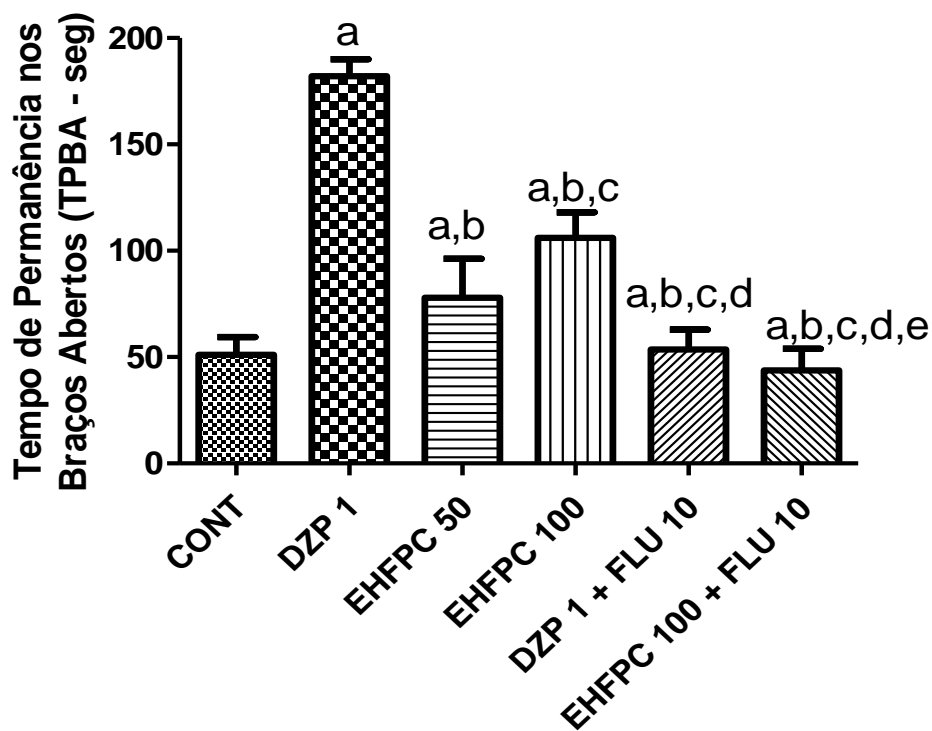


Figura 20: Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre o tempo de permanência nos braços abertos do labirinto em cruz elevado. Os animais foram divididos em grupos de 9 animais e pré-tratados com o Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Passiflora cincinnata* - EHFPC (50, 100 mg/Kg, i.p.) Diazepam (1mg/Kg, i.p.) e veículo (1mg/Kg, i.p.). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keusl (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c, d *versus* controle, DZP, 50, 100, respectivamente, quando $p < 0,05$. (a)CONT = salina 0,9% - 1mg/Kg, (b)DZP = Diazepam 1mg/Kg, i.p., (c)EHFPC 50 = EHFPC 50 mg/Kg, i.p., (d)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/Kg, i.p; (e)DZP + FLU = Diazepam 1mg/Kg + Flumazenil 10 mg/Kg, i.p., (f)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/Kg, i.p., (g)EHFPC 100 + FLU = EHFPC 100 mg/Kg + Flumazenil 10 mg/Kg, i.p.

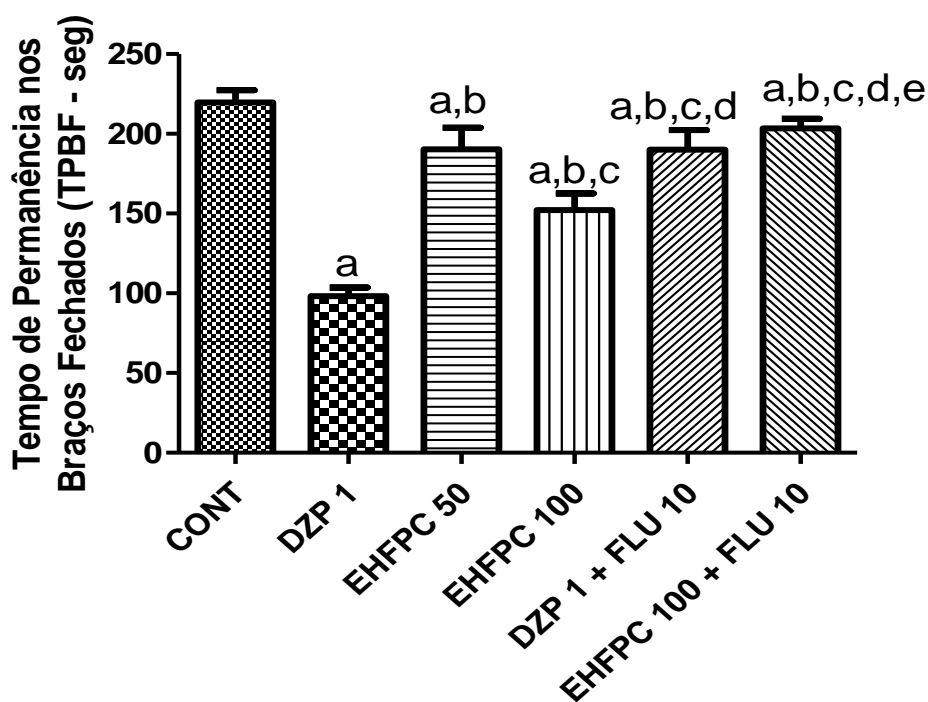


Figura 21: Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre o tempo de permanência nos braços fechados do labirinto em cruz elevado. Os animais foram divididos em grupos de 9 animais e pré-tratados com o Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Passiflora cincinnata* - EHFPC (50, 100 mg/Kg, i.p.) Diazepam (1mg/Kg, i.p.) e veículo (1mg/Kg, i.p.). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keusl (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c, d *versus* controle, DZP, 50, 100, respectivamente, quando $p < 0,05$. (a)CONT = salina 0,9% - 1mg/Kg, (b)DZP = Diazepam 1mg/Kg, i.p., (c)EHFPC 50 = EHFPC 50 mg/Kg, i.p., (d)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/Kg, i.p.; (e)DZP + FLU = Diazepam 1mg/Kg + Flumazenil 10 mg/Kg, i.p., (f)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/Kg, i.p., (g)EHFPC 100 + FLU = EHFPC 100 mg/Kg + Flumazenil 10 mg/Kg, i.p.

Potencialização do tempo de sono induzido por barbitúrico: o efeito hipnótico do EHFPC foi investigado através da potencialização do tempo de sono induzido por pentobarbital (Figuras 15 e 16). A figura 15 apresenta o efeito do pré-tratamento com EHPC sobre a latência da perda do reflexo postural do animal (latência do sono). Como pode ser observado, apenas a dose de 400 mg/kg do extrato ($127,6 \pm 6,3$) foi capaz de reduzir significativamente este parâmetro em relação ao grupo controle ($159,9 \pm 7,4$) em 20%. O diazepam 2 mg/kg apresentou um efeito semelhante ($71,4 \pm 6,5$), porém, mais intenso (redução de 55% da latência de sono em relação ao grupo controle).

Em relação à duração da perda do reflexo postural (duração do sono) (figura 16), houve um aumento significativo deste parâmetro nos grupos tratados com EHPC nas doses de 200 e 400 ($2909 \pm 364,7$ e $5583 \pm 383,8$, respectivamente). Isto representa, em termos percentuais, um aumento de 207,4% e 491,2% em relação ao grupo controle ($944,3 \pm 98,5$). De forma semelhante, o diazepam 2 mg/kg ($6375 \pm 685,6$) aumentou significativamente a duração do sono em 575,1% em relação ao grupo controle. É importante ressaltar que, quando comparados entre si, os grupos apresentam diferença significativa, tanto na latência, quanto na duração da perda do reflexo postural, indicando um efeito dose-resposta do extrato neste teste.

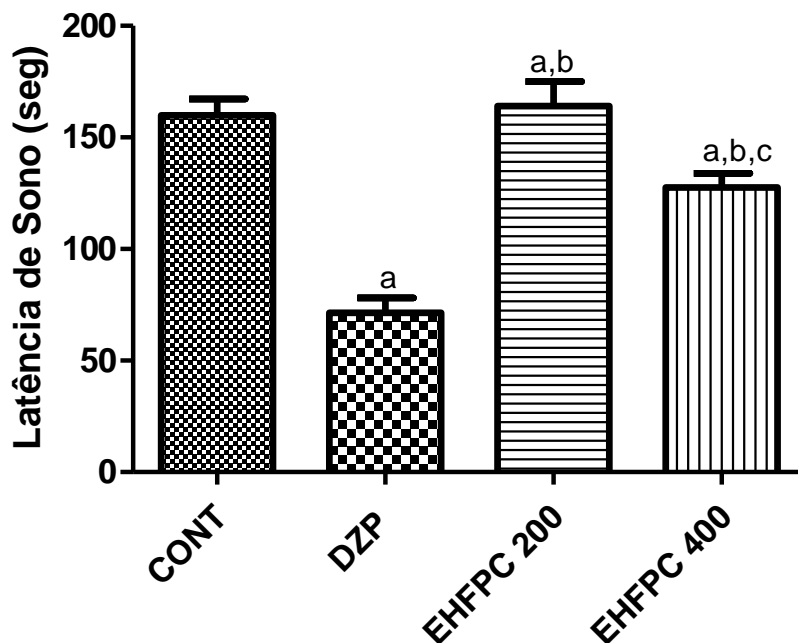


Figura 22: Efeito do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a latência de sono em camundongos tratados com pentobarbital (40 mg/kg, i.p.). Os animais foram divididos em grupos de 9 animais e pré-tratados com o Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Passiflora cincinnata* - EHFPC (200 e 400 mg/Kg, i.p.) Diazepam (2mg/Kg, i.p.) e veículo (1mg/Kg, i.p.). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keusl (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c vs CONT, DZP, EHFPC 200 e EHFPC 400, respectivamente, quando $p < 0,05$. (a)CONT = salina 0,9% - 1 mg/Kg, (b)DZP = Diazepam 2 mg/Kg, i.p.; (c)EHFPC 200 = EHFPC 200 mg/kg, i.p., (d)EHFPC 400 = EHFPC 400 mg/kg, i.p.

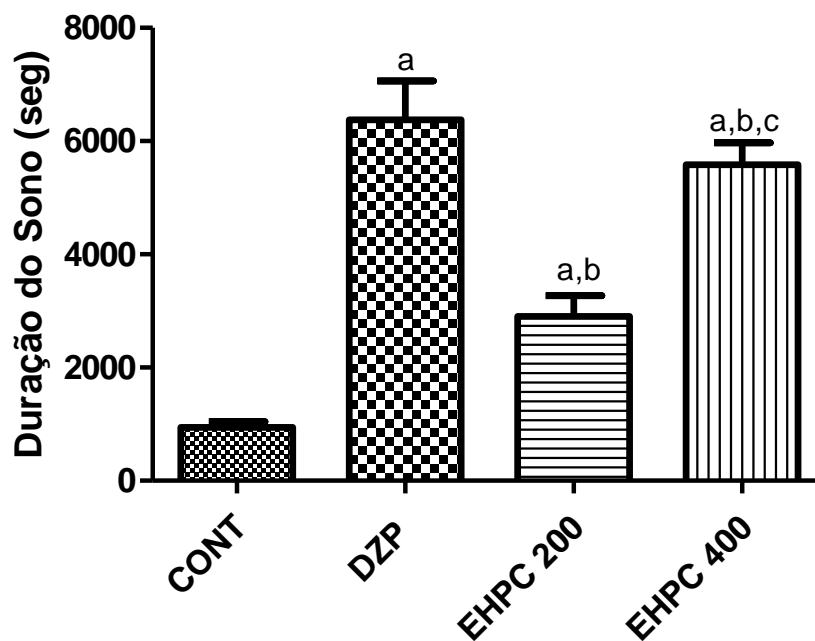


Figura 23: Efeito do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a duração do sono em camundongos tratados com pentobarbital sódico (40 mg/kg, i.p.). Os animais foram divididos em grupos de 9 animais e pré-tratados com o Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Passiflora cincinnata* - EHFPC (200 e 400 mg/Kg, i.p.) Diazepam (2mg/Kg, i.p.) e veículo (1mg/Kg, i.p.). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keuls (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c vs CONT, DZP, EHFPC 200 e EHFPC 400, respectivamente, quando $p < 0,05$. (a)CONT = salina 0,9% - 1 mg/Kg, (b)DZP = Diazepam 2 mg/Kg, i.p.; (c)EHFPC 200 = EHFPC 200 mg/kg, i.p., (d)EHFPC 400 = EHFPC 400 mg/kg, i.p.

Nado forçado: o efeito tipo antidepressivo do EHFPC foi avaliado no teste de nado forçado, através da análise do tempo de imobilidade (em segundos) do animal no cilindro com água (Figura 17). As drogas antidepressivas padrões Imipramina 30 mg/kg ($33,1 \pm 5,6$), Fluoxetina 10mg/Kg ($65,0 \pm 5,6$), Bupropiona 20mg/Kg ($67,6 \pm 8,8$) e o EHFPC 25, 50 e 100 mg/kg ($83,1 \pm 7,4$; $70,8 \pm 7,9$ e $58,3 \pm 9,5$, respectivamente) reduziram de forma significativa o tempo de imobilidade dos animais tratados em 70,1%, 41,2%, 38,7%, 24,7%, 35,8% e 47,2%, respectivamente, quando comparado ao grupo controle ($110,4 \pm 5,1$). Quando comparados entre si, os grupos tratados com 25 e 100 mg/k do EHFPC apresentam diferença significativa, indicando uma possível relação dose-efeito.

No estudo de potencialização (Figura 18), as drogas antidepressivas Imipramina 1 e 30 mg/kg ($75,0 \pm 8,3$ e $12,3 \pm 5,4$), Fluoxetina 1 e 10mg/Kg ($79,0 \pm 6,0$ e $27,4 \pm 4,0$), Bupropiona 1 e 20mg/Kg ($82,0 \pm 8,2$ e $18,6 \pm 3,9$) e o EHFPC 1 e 100 mg/kg ($94,0 \pm 8,5$ e $41,2 \pm 4,2$) apresentaram diferenças significativas entre as doses em 83,6%, 65,3%, 77,3 e 56,1% respectivamente. Por sua vez, quando comparadas aos grupos isolados, isto é, Imipramina 1 mg/kg, Fluoxetina 1 mg/kg e Bupropiona 1 mg/kg, as associações EHFPC 1 + IMIP 1 ($50,3 \pm 7,4$); EHFPC 1 + FLU 1 ($31,0 \pm 5,2$); EHFPC 1 + BUP 1 ($38,4 \pm 8,5$) reduziram de forma significativa o tempo de imobilidade dos animais tratados em 32,9%, 60,7% e 53,1% respectivamente.

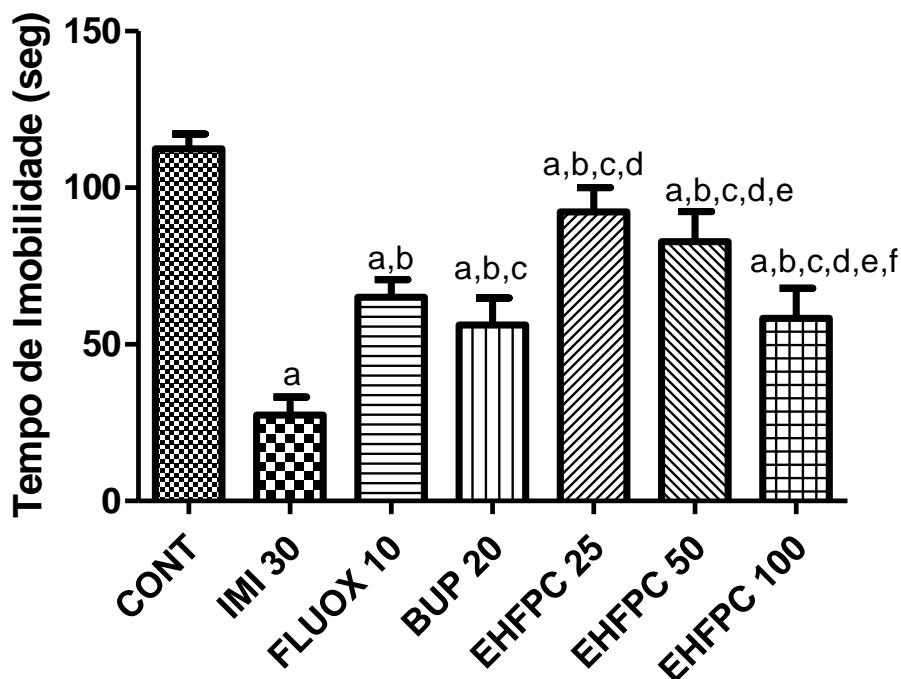


Figura 24: Efeito do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a Latência de Imobilidade. Os animais foram divididos em grupos de 9 animais e pré-tratados com o Extrato Hidroalcolico das Folhas de *Passiflora cincinnata* - EHFPC (25, 50, 100 mg/Kg, i.p.), Imipramina 30 (30 mg/Kg, i.p.), Fluoxetina 10 (10mg/Kg, i.p.), Bupropiona 20 (20mg/Kg, i.p.) e salina (1mg/Kg, i.p.).As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keusl (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c, d, e, f versus cont, Imip 30, Fluox 10, Bup 20, EHFPC 25, EHFPC 50, EHFPC 100, respectivamente, quando $p < 0,05$. (a)Cont = salina 0,9% - 1 mg/Kg, i.p.; (b)Imip 30 = Imipramina 30mg/kg, i.p.; (c)Fluox 10 = Fluoxetina 10mg/kg, i.p.; (d)Bup 20 = Bupropiona 20mg/kg, i.p.; (e)EHFPC 25 = EHFPC 25mg/kg, i.p.; (f)EHFPC 50 = EHFPC 50 mg/kg, i.p.; (g)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/kg, i.p.

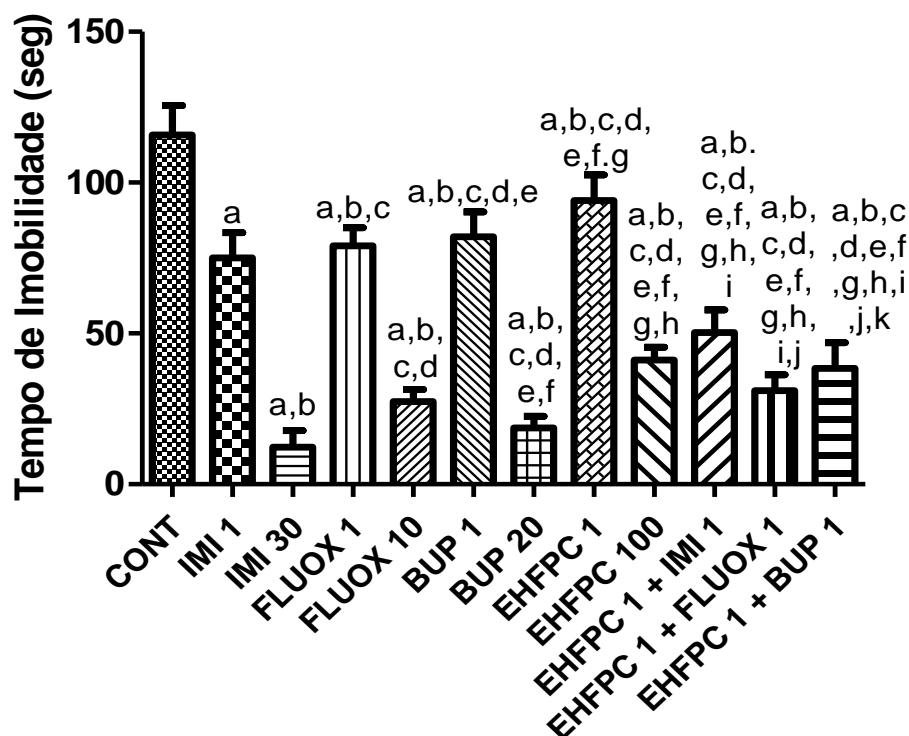


Figura 25: Efeito do EHFPC (1 e 100 mg/Kg, i.p.) em associação com antidepressivos padrões sobre a Latência de Imobilidade. Os animais foram divididos em grupos de 9 animais e pré-tratados com o Extrato Hidroalcolóico das Folhas de *Passiflora cincinnata* - EHFPC (1 e 100 mg/Kg, i.p.), Imipramina (1 e 30 mg/Kg, i.p.), Fluoxetina (1 e 10 mg/Kg, i.p.), Bupropiona (1 e 20 mg/Kg, i.p.) e salina (1mg/Kg, i.p.). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keusl (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l vs controle, Imi 1, Imi 30, Fluox 1, Fluox 10, Bup 1, Bup 20, EHFPC 1, EHFPC 100, EHFPC 1 + Imi 1, EHFPC 1 + Fluox 1, EHFPC 1 + Bup 1, respectivamente, quando $p < 0,05$. (a)CONT = Controle (veículo), (b)Imi 30 = Imipramina 30mg/kg, i.p.; (c)Fluox 10 = Fluoxetina 10mg/kg, i.p.; (d)Bup 20 = Bupropiona 20mg/kg, i.p.; (e)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/kg, i.p.; (f)Imi 1 = Imipramina 1mg/kg, i.p.; (g)Fluox 1 = Fluoxetina 1mg/kg, i.p.; (h)Bup 1 = Bupropiona 1mg/kg, i.p.; (i)EHFPC 1 = EHFPC 1 mg/kg, i.p.; (j)EHFPC 1 + IMI 1 = EHFPC 1 mg/kg, i.p. + Imipramina 1mg/kg, i.p.; (k)EHFPC 1 + FLUOX 1 = EHFPC 1 mg/kg, i.p. + Fluoxetina 1mg/kg, i.p.; (l)EHFPC 1 + BUP 1 = EHFPC 1 mg/kg, i.p. + Bupropiona 1mg/kg, i.p.

Acinesia induzida com reserpina: de acordo com a figura 19, a administração dos antidepressivos Imipramina 30 mg/kg, Fluoxetina 10 mg/kg e Bupropiona 20 mg/kg aumentou o número de cruzamentos dos animais pré-tratados com reserpina em $58,8 \pm 9,7$; $76,3 \pm 6,2$ e $81,8 \pm 4,7$ respectivamente quando comparados ao grupo tratado somente com reserpina ($24,6 \pm 3,3$). A administração do EHFPC nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg, reduziu de forma significativa e mostrou ser dose-dependente pelo número de cruzamentos dos animais ($52,0 \pm 1,7$; $45,8 \pm 4,3$; $40,5 \pm 3,9$, respectivamente), porém os valores obtidos ainda foram superiores e estatisticamente diferentes daquele do grupo tratado somente com reserpina ($24,6 \pm 3,3$). Em termos percentuais, o EHFPC nas doses de 25, 50 e 100 mg/Kg aumentou o NC em 111,3%; 86,1%; 64,6%; respectivamente, em relação ao grupo reserpina. Os animais tratados com a Imipramina, a Fluoxetina, a Bupropiona, também apresentaram o aumento deste parâmetro com percentual em 139,0%; 210,1% e 232,5% em relação também em relação mesmo grupo reserpina.

Em relação ao grupo controle ($69,1 \pm 3,3$) tratados somente com solução fisiológica (0,9%, 10mg/Kg, i.p.) o grupo reserpina reduziu em 64,3% o número de cruzamentos, o grupo tratado com imipramina (30mg/Kg, i.p.) reduziu em 14,9% o NC. Já em relação ao grupo bupropiona (20mg/Kg, i.p.) e fluoxetina (10mg/Kg, i.p.), observou um aumento do NC em 17,6% e 10,4%, respectivamente. Quando comparados ao grupo controle, os grupos do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) reduziram em 24,1%, 33,7% e 41,3%, respectivamente.

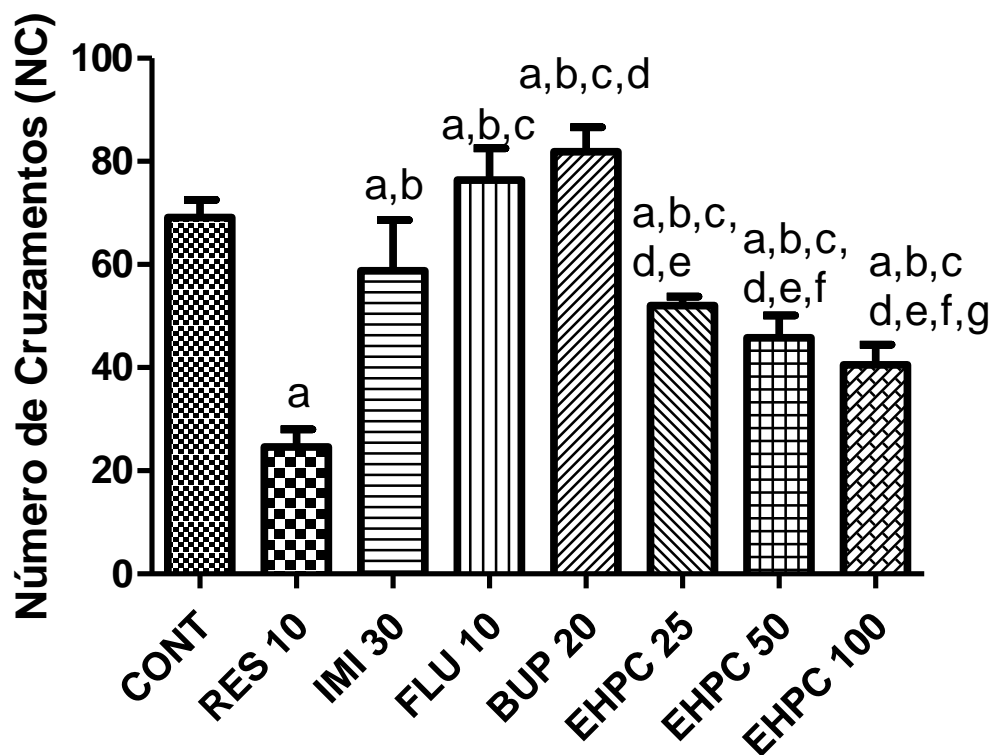


Figura 26: Efeito do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre o número de cruzamentos na acinesia induzida por reserpina. Os animais foram divididos em grupos de 6 animais e pré-tratados com o Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Passiflora cincinnata* - EHFPC (25, 50, 100 mg/Kg, i.p.), Imipramina 30 (30 mg/Kg, i.p.), Fluoxetina 10 (10mg/Kg, i.p.), Bupropiona 20 (20mg/Kg, i.p.) e salina (1mg/Kg, i.p.).As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keusl (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c, d, e, f, g, h *versus* Cont, Res 10, Imip 30, Fluox 10, Bup 20, EHFPC 25, EHFPC 50, EHFPC 100, respectivamente, quando $p < 0,05$. (a)Cont = salina 0,9% - 1 mg/Kg, i.p.; (b)Res 10 = Reserpina 10 mg/Kg, i.p.; (c)Imip 30 = Imipramina 30mg/kg, i.p.; (d)Fluox 10 = Fluoxetina 10mg/kg, i.p.; (e)Bup 20 = Bupropiona 20mg/kg, i.p.; (f)EHFPC 25 = EHFPC 25mg/kg, i.p.; (g)EHFPC 50 = EHFPC 50 mg/kg, i.p.; (h)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/kg, i.p.

Convulsões induzidas por Pentilenotetrazol: no teste da convulsão induzida por PTZ 80 mg/kg foram avaliadas a latência para aparecimento da primeira convulsão (LC) e a latência de morte (LM), ambos em segundos. Na figura 20, a administração do EHFPC 50 mg/kg não promoveu qualquer alteração sobre a latência de primeira convulsão ($101,1 \pm 5,1$) em relação ao grupo controle. Por outro lado, a administração do EHFPC 100 mg/kg ($161,7 \pm 19,9$) promoveu um aumento da latência para primeira convulsão em 56,0%, em relação ao controle ($103,6 \pm 5,6$). Quando comparadas entre si, as doses apresentam diferença estatística e, conseqüentemente, relação dose-efeito. O diazepam 1 mg/Kg ($1800 \pm 0,00$) aumentou de forma significativa a latência para primeira convulsão em 1.637%, em relação ao grupo controle.

Um efeito semelhante foi observado em relação ao parâmetro de Latência de Morte (LM) (figura 21). A administração do EHFPC 50 mg/kg não promoveu qualquer alteração sobre a latência de morte ($794,7 \pm 97,1$) em relação ao grupo controle. A administração do EHFPC 100 mg/kg ($1.343,0 \pm 147,3$) promoveu um aumento da latência de morte de 152,9%, em relação ao controle ($531,0 \pm 70,4$). Da mesma forma, quando comparadas entre si, as doses apresentam diferença estatística e a relação dose-efeito é mais uma vez observada. O DZP 1 mg/Kg ($1800 \pm 0,00$) também aumentou de forma significativa a latência de morte em 238,9%, em relação ao grupo controle.

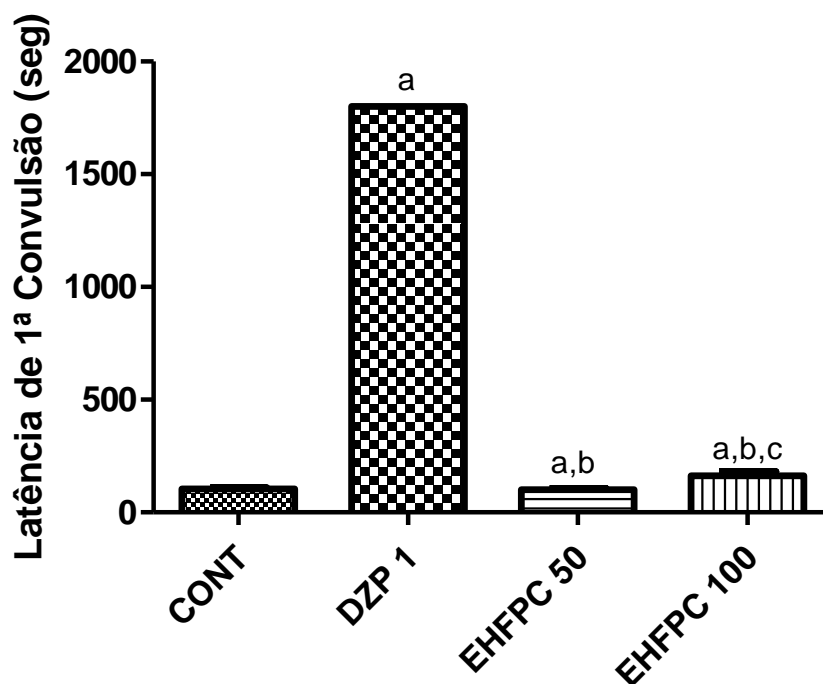


Figura 27: Efeito do EHFPC (50 e 100mg/Kg, i.p.) sobre a latência da primeira convulsão em camundongos tratados com pentilenotetrazol (PTZ). Os animais foram divididos em grupos de 9 animais e pré-tratados com o Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Passiflora cincinnata* - EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) Diazepam (1mg/Kg, i.p.) e salina (1mg/Kg, i.p.). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keusl (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c versus controle, DZP1, EHFPC 50, EHFPC 100, respectivamente, quando $p < 0,05$. (a)Cont = salina 0,9% - 1 mg/Kg, i.p., (b)DZP 1 = Diazepam 1mg/kg, i.p.; (c)EHFPC 50 = EHFPC 50 mg/kg, i.p., (d)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/kg, i.p.

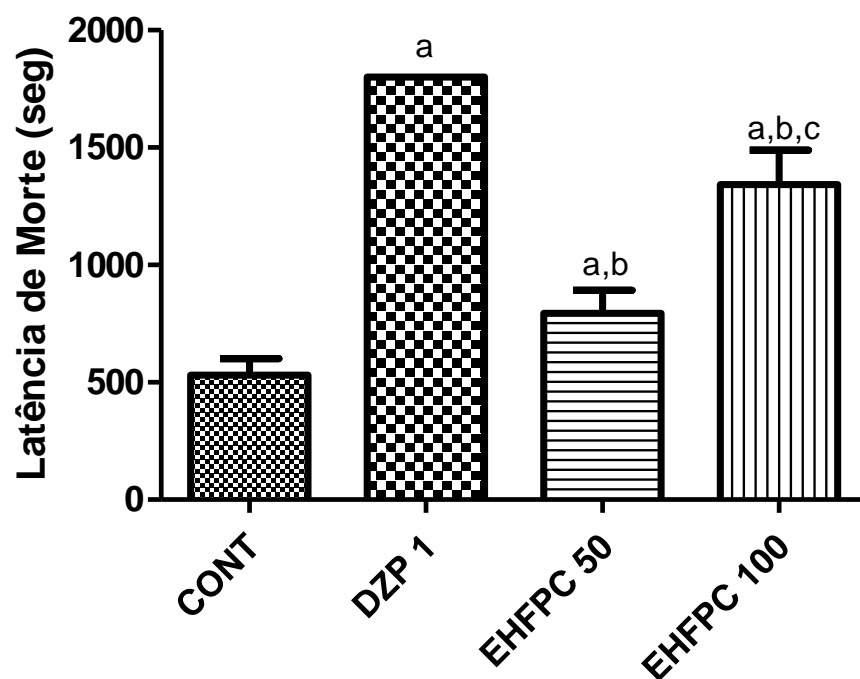


Figura 28: Efeito do EHFPC (50 e 100mg/Kg, i.p.) sobre a latência da primeira convulsão em camundongos tratados com pentilenotetrazol (PTZ). Os animais foram divididos em grupos de 9 animais e pré-tratados com o Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Passiflora cincinnata* - EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) Diazepam (1mg/Kg, i.p.) e salina (1mg/Kg, i.p.). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keusl (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c versus controle, DZP1, EHFPC 50, EHFPC 100, respectivamente, quando $p < 0,05$. (a)Cont = salina 0,9% - 1 mg/Kg, i.p., (b)DZP 1 = Diazepam 1mg/kg, i.p.; (c)EHFPC 50 = EHFPC 50 mg/kg, i.p., (d)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/kg, i.p.

Convulsões induzidas por Pilocarpina: No teste da convulsão induzida por pilocarpina 400 mg/kg, também foram avaliadas a latência para aparecimento da primeira convulsão (LC) e a latência de morte (LM), ambos em segundos. A análise da LC (figura 22) mostrou que o grupo tratado com Atropina 10 mg/kg ($3600 \pm 0,0$) aumentou de forma significativa a LC em 499,2%, em relação ao grupo controle. No entanto, não foi observada qualquer diferença significativa entre os grupos tratados com Atropina 0,1 mg/kg ($696,7 \pm 46,9$), e EHFPC 5, 25 e 50 mg/kg ($570,5 \pm 23,8$, $532,7 \pm 45,8$ e $789,3 \pm 80,9$ respectivamente) em relação ao grupo controle ($600,8 \pm 26,2$). No estudo de potencialização, a associação EHFPC 5 mg/kg + Atropina 0,1 também não apresentou diferença entre os grupos controle, EHFPC 5 mg/kg e Atropina 0,1 mg/kg.

Na figura 23 observa-se um aumento significativo da LM nos grupos tratados com Atropina 10 mg/kg ($3600,0 \pm 0,0$) e EHFPC 25 e 50 mg/kg ($2186 \pm 516,7$ e $3285 \pm 315,2$, respectivamente) em relação ao grupo controle ($815,2 \pm 92,9$). Em termos percentuais, estes valores representam um aumento de 341,6%, 168,1% e 302,9%, respectivamente, no tempo de morte. Não foi observado aumento significativo da LM nos grupos tratados com Atropina 0,1 mg/kg ($1015 \pm 73,2$) e EHFPC 5 mg/kg ($964,0 \pm 71,0$). Entretanto, no estudo de potencialização, a associação EHFPC 5 mg/kg + Atropina 0,1 mg/kg apresentou um aumento significativo ($3600 \pm 0,0$) na LM em relação aos grupos controle, EHFPC 5 mg/kg e Atropina 0,1 mg/kg.

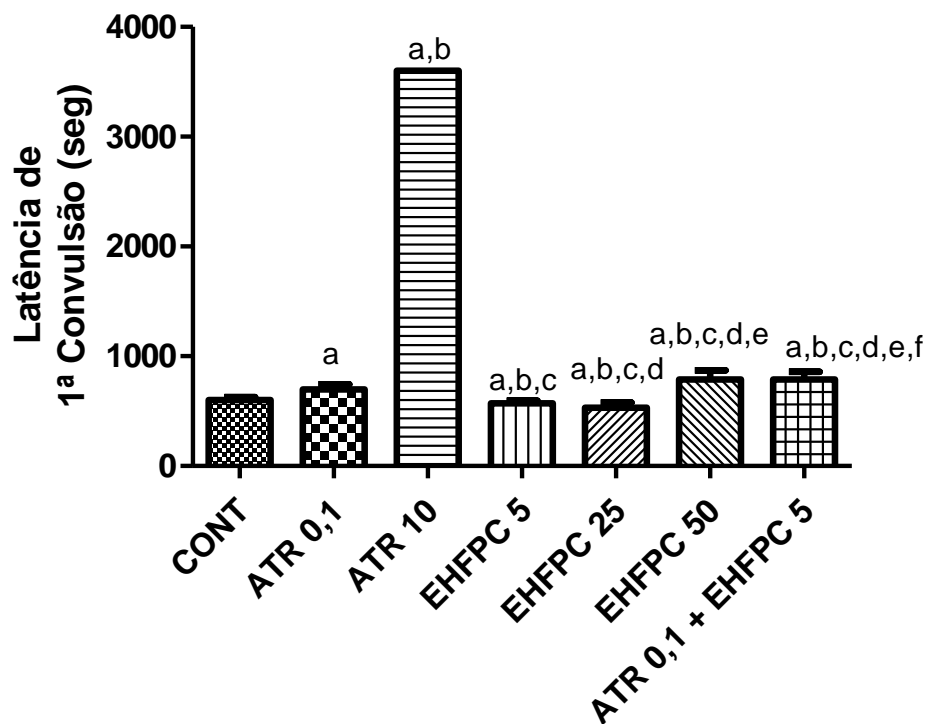


Figura 29: Efeito do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a latência da primeira convulsão de camundongos tratados com pilocarpina (400 mg/kg, i.p.). Os animais foram divididos em grupos de 9 animais e pré-tratados com o Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Passiflora cincinnata* - EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) Diazepam (1mg/Kg, i.p.) e veículo (1mg/Kg, i.p.). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keusl (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c, d, e, f, g versus controle, ATR 0,1, ATR 10, EHFPC 5, EHFPC 25, EHFPC 50, ATR 01 + EHFPC 5, respectivamente, quando $p < 0,05$. (a)Controle = salina 0,9% - 1mg/Kg, i.p., (b)Imip 30 = Imipramina 30mg/kg, i.p.,; (c)Fluox 10 = Fluoxetina 10mg/kg, i.p.,; (d)Bup 20 = Bupropiona 20mg/kg, i.p., (e)EHFPC 25 = EHFPC 25mg/kg, i.p., (f)EHFPC 50 = EHFPC 50 mg/kg, i.p., (g)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/kg, i.p.

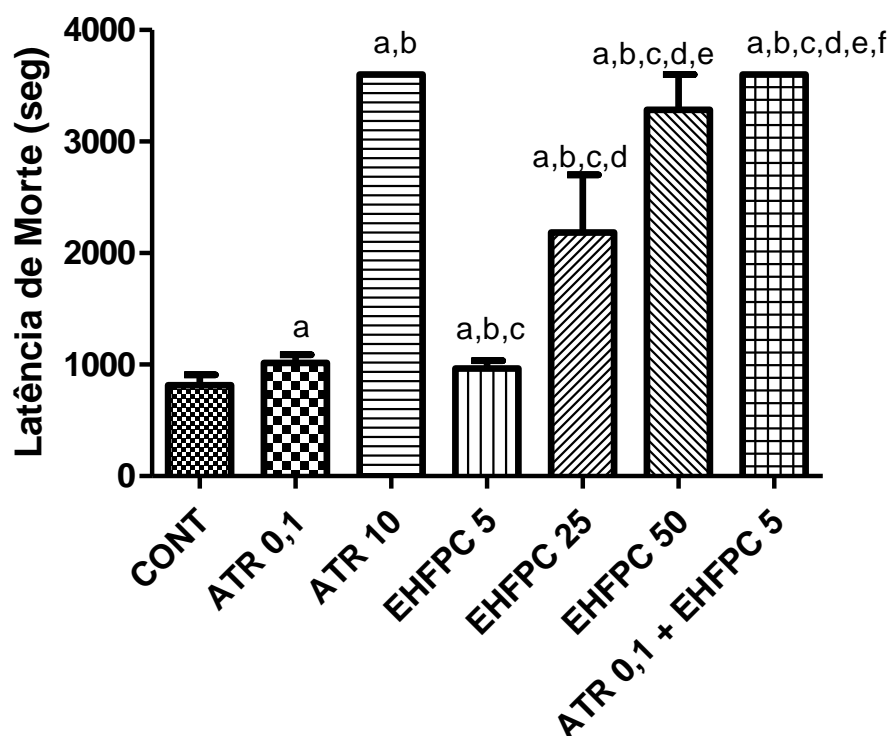


Figura 30: Efeito do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a latência de morte em camundongos tratados com pilocarpina (400 mg/kg, i.p.). Os animais foram divididos em grupos de 9 animais e pré-tratados com o Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Passiflora cincinnata* - EHFPC (25, 50, 100 mg/Kg, i.p.) Diazepam (1mg/Kg, i.p.) e veículo (1mg/Kg, i.p.). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Student Newman Keusl (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c, d, e, f, g versus controle, ATR 0,1, ATR 10, EHFPC 5, EHFPC 25, EHFPC 50, ATR 01 + EHFPC 5, respectivamente, quando $p < 0,05$. (a)Controle = salina 0,9% - 1mg/Kg, i.p., (b)ATR 0,1 = Atropina 0,1mg/Kg, i.p.; (c)ATR 10 = Atropina 10 mg/Kg, i.p.; (d)EHFPC 5 = EHFPC 5 mg/Kg, i.p.; (e)EHFPC 25 = EHFPC 25mg/kg, i.p., (f)EHFPC 50 = EHFPC 50 mg/kg, i.p., ATR 01 + EHFPC 5 = Atropina 0,1 mg/Kg + EHFPC 5 mg/kg, i.p.

Tremores induzidos por oxotremorina: no teste realizado, o parâmetro avaliado foi a intensidade do tremor induzido pela oxotremorina (OXO 0,5 mg/Kg, i.p.). A figura 24 mostra que o EHFPC (25, 50, 100) reduziram de forma significativa os tremores ocasionados pela oxotremorina. Onde no primeiro intervalo de tempo (10 minutos) a atropina reduziu em 100% e 13,4%, 20% e 46,7% para o EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.), respectivamente em relação ao controle: Controle (SF, 0,9%) = 3 ± 0 ; Atropina 10mg/Kg = 0 ± 0 ; EHFPC 25mg/Kg = $2,6 \pm 0,1$; EHFPC 50mg/Kg = $2,4 \pm 0,1$; EHFPC 100mg/Kg = $1,6 \pm 0,1$. Não havendo significância do ponto de vista estatístico quando comparado ao grupo EHFPC 25 e 50 em relação ao grupo controle.

No segundo intervalo de tempo (20 minutos) a atropina (10 mg/Kg, i.p.) e o EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) reduziram a intensidade dos tremores em 96,7%; 40%; 60%; 53,4% em relação ao controle: Controle (SF 0,9%) 3 ± 0 ; Atropina 10mg/Kg = $0,1 \pm 0,1$; EHFPC 25mg/Kg = $1,8 \pm 0,1$; EHFPC 50mg/Kg = $1,2 \pm 0,1$; EHFPC 100mg/Kg = $1,4 \pm 0,1$. Do ponto de vista estatístico há uma diferença significativa em relação ao grupo controle. E não há significância quando comparado os grupos extratos entre si.

No terceiro e último intervalo de tempo (30 minutos) foi observado que a atropina e os EHFPC (25, 50 e 100mg/Kg, i.p.) reduziram em 91,4%; 21,7%; 56,5% e 52,1%, respectivamente, em relação ao controle: Controle (SF 0,9%) $2,3 \pm 0,1$; Atropina 10mg/Kg = $0,2 \pm 0,1$; EHFPC 25mg/Kg = $1,8 \pm 0,2$; EHFPC 50mg/Kg = $1,3 \pm 0,1$; EHFPC 100mg/Kg = $1,2 \pm 0,1$. Não há diferença estatística entre os grupos dos extratos (50 e 100) em relação ao grupo controle.

Tremores Induzidos por Oxotremorina

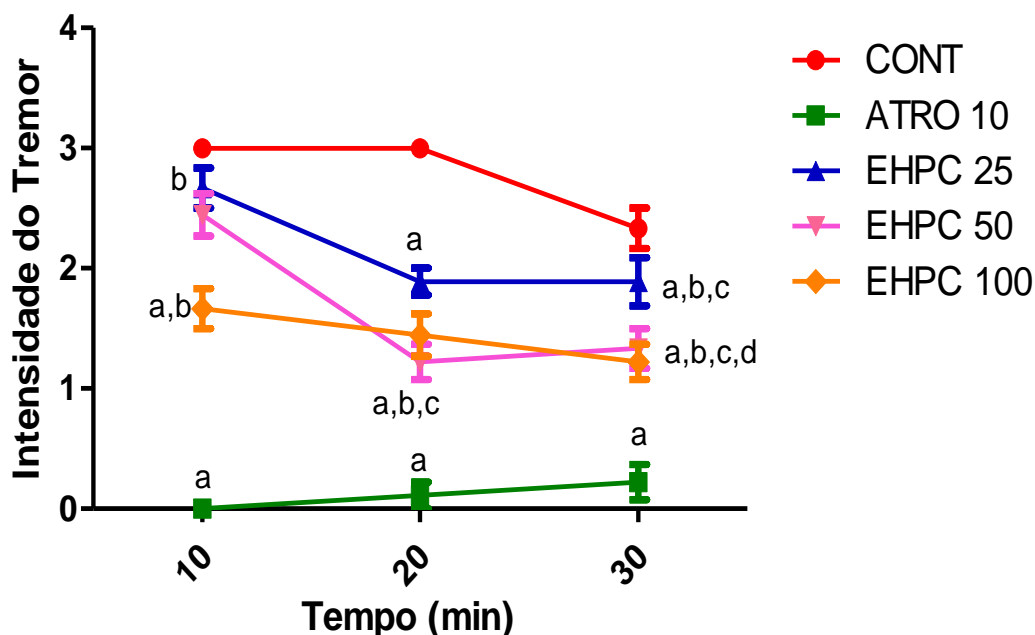


Figura 31: Efeito do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a intensidade dos tremores em camundongos tratados com oxotremorina (0,5 mg/kg, i.p.). Os animais foram divididos em grupos de 9 animais e pré-tratados com o Extrato Hidroalcolico das Folhas de *Passiflora cincinnata* - EHFPC (25, 50, 100 mg/Kg, i.p.) Atropina (10mg/Kg, i.p.) e veículo (salina 0,9%; 1mg/Kg, i.p.). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido por Bonferroni. Valores significativos de a, b, c, d, e para controle, ATR 10, EHFPC 25, EHFPC 50, EHPFC 100, respectivamente, quando $p < 0,05$. (a)Controle = salina 0,9% - 1mg/Kg, i.p., (b)Atropina 10 = Atropina 10mg/Kg, i.p. (c)EHFPC 25 = EHFPC 25mg/kg, i.p., (d)EHFPC 50 = EHFPC 50 mg/kg, i.p., (e)EHFPC 100 = EHFPC 100 mg/kg, i.p.

Dosagem do conteúdo de monoaminas e metabólitos em corpo estriado: a administração do EHFPC 100 mg/kg promoveu aumento significativo nos níveis estriatais de NA ($5831,0 \pm 445,0$) em 50% e DA ($5085,0 \pm 739,6$) em 37,8% e redução do conteúdo de DOPAC ($1170,0 \pm 143,3$) em 30%, em relação aos seus respectivos controles ($2912,0 \pm 179,3$; $3159,0 \pm 157,3$ e $1673,0 \pm 122,2$), como mostrado nas figuras (25, 26 e 27).

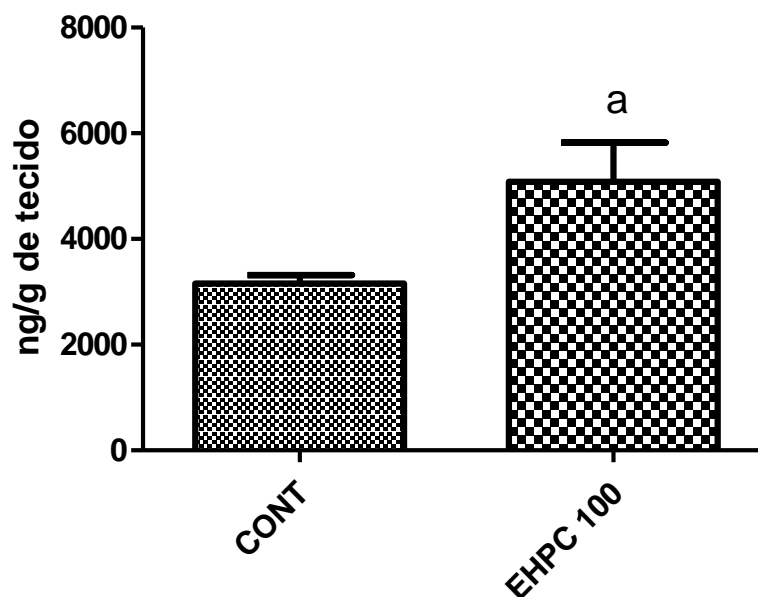


Figura 32. Quantificação de catecolaminas (Dopamina) em corpo estriado de camundongos tratados com EHFPC (100 mg/Kg, i.p.). Os animais foram divididos em grupos de 4 animais pré-tratados com o EHFPC (100 mg/Kg, i.p.) e salina (1mg/Kg, i.p.), em seguida foram decaptados e dissecados o cérebro para remoção do corpo estriado e preparo do homogenato, para quantificação de catecolaminas por CLAE. Os dados representam a média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através do teste T, seguido de Unpaired t test. CONT.: controle salina 0,9% - 1mg/Kg, i.p.; EHFPC 100 = Extrato Hidroalcoólico das folhas de *P. cinnamata* 100 mg/Kg.

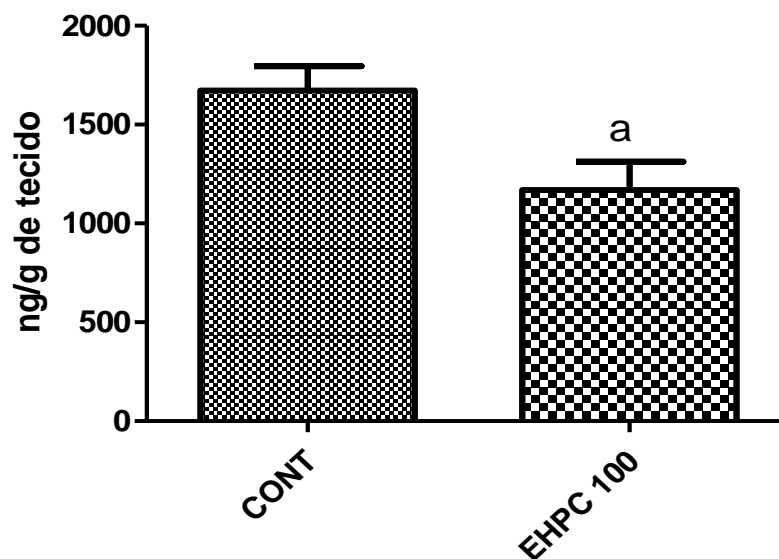


Figura 33. Quantificação do metabólito (Dopac) em corpo estriado de camundongos tratados com EHFPC (100 mg/Kg, i.p.). Os animais foram divididos em grupos de 4 animais e pré-tratados com o EHFPC (100 mg/Kg, i.p.) e salina (1mg/Kg, i.p.), em seguida foram decaptados e dissecados o cérebro para remoção do corpo estriado e preparo do homogenato, para quantificação de catecolaminas por CLAE. Os dados representam a média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através do teste T, seguido de Unpaired t test. CONT.: controle salina 0,9% - 1mg/Kg, i.p.; EHFPC 100 = Extrato Hidroalcoólico das folhas de *P. cincinnata* 100 mg/Kg.

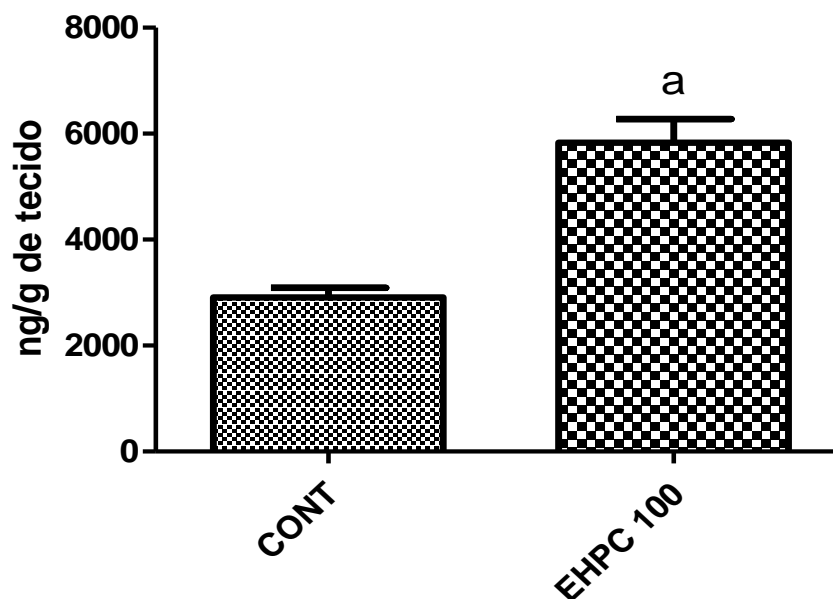


Figura 34. Quantificação de catecolaminas (Noradrenalina) em corpo estriado de camundongos tratados com EHFPC (100 mg/Kg, i.p.). Os animais foram divididos em grupos de 4 animais e pré-tratados com o EHFPC (100 mg/Kg, i.p.) e salina (1mg/Kg, i.p.), em seguida foram decaptados e dissecados o cérebro para remoção do corpo estriado e preparo do homogenato, para quantificação de catecolaminas por CLAE. Os dados representam a média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através do teste T, seguido de Unpaired t test. CONT.: controle salina 0,9% - 1mg/Kg, i.p.; EHFPC 100 = Extrato Hidroalcoólico das folhas de *P. cinnamomata* 100 mg/Kg.

Discussão

6. DISCUSSÃO

Passiflora é um gênero bastante conhecido por ser consumido como alimento pela população, um exemplo disto são o maracujá amarelo (*P. edulis*), maracujá doce (*P. alata*) e o maracujá vermelho (*P. incarnata*), que por sua vez são utilizadas para o tratamento de diversas patologias do SNC, tais como ansiedade, nevralgia e distúrbios do sono (MULLER, 2006; SENA, 2009). A *P. cincinnata* é uma espécie ainda pouco estudada e na constante busca por substâncias com atividades farmacológicas atuantes no SNC, foram fatores que incentivaram o desenvolvimento do presente trabalho. Na região do cariri, a *P. cincinnata* é muito utilizada pela população local para o tratamento de doenças relacionadas ao sistema nervoso e afecções do trato respiratório (PROVENSI, 2007). No entanto diferentemente daquelas, muito pouco se sabe a respeito da composição química, sendo escassos os relatos na literatura científica que avaliem e validem os efeitos centrais.

Com os achados na literatura, foi visto que não há informações concretas e suficientes a respeito da ação central de plantas do gênero *Passiflora* e da espécie em estudo, a *P. cincinnata* e despertou o interesse em estudar mais detalhadamente, a fim de estabelecer parâmetros mais concretos em relação a atividade neurofarmacológica e a composição química correspondente desta espécie encontrada com facilidade na Chapada do Araripe, no Cariri Cearense. Por ser de gênero com maioria dos frutos comestíveis, há uma grande quantidade de estudos de caracterização química dos frutos, e não das suas demais partes aéreas, tais como as folhas, caule, sementes, casca, flor, onde há poucos relatos na literatura em que se possa corroborar com os resultados encontrados (MULLER, 2006). Desta forma, o presente trabalho estudou a possível utilidade de plantas da flora brasileira, como o maracujá-do-mato, no tratamento de alguns transtornos comportamentais apresentando efeitos farmacológicos interessantes, na qual a importância será discutida a seguir.

Vários modelos experimentais podem ser utilizados para avaliar o efeito de drogas sobre o comportamento. No presente estudo, a atividade ansiolítica, sedativa, e anticonvulsivante que são popularmente atribuídas à *Passiflora cincinnata* foram avaliadas por meio de testes comportamentais específicos. Para tanto, foi obtido um extrato hidroalcoólico das folhas de *Passiflora cincinnata* (EHFPC) como descrito em

capítulos anteriores e analisado quanto à composição química. A análise fitoquímica do EHFPC evidenciou as seguintes classes de metabólitos secundários: leucoantocianidinas, antocianinas, antocianidinas, catequinas, fenóis, taninos (flobabênicos – condensados ou catéquicos), flavononas e flavonoides.

Os metabólitos secundários é o que define a capacidade de sobreviver de cada espécie em ecossistemas os quais se inserem. Produzidos por vias biossintéticas diferentes, onde são caracterizadas pelo gênero em família de cada espécie, esses metabólitos são interligados aos metabólitos primários, uma vez que estes fornecem moléculas de base para moléculas dos metabólitos secundários. Variados mecanismos de evolução molecular foram propostos para justificar a ampla diversidade de metabólitos secundários encontrados na natureza. Pela forma de condução da evolução das estruturas moleculares, é que explica a diversificação de atividades biológicas dos vegetais e dos metabólitos (COLETA, 2008). Os flavonóides possuem capacidade de modular atividades de enzimas, o que pode também afetar o comportamento de muitos sistemas celulares, o que pode levar a efeitos anti-hepatotóxicos, anti-alérgico, anti-inflamatório, antiosteoporótico e até anti-tumoral (Carlo *et al*, 1999).

Os flavonóides são importantes no controle de qualidade dos fitoterápicos, além de representarem um dos grupos fenólicos mais importantes e de maior diversidade e encontrados com frequência em produtos de origem vegetal. Tem função de proteger contra raios ultravioleta, insetos, fungos, vírus e bactérias que atingem o vegetal. Atraem insetos com finalidade de polinização, tem atividade antioxidante, controle de ação de hormônios vegetais e podem ser usados para caracterização taxonômica. Os de origem natural, de frequência oxigenados e também conjugados com açúcares, também denominada de glicosídeos são formados pela ligação de um ou mais açúcares e grupos hidroxilas por ligações facilmente destruídas por hidrólise ácida (MULLER, 2006).

Nos testes de prospecção fitoquímica, cromatografia de camada delgada (CCD) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) realizada por Strasser (2011) com *Passiflora serratodigitata* foram encontrados alcalóides tanto na droga vegetal, quanto no extrato bruto. O teste de identificação de alcalóides do extrato das folhas de *Passiflora cincinnata*, contrariamente, indicou ausência dessa classe de metabólitos.

Este resultado corrobora com os estudos de Barbosa (2006), Muller (2006) e Coleta (2008) ao afirmarem que os alcalóides não são os constituintes predominantes nas espécies de *Passiflora*. Por sua vez, em outras espécies de *Passiflora*, é comprovada a presença de metabólitos secundários como os alcalóides e flavonóides, um dos principais constituintes químicos que apresentam um efeito modulador do SNC (PROVENSI, 2007).

A CLAE é um método físico-químico de separação que possui um melhor desempenho para quantificação e detecção de compostos em menos tempo de análise (VILLAS-BÔAS, 2007). O perfil cromatográfico do extrato de *Passiflora cincinnata* quantificou e identificou outros compostos majoritários como ácidos fenólicos e flavonoides, as quais se destacam ácido caféico, ácido clorogênico, ácido gálico e ácido elágico. Em se tratando dos ácidos fenólicos, são compostos que podem não estar diretamente relacionada à atividades farmacológicas. No EHFPC foram identificados outros compostos majoritários como os flavonóides, as quais se destacam catequina, epicatequina, rutina, quercitrina, quercetina e caempferol.

Os flavonóides representam um dos grupos de compostos fenólicos mais importantes e de maior diversidade, encontrados com frequência em produtos de origem vegetal. Esses compostos tem função de proteger os vegetais contra raios ultravioleta, insetos, fungos, vírus e bactérias. Muitos deles têm atividade antioxidante e podem ser encontrados com frequência na forma oxigenada ou conjugados com açúcares. Podem ser usados para caracterização taxonômica ou como marcadores de qualidade. A *Passiflora edulis*, por exemplo, é caracterizada devido à grande quantidade de flavonóides, tais como, vitexina, saponina, saponarina, isorientina, quercetina e rutina (LUTOMSKI E MALEK, 1975; MULLER, 2006). O flavonóide rutina, foi detectado também nas espécies de *Passiflora edulis*, *Passiflora alata*, *Passiflora incarnata* (MORAES, 1995; PIETTA *et al*, 1996). No presente trabalho, a técnica da CLAE também identificou a presença de rutina, além de quercetina e de outros flavonóides na composição do EHFPC. Isto reforça o fato de que os flavonóides parecem ser componentes majoritários nas espécies de *Passiflora*, responsáveis, pelo menos em parte, pelos efeitos farmacológicos comumente associados a estas plantas.

Nos Estudos de Coleta (2008), mostra resultado esperado para flavonóides em *P. edulis* Sims na composição do extrato das folhas secas da planta, uma vez que no estudo com *P. cincinnata* verificou-se também a presença desses metabólitos no EHFPC, onde estes são compostos predominantes nas variadas espécies do gênero *Passiflora*.

As saponinas também representam uma classe de metabólitos secundários encontrada em várias espécies de *Passifloras*. Atualmente as saponinas estão sendo estudadas por possuírem atividades farmacológicas diversas (Villas-Bôas, 2007). Orsini e colaboradores (2007) relataram pela primeira vez presença de saponinas em *Passiflora quadrangulares*. Bombardeli e colaboradores (1975) isolaram de *Passiflora edulis* a saponina quadrangulosídeo, que também foi identificada posteriormente na *Passiflora alata* por Yoshikawa et al., (2000). Reginatto e colaboradores (2001) também encontraram em *Passiflora edulis* a passiflorina, saponina a qual os pesquisadores atribuem o efeito sedativo e ansiolítico do gênero *Passiflora*. Uma vez que esse metabólito não foi confirmado nos testes de prospecção química com a *P. cincinnata*.

O uso de produtos de origem natural é uma prática muito comum, que está associada à cultura popular e a outros fatores, tais como o acesso fácil, o baixo custo e à crença de que por ser natural, o composto é isento de toxicidade. Porém, isto tem instigado alguns pesquisadores no intuito de investigarem o mecanismo de ação e identificar o potencial tóxico dos fitoterápicos, pois muitos vegetais podem levar riscos à saúde humana (VEIGA JÚNIOR, 2005). De forma semelhante, no presente trabalho foi investigado o potencial tóxico do EHFPC através da determinação da DL₅₀, e do perfil farmacológico (teste hipocrático de Malone) do extrato.

Para a determinação da DL₅₀ foram utilizadas doses crescentes do EHFPC, com limite de 5000 mg/kg, i.p. Neste teste, o extrato apresentou baixa toxicidade, uma vez que não foram registradas mortes nos grupos testados, sugerindo que a DL₅₀ do EHFPC parece ser superior a 5000 mg/kg quando administrado via oral e via intraperitoneal, não apresentando também quaisquer sinais de toxicidade e letalidade. No entanto se faz necessário um estudo mais detalhado, observando o material biológico em cortes histopatológicos e realizando uma análise bioquímica,

melhorando os devidos esclarecimentos em relação a alterações fisiológicas. Lembrando que optou-se por usar doses menores que 10% da DL₅₀ a fim de minimizar efeitos colaterais, onde a determinação da dose letal mediana foi importante nesse aspecto.

Os dados do teste hipocrático com o EHFPC apresentaram efeito depressor do SNC. No entanto, foi preciso confirmar com testes em modelos animais para definir estes achados. Foram utilizadas doses de 5000, 2000, 625, 195, 61 e 19 mg/Kg para o teste hipocrático e identificar doses depressoras e efeitos tipo antidepressivo e para os testes farmacológicos doses de 400, 200, 100 50 e 25 mg/Kg que estão na faixa de baixa toxicidade e que mostram efeitos significativo.

Esse resultado é corroborado por alguns trabalhos, como o de Rojas e colaboradores (2006) ao indicarem que a DL₅₀ do extrato etanólico de *P. edulis* seria de aproximadamente 10.000 mg/Kg, via oral. Nascimento e colaboradores (2009) também observaram baixa toxicidade em um fitoterápico contendo *P. incarnata*, quando administrado via oral. Neste trabalho, os autores concluíram que o fitoterápico é bastante seguro e, mesmo em doses elevadas, o mesmo não promoveu mudanças nos parâmetros clínicos, laboratoriais e eletrocardiográficos dos sujeitos do estudo.

A ansiedade é um termo utilizado para definir o estado emocional normal associado ao estresse ou dificuldade psicológica. O termo “neurose de ansiedade” foi dado por Sigmund Freud ao apresentar estudos de caso como os primeiros relatos sobre esse transtorno, que englobava os três graus de ansiedade, sendo este termo usado até a década de 1980, após o lançamento do DSM – III – Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (SANGER, 1991; KAPLAN & SADOK, 1999).

Para a busca de novos fármacos, são criados diversos modelos animais, que estão descritos na literatura, dentre esses modelos, está o modelo de Labirinto em Cruz Elevado (LCE) e o Campo Aberto (CA), estes são amplamente aceitos para ensaios farmacológicos de estudo da ansiedade. No LCE a diferença entre o número de entradas nos braços abertos e o número de entrada nos braços fechados, bem como a razão entre o tempo de permanência nos braços abertos e o tempo de permanência nos braços fechados, serão os parâmetros que irão identificar substâncias ansiolíticas ou ansiogênicas. Os roedores tem aversão natural por áreas abertas, marcador usado para

justificar o ensaio. Com o uso de ansiolíticos clinicamente eficazes foi demonstrado um aumento do número de entrada nos braços abertos, já com substâncias ansiogênicas esses parâmetros são diminuídos (COLETA, 2008). No CA, os parâmetros avaliados são, o número de cruzamentos, número de *hearing* e número de *grooming*. Estes avaliam a atividade locomotora do animal.

Os testes de atividade locomotora e exploração em roedores são amplamente utilizados na avaliação de agentes psicotrópicos e novos fármacos que atuam no SNC. Para avaliar os efeitos dessas drogas, muitos aparatos são utilizados como, por exemplo, o campo aberto (CA) (ARCHER, 1973). Este é um dos modelos mais usados para a descoberta de medicamentos que agem no SNC, onde o animal é inserido em um ambiente desconhecido, sem possibilidades de evadir-se pela existência de paredes laterais que cercam o ambiente. O que possibilita avaliar a atividade exploratória do animal (BELZUM, 1999; WALSH *et al*, 1976)

No teste de CA, o EHFPC reduziu de forma significativa os grupos do EHFPC (400 e 200 mg/Kg) e o diazepam (1 mg/Kg) os parâmetros de números de cruzamento, *grooming* e *rearing*. Segundo Perez e colaboradores (1998) esta redução indica ação sedativa do SNC, o que pode ser observada pela redução espontânea da locomoção, ou seja, diminuição da excitabilidade do SNC. Lembrando que nas doses de 100, 50 e 25 mg/Kg não houve redução significativa da locomoção no campo aberto. Os benzodiazepínicos com seu potencial ansiolítico afetam nesse parâmetro diminuindo a marcha, o que a dose mais efetiva do EHFPC (100 mg/Kg) não afetou locomoção e o número de *grooming* e o número de *rearing*. Esses últimos parâmetros, são do próprio comportamento dos animais, que consiste em lambar as patas, a cabeça, as costas e a genitália com movimentos repetitivos (VAN *et al*, 1994; MACFARLAND & REENDER, 1974). Com a ação dos benzodiazepínicos esses comportamentos são controlados pelos neurônios GABAérgicos (LUCETTI, 2010), pois a sensibilidade dos receptores GABA está reduzida ou há uma discreta redução na função desses receptores, o que leva a uma hipótese de falha desse sistema. Pelo sistema noradrenérgico, que está relacionado com o sistema nervoso simpático, implica em investigações com as catecolaminas que estão envolvidas na ansiedade. No sistema serotoninérgico há uma redução dos níveis de serotonina (BARBOSA, 2006; SENA, 2009).

Entendendo a ansiedade via neurobiológica, compreendemos o que engloba um circuito neuronal bastante complexo que envolve diversos neurotransmissores. O primeiro sistema cogitado seria o GABAérgico, pela teoria das desordens neuronais da ansiedade. Porém, atualmente cogita-se em evidências do envolvimento dos outros sistemas tais como o serotoninérgico, noradrenérgico, glutamatérgico e vias neuroendócrinas (eixo hipotálamo – pituitária – adrenal), que está relacionado ao estresse, pois libera o hormônio adrenocorticotrófico através do fator de liberação de corticotrofina. O hipotálamo produz o CRF (fator ou hormônio liberador de corticotrofinas) (PROVENSI, 2007).

Há uma grande variedade de estudos farmacológicos com espécies do gênero *Passiflora*, porém poucos mostram a relação dos efeitos com os constituintes químicos da planta, e relatam também relevantes resultados etnofarmacológicos e a existência de fármacos que evidencia uso do gênero *Passiflora* na medicina popular e natural como tranquilizante e ansiolíticos (MULLER, 2006; COLETA, 2008; SENA, 2009).

Drogas ansiolíticas quando administradas em ratos, reduzem o estado de imobilidade, estado este que é produzido pelo animal quando ele é imposto em ambiente não familiar, o rato tende a permanecer em alerta por algum tempo, o que caracteriza a supressão comportamental (RANG *et al*, 2001) .

Muitos fármacos da classe dos benzodiazepínicos possuem atividade ansiolítica e sedativa. Porém esses fármacos possuem efeitos colaterais indesejados, tais como hipnose, relaxamento muscular, amnésia anterógrada, prejuízo do desempenho psicomotor, dependência e tolerância ao álcool. A sedação também é observada em drogas antipsicóticas, através do bloqueio dos receptores dopaminérgicos (GRAEFF, 1999). No intuito de diminuir tais efeitos indesejados, as pesquisas envolvendo animais e produtos naturais estão crescendo. Esses estudos seguem metodologias que foram validadas para a busca de novos agentes ansiolíticos tais como o labirinto em cruz elevado e o campo aberto.

O tratamento da ansiedade como a evolução da farmacologia de ansiolíticos seletivos ou benzodiazepínicos, mas antigamente eram usados brometos e até mesmo

barbitúricos (BARBOSA, 2006). Com o conhecimento específico e detalhado sobre o mecanismo de ação dos fármacos ansiolíticos, ainda há lacunas sobre o fenômeno fisiológico em relação as defesas normais ou patológica observada nos animais. A via mais estudada para o controle da ansiedade é a GABAérgica. Várias drogas ansiolíticas usadas rotineiramente, principalmente os benzodiazepínicos, estão entre as classes de drogas que modulam alostericamente os receptores gabaérgicos do tipo A (OLSON, 2002).

O LCE (labirinto em cruz elevado) é um dos modelos mais usados para detectar compostos que tenham ação ansiolítica com o complexo GABAA/Benzodiazepínico (RODGERS *et al*, 1997). Quando testado estas substâncias em camundongos e há um aumento do número de entrada nos braços abertos do LCE e conseqüentemente o aumento do tempo de permanência nos braços abertos. Desta forma, observamos os resultados com o EHFPC de maneira que houve significância para este modelo, onde os resultados serão abordados a seguir.

No estudo realizado por Romanini e colaboradores (2006), observou um efeito sedativo na fração aquosa (FA) e Extrato Fluido (EF) de *Passiflora alata* quando administrado via oral, enquanto doses maiores do EF e da FA diminuíram a atividade locomotora geral, quando observado nos testes de CA e LCE, o EF e a FA das folhas de *P. alata* foi confirmada o efeito sedativo, pois o EF (300mg/Kg) e a FA (300 e 600mg/Kg) apresentaram significativa redução da atividade locomotora quando analisados o número de cruzamentos e de *rearing*. Já o ansiolítico padrão (diazepam) que apresentou efeito positivo no LCE não alterou a locomoção dos animais no CA. Romanini e colaboradores (2006) também investigaram a atividade antidepressiva em camundongos, a partir da administração oral do EF (Extrato Fluido) e da FA (Fração Aquosa) das folhas de *P. alata*, o que concluíram que ambos extratos aumentaram o efeito sedativo.

Neste sentido, os dois modelos animais de ansiedade e atividade locomotora (LCE e CA), no CA a dose de 400mg/Kg do EHFPC reduziu significativamente a atividade locomotora, até mesmo quando comparada ao diazepam (ansiolítico padrão), já comparando as doses de 50 e 100mg/Kg o efeito da redução da atividade locomotora não foi alterado. No modelo do LCE, considerando o número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos, a dose de 100mg/Kg do EHFPC aumentou

significativamente, quando comparado ao grupo controle negativo e ao grupo diazepam. Tais resultados corroboram com os testes realizados por Romanini e colaboradores (2006) em que nas doses mais elevadas (300 e 600mg/Kg) dos extratos de *P. alata* observa-se uma redução da atividade locomotora assim como a concentração de 400mg/Kg do EHFPC também apresenta tal efeito. O efeito ansiolítico apresentado pelo diazepam na dose de 1 mg/Kg em ambos ensaios farmacológicos foi positivo, efeito semelhante ao encontrado no estudo de *P. alata* na concentração de 100 mg/Kg (SALOMÃO, 2003), o mesmo encontrado nos resultados com a *P. cincinnata* na concentração de 100mg/Kg do extrato. Coleta (2008) estudando a *P. edulis* no teste de LCE evidenciou uma atividade do tipo ansiolítica para a dose de 100mg/Kg, corroborando com os resultados para teste de atividade ansiolítica nos ensaios farmacológicos com a *P. cincinnata* também na concentração de 100mg/Kg.

No LCE, a administração do EHFPC na dose de 100 mg/Kg produziu um efeito semelhante ao observado no diazepam (1 mg/Kg) ambos diminuindo o número de entrada e o tempo de permanência nos braços fechados, e aumentando o número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos. Para comprovar o mecanismo de ação, se seria semelhante ao diazepam, foi associado o EHFPC ao flumazenil, o antagonista benzodiazepínico, o que observou resultados positivos e semelhantes a droga padrão, revertendo os efeitos ansiolíticos. O que possivelmente, o EHFPC tenha mecanismo do tipo benzodiazepínico.

Analisando a atividade farmacológica do extrato da *P. edulis*, demonstra que esta possui efeito do tipo ansiolítico (COLETA, 2008). Ainda o mesmo autor utilizando infusões da Fração de Flavonóides total da *P. edulis* evidenciou também efeito ansiolítico, mas verificou também que induzia um relaxamento muscular e descoordenação da atividade motora. Em contra partida, estudos realizados por Paladini e colaboradores (1999) concluíram que os flavonóides ativam o SNC, e ensaios semi-sintéticos modificando o núcleo das flavonas aumentam o potencial ansiolítico dessas moléculas, o que nos leva a acreditar que os flavonóides atuam de forma direta no sistema nervoso central, como um agente ansiolítico..

Em estudos clínicos realizados por Akhondzadeh (2001), foi verificado o efeito ansiolítico de uma tintura de *P. incarnata*, e que esta apresentou menos efeito

adverso que o ansiolítico sintético oxazepam. Com a *P. caerulea*, foi isolado o flavonóide crisina, e foi descrito por Wolfman e colaboradores (1994) que o mesmo seria um agonista parcial dos receptores benzodiazepínicos, por demonstrar ação ansiolítica sem efeito sedativo e relaxante muscular. Também em estudos comportamentais realizados por Soulimani e colaboradores (1997) com extrato hidroalcolico de *P. incarnata* (400mg/Kg; i.p.) apresentaram atividade ansiolítica e o extrato aquoso (400 e 800 mg/Kg; i.p.) apresentou efeito sedativo quando administrado em camundongos. Acredita-se que a mudança de solvente na produção do extrato interfere nos efeitos desejados.

Extrato de *P. alata*, foi investigado farmacologicamente por Salomão (2003) e constatou-se um efeito ansiolítico (na dose de 100mg/Kg) quando submetidos ao teste de Labirinto em Cruz Elevado (LCE). Observou também um efeito sedativo, onde diminuiu o numero de cruzamentos e levantamentos quando colocados no campo aberto. Ainda com o mesmo extrato, foi visto o aumento do tempo de sono induzido por barbitúricos, além de induzir catalepsia nos animais, quando testado com haloperidol. As folhas de *P. edulis* também possuem atividade ansiolítica quando testada em animais de laboratório, diminuindo a atividade locomotora e aumentando o tempo de sono (PETRY et al, 2001). Santos e colaboradores (2005) viu que as folhas de *P. actinia* também possuía ação sedativa.

O modelo do campo aberto (CA) é eficaz ao discutir a especificidade de uma droga caso ela seja estimulante, sedativa, ansiolítica ou ansiogênica (LISTER, 1987). O aumento da atividade locomotora horizontal no campo aberto pode ser considerado um efeito estimulante, sendo que a diminuição da atividade vertical (número de *rearing*) e horizontal (número de cruzamento) estão relacionados à sedação (PRUT et al, 2003). A atividade sedativa pode ser definida pela redução da atividade locomotora e redução da vigiância, o que minimiza a excitação excessiva (GUIMARÃES, 1999).

As classes mais comuns de fármacos ansiolíticos são os agonistas serotoninérgicos, que são capazes de produzir atividade ansiolítica com pouca sedação. Os barbitúricos são agentes ansiolíticos, sedativos, antagonistas dos receptores β -adrenérgicos, pois reduzem os sintomas físicos da ansiedade (tremor, palpitação). A

classe mais utilizada são os benzodiazepínicos, porém possuem muitos efeitos indesejáveis que vão desde efeitos tóxicos até tolerância e dependência e sedação (VILLAS – BÔAS, 2007; CARLINI, 2003; RANG *et al*, 2001).

Os barbitúricos potencializam a inibição sináptica mediada pelos receptores GABAérgicos promovendo sedação/hipnose (FUJIMORI & COBB, 1995). A ação sedativa do EHFPC também foi evidenciada no teste de campo aberto reduzindo os parâmetros nas doses de 400 e 200 mg/Kg, o que essa sedação foi melhor investigada nos testes de potencialização do sono com pentobarbital, o que obtivemos resultados positivos, diminuindo a latência e a duração do sono, quando comparados ao grupo do diazepam (2 mg/Kg), sendo o EHFPC com efeito similar. Maiores investigações, quanto ao mecanismo de ação e ao metabolismo seriam necessárias, uma vez que a biotransformação do pentobarbital é via hepática, o EHFPC possa retardar o metabolismo do barbitúrico levando a um resultado falso-positivo (GOLUBKOVA *et al*, 1998). Quando associado com barbitúricos, o EHFPC (400 mg/Kg) aumentou a latência de sono e prolongou o tempo de sono em camundongos pre-tratados com o extrato. Em suma, a literatura confirma que a diminuição da latência e o aumento da duração da perda do reflexo postural são observados em drogas depressoras do SNC (WILLIANSO *et al*, 1996).

O extrato hidroetanólico de *P. actnia* apresenta efeito sedativo em camundongos via intraperitoneal (SANTOS *et al*, 2003). Outros estudos também mostram efeito ansiolítico do extrato hidroetanólico quando administrado via oral nas doses de 300 e 600 mg/kg e aumentou o tempo de sono induzido por pentobarbital, indicando um efeito sedativo (PROVENSI, 2007).

Extrato de *P. incarnata* quando administrado intraperitoneal, apresentou efeito sedativo/ansiolítico, pois prolongou o tempo de sono induzido por barbitúricos, quando testado em camundongos e possui efeito neuroprotetor em convulsões induzidas por pentilenotetrazol e afetou a atividade locomotora (SPERONI E MINGUETTI, 1988; PROVENSI, 2007).

Oga e colaboradores (1984) estudando extrato fluido e evaporado das folhas de *P. alata* (75 e 159 mg/Kg; i.p.), observou que houve uma redução da atividade locomotora e a potencialização do tempo de sono induzido por barbitúricos.

A *Passiflora alata* Curtis, ainda pouco estudada é eleita pela farmacopéia Brasileira como espécie oficial usada como fitoterápico (MULLER, 2006; SENNA, 2009). A *P. alata*, a administração i.p. do extrato prolongou o tempo de sono induzido por pentobarbital, reduzindo a atividade motora espontânea e discreto efeito anticonvulsivante em camundongos demonstrando ação depressora do SNC (OGA *et al*, 1984).

Em se tratando de atividade antidepressiva, os ácidos fenólicos são compostos que podem não estar diretamente relacionados a atividades farmacológicas antidepressivas, mas podem atuar contribuindo na estabilidade de outras moléculas contribuindo para tais efeitos farmacológicos. Onde quercetina, rutina, quercitrina e caempferol encontrados em *P. cincinnata*, corroboram com os flavonóides encontrados na *H. perforatum*, que se pensam ser complacente com a atividade antidepressiva estudada por Coleta (2008), que considera a *H. perforatum* uma planta medicinal em potencial por apresentar atividades farmacológicas comprovadas por meio de testes laboratoriais. Os principais ácidos fenólicos encontrados da *H. perforatum* são o ácido clorogênico, neoclorogênico, ácido caféico além do criptoclorogênico, protocatequico, 3 – O – [Z] – p – cumaroilquinico e o 3 – O – [E] – p – cumaroilquinico (COLETA, 2008). Em comum a espécie *H. perforatum*, a *P. cincinnata* apresenta o ácido caféico e o ácido clorogênico, que podem contribuir nos resultados encontrados na atividade antidepressiva apresentada nos ensaios farmacológicos do presente estudo.

Estudos apontam que diversos fármacos usados na depressão atuam aumentando a concentração de monoaminas na fenda sináptica, principalmente a serotonina e noradrenalina. Estas são removidas por sinapses após sua liberação através da recaptação do neurônio pré-sináptico, logo após são destruídas pelas enzimas monoaminoxidase (MAO) e catecol – O – metiltransferase (COMT), ou são novamente armazenada em vesículas para posteriormente serem liberadas na fenda sináptica (STAHL, 1998; TOIGO, 2011). Esta interação das monoaminas tem sido base para entender a fisiopatologia dessa doença e o desenvolvimento de novos fármacos

(PRYOR *et al*, 1991). Os agentes antidepressivos atualmente oferecem melhores resultados terapêuticos e menores taxas de efeitos colaterais para a maioria dos pacientes, mas eles ainda são designados a aumentar agudamente a transmissão de monoaminas (BERTON; NESTLER, 2006).

Pesquisas em ratos mostram que a administração de antidepressivos por duas semanas produz redução no número de receptores (*down-regulation*) adrenérgicos. Este achado gera uma nova teoria de que as alterações na sensibilidade de receptores monoaminérgicos, observadas após administração crônica de medicamentos, estão relacionadas ao mecanismo de ação antidepressiva (STAHL, 1998). No entanto, não há nenhuma teoria convincente que explique a atuação dos receptores monoaminérgicos na depressão. Outra hipótese é a redução da atividade elétrica dos neurônios como causa principal, onde esta atividade é o fator limitante da concentração de monoaminas (KISS, 2008). As pesquisas atuais procuram buscar um ponto em comum entre estas evidências.

Os estudos comportamentais realizados com a *P. cincinnata* confirmam a hipótese de que plantas do gênero *Passiflora* possuem atividade sobre o SNC, principalmente quando se trata de um ansiolítico, sedativo e neuroprotetor. No entanto, a espécie estudada também demonstrou possível atividade antidepressiva, o que diferenciou de outras espécies até então pesquisadas. Estes conjuntos de resultados apresentados no presente trabalho sugerem estabelecer parâmetros mais concretos sobre a atividade farmacológica e à composição química, elucidando mecanismos de ação, até então, não definidos.

Na fisiopatologia da depressão, as monoaminas (noradrenalina, dopamina e serotonina) estão envolvidas nesse processo quando há um desequilíbrio (KAPLAN & SADOK, 1997; ELHWUEGI, 2004). Em animais, não é possível obter resultados sobre a patogênese da depressão, uma vez que em humanos fatores genéticos e psicossociais possam levar a esse desequilíbrio do humor (PORSOLT *et al*, 1987; TUNER & LLOYD, 1999). Os modelos animais de depressão são baseados na exposição dos ratos ao estresse, tais como o teste de nado forçado, teste da acinesia induzida por reserpina e o teste da suspensão da cauda. Esses testes são bastante sensíveis para as classes dos

antidepressivos tricíclicos, inibidores de recaptção de serotonina, os inibidores da MAO e os atípicos (STERU *et al*, 1985; PORSOLT *et al*, 1977).

No teste de nado forçado, também conhecido como teste de Porsolt, os animais são forçados a nadar em um espaço confinado, podendo tornar-se imóvel após uma fase de extensa imobilidade e várias tentativas de escape (PORSOLT *et al*, 1977). As drogas antidepressivas reduzem os parâmetros de imobilidade nos animais. O que foi possível observar nos animais testados com o EHFPC na dose de 100mg/Kg. Porém em testes realizados com espécies do gênero *Passiflora*, observou um efeito sedativo, o que contradiz com os testes observados na *P. cincinnata*.

No teste de acinesia induzida por reserpina, os parâmetros avaliados são os parâmetros comportamentais visto no campo aberto (NC, NG, NR), onde a reserpina reduz significativamente estes parâmetros (GOODWIN *et al*, 1971). Tratando os animais com o EHFPC, observou o aumento desses parâmetros dos camundongos já pré-tratados com reserpina, o mesmo resultado foi observado em animais tratados com imipramina, fluoxetina e bupropiona. O EHFPC na dose de 25mg/Kg, reverteu o efeito depressivo da reserpina de forma significativa. O que nos leva a uma possível atividade antidepressiva do extrato, atuando pela via monoaminérgica, onde na dosagem de catelocaminas, foi visto um aumento de dopamina e noradrenalina no corpo estriado dos animais tratados com o EHFPC na concentração de 100mg/Kg.

Estudos realizados com *P. alata* por Muller e Rossol (1994) com extrato metanólico LI-160 (0,3% de hipericina e 6% de flavonóides – Lichter Pharma) mostraram os primeiros relatos sobre possível interferência com o sistema serotoninérgico, sobre a expressão desses receptores. Perovic e Muller (1995) ao estudar o mesmo extrato (LI-160) observaram que o extrato causa 50% de inibição da recaptção de serotonina (5-HT), concluindo que esta inibição poderia ser um dos possíveis mecanismos responsáveis pela atividade antidepressiva. Mais à frente, estudos realizados por Rolli e colaboradores (1995) confirmaram tal atividade, e acrescentou a recaptção sinaptosômica da noradrenalina (NA) inibida, semelhante do mecanismo de ação semelhante a outros fármacos antidepressivos, como os antidepressivos tricíclicos e os inibidores de recaptção da 5-HT (ISRS's).

Os flavonóides também são constituintes presentes na espécie de *Hypericum perforatum* L. e justifica sua atividade farmacológica no envolvimento da atividade antidepressiva. A maioria dos flavonóides identificados da *H. perforatum* são derivados dos glicosilados da quercetina (COLETA, 2008). O que corrobora com flavonóides do tipo quercetina na CLAE da *P. cinnata* e possível atividade antidepressiva observada no teste de nado forçado em camundongos.

As convulsões são caracterizadas como manifestações clínicas resultantes de descarga neuronais anormais, produzindo uma superexcitação dos neurônios, ocorrendo o desequilíbrio dos neurotransmissores excitatórios e inibitórios (ZOUHAR, 1989). No teste de convulsão induzida por pentilenotetrazol, o EHFPC apresentou efeito neuroprotetor, principalmente na latência de morte. Nos testes realizados com pilocarpina, houve uma significância maior, no aumento da latência para a primeira convulsão e na latência de morte. Na potencialização, os resultados foram mais significativos, mostrando uma possível via de ação do EHFPC, podendo elucidar a via colinérgica. Havendo uma necessidade de maior investigação dessa via.

Em se tratando de efeito anticonvulsivante, há uma necessidade de busca de novos fármacos, e para isto, são criados diversos modelos de convulsões que estão descritos na literatura. Estes também chamados modelos agudos são aqueles em que o animal exhibe eventos convulsivos somente durante a ação do agente indutor. Estes agentes indutores podem ser químicos, no qual compostos são administrados por via tópica ou injetável, interferindo no balanço neuroquímico, ou elétrico em que é aplicado um choque eletroconvulsivo no animal (SCHWARTZKROIN, 1997). A propriedade principal destes modelos é a apresentação de um fator incidente conhecido, capaz de induzir a epileptogênese, e após certa latência, ocorrem crises epiléticas automáticas (NAFFAH-MAZZACORATTI & ARGANARAZ *et al*, 1999; NAFFAH-MAZZACORATTI & FUNKE *et al*, 1999).

Nassiri-als e colaboradores (2007) utilizou o extrato hidroalcoólico de *P. incarnata*, e verificou a atividade anticonvulsivante no teste de convulsão induzida por pentilenotetrazol. Foi realizado também testes antagonistas com receptores opióides (naloxona) e de receptores benzodiazepínicos (flumazenil), o que pode-se constatar ambos resultados satisfatórios, sugerindo que o mecanismo de ação pode ser tanto pelos

receptores GABA, quanto pelos receptores opióides e correlacionam tal atividade a presença de flavonóides.

No modelo de convulsão por pilocarpina (agonista colinérgico muscarínico) permite investigar o envolvimento de diferentes sistemas de neurotransmissores na epilepsia (MARINHO, 1998). Há uma ativação da via glutamatérgica, através dos receptores muscarínicos e também envolvendo a participação do sistema colinérgico, noradrenérgico, dopaminérgico e serotoninérgico. Onde podemos corroborar com os resultados da CLAE, na dosagem de monoaminas, observamos um aumento da dopamina e noradrenalina quando administrado o EHFPC em camundongos.

Entretanto, acreditamos que o EHFPC possa ter efeito similar aos receptores GABA, pois o efeito neuroprotetor nos teste de convulsão com PTZ foi significativo, sendo que quando avaliado no teste de convulsão com PILO, o EHFPC potencializou o efeito da atropina, um agonista colinérgico, elevando a um resultado satisfatório em relação a via de atuação do extrato. Os flavonóides existentes no EHFPC podem ser os mentores de tal efeito pela via colinérgica.

Podemos destacar que o EHFPC foi eficaz em reverter parcialmente as crises convulsivas induzidas pela pilocarpina, onde este efeito foi potencializado com a junção da atropina um antagonista muscarínico. Vendo pelo lado de que a possível via de atuação do extrato seja pela transmissão colinérgica, foi realizado o teste de tremores induzidos por oxotremorina, um agonista muscarínico, que por sua vez o EHFPC na dose de 100 mg/Kg reverteu significativamente o efeito dos tremores.

Confimando a hipótese do possível mecanismo de ação do EHFPC atuar na via colinérgica, foi visto no teste de oxotremorina, que a dose de 100 mg/Kg, ip. do EHFPC exerceu um efeito antagonista sobre o sistema colinérgico, capaz de reverter os tremores induzidos pela oxotremorina. Através da estimulação do sistema colinérgico, a oxotremorina atua como agonista dos receptores muscarínicos, produzindo atividade tremorogênica (BEBBINGTON *et al*, 1966).

As catecolaminas estão associadas a patogênese de uma série de doenças mentais. A dopamina está relacionada nas psicoses e assim, o mecanismo de ação dos

antipsicóticos estão ligados ao bloqueio dos receptores dopaminérgicos. A serotonina está envolvida em várias neuroses, incluindo a ansiedade e transtorno do pânico, também está envolvida na depressão juntamente com a noradrenalina e dopamina. A desordem destes neurotransmissores é o que nos leva ao entendimento da fisiopatologia das doenças do SNC (ELHWUEIGI, 2004).

Diante do conhecimento atual sobre fármacos do gênero *Passiflora* que indica seu potencial para o desenvolvimento de ansiolíticos e hipnótico-sedativos, existem ainda poucos estudos, até mesmo escassos com a *P. cincinnata*, tanto em aspectos químicos como farmacológicos. A investigação com essa espécie averigou possível efeito ansiolítico, hipnótico/sedativo, antidepressivo e neuroprotetor para o extrato hidroalcolólico em camundongos.

Os estudos comportamentais realizados com a *P. cincinnata* confirmam a hipótese de que plantas do gênero *Passiflora* possuem atividade sobre o SNC principalmente quando se trata de um ansiolítico, sedativo e neuroprotetor. Diferentemente das outras espécies, a espécie estudada demonstrou possível atividade antidepressiva, que diferenciou de outras espécies até então pesquisadas, que estão mencionadas na tabela descrita na revisão deste trabalho (OGA *et al*, 1984; COLETA, 2008; MULLER, 2006). Com o conjunto de resultados apresentados no decorrer desta dissertação sugerem estabelecer parâmetros mais concretos sobre mecanismo de ação e à composição química.

Espera-se dessa maneira, que os resultados idealizados possam satisfazer a uma demanda acadêmica ao passo em que não se poderia esquecer o mérito pretendido pelo caráter inovador do estudo.

Conclusão

7. CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos a partir dos testes comportamentais e neuroquímicos, conclui-se que:

- O EHFPC apresentou baixa toxicidade e sua DL_{50} foi superior a 5000 mg/kg, i.p.;
- O EHFPC apresentou efeito depressor central no teste hipocrático de Malone;
- O efeito depressor do EHFPC foi confirmado no teste do campo aberto, onde o extrato reduziu o NC, o NG e o NR, mostrando um importante efeito sedativo;
- O EHFPC apresentou efeito ansiolítico no LCE, o qual foi parcialmente revertido pelo flumazenil (um antagonista benzodiazepínico), sugerindo que o efeito em questão parece envolver a participação do receptor $GABA_A$;
- O EHFPC potencializou o efeito hipnótico do pentobarbital, possivelmente por interagir na neurotransmissão $GABA$ érgica. No entanto, são necessários outros testes para a confirmação do efeito hipnótico do extrato;
- O EHFPC apresentou efeito neuroprotetor contra crises convulsivas induzidas por PTZ e PILO. Acredita-se que, no primeiro caso, a ação anticonvulsivante do extrato seja decorrente da interação de um ou mais componentes com o receptor $GABA_A$. No segundo caso, o efeito do EHFPC foi potencializado na presença de atropina (um antagonista muscarínico), sugerindo o envolvimento do sistema colinérgico no efeito do extrato frente às convulsões induzidas por pilocarpina;
- O EHFPC apresentou efeito do tipo antidepressivo no NF. Neste teste, o efeito do extrato foi potencializado na presença de antidepressivos clássicos, como a imipramina, fluoxetina e bupropiona. O EHFPC também apresentou efeito do

tipo antidepressivo no teste da acinesia induzida por reserpina (droga que depleta o conteúdo de monoaminas no sistema nervoso central). Tomados em conjunto, esses resultados sugerem que a ação do tipo antidepressiva do EHFPC parece ser decorrente, pelo menos em parte, do aumento dos níveis estriatais de monoaminas (NA e DA), como foi confirmado pela técnica da CLAE.

Referências

REFERÊNCIAS

AKHONDZADEH, S.; KASHANI, L.; MOBASERI, M.; HOSSEINI, S.H.; NIKZAD, S.; KHANI, M. Passionflower in the treatment of opiates withdrawal: a double-blind randomized controlled trial. **J. Clin. Pharm. Ther.**, v. 26, p.369-373, 2001a.

AKHONDZADEH, S.; MOHAMMADI, M.R.; MOMENI, F. *Passiflora incarnata* in the treatment of attention-deficit hyperactivity disorder in children and adolescents. **Therapy**, v.2, n.4, p.609-614, 2005.

AKHONDZADEH, S.; NAGHAVI, H.R.; VAZIRIAN, M.; SHAYEGANPOUR, A.; RASHIDI, H.; KHANI, M. Passionflower in the treatment of generalized anxiety: a pilot double-blind randomized controlled trial. **J. Clin. Pharm. Ther.**, v.26, p.363-367, 2001b.

NAFFAH-MAZZACORATTI, M. G.; ARGANARAZ G. A. Selective alterations of glycosaminoglycans synthesis and proteoglycan expression. In rat cortex and hippocampus in pilocarpine-induced epilepsy. **Brain Res Bull**, v. 50, n. 4, p. 229-39, Novembro 1999.

NAFFAH-MAZZACORATTI, M. G.; FUNKE, M. G. Growth-associated phosphoprotein expression is increases in the supragranular regions of the dentate gyrus following pilocarpine-induced seizures in rats. **Neuroscience**, v. 91, n. 2, p. 485-92, 1999.

ANSSEAU, M. Évaluation des paramètres d'activité de gélules d'extrait sec de passiflore selon un modèle "en étoile". **J. Pharm. Belgique**, v.59, n;4, p.97-99, 2004.

ARAÚJO, Diogo; ALVES, Marcus. Flora da Usina São José, Igarassu, Pernambuco: Passifloraceae s.s.. **Rodriguésia**. Vol.64, n.2, pp. 247-254, 2013.

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Animal Behaviour**, v. 21, p. 205-35, 1973.

ASKEW, B.M. A simple screening procedure for imipramine-like antidepressant agents. **Life Sci**, v.10 p.725 – 730, 1963.

BARBOSA, P.R.; VALVASSORI, S.S.; BORDIGNON JR., C.L.; KAPPEL, V.D.; MARTINS, M.R.; GAVIOLI, E.C.; QUEVEDO, J.; REGINATTO, F.H. The aqueous extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* reduce anxiety-related behaviors without affecting memory process in rats. **J. Medicinal Food**, v.11, n.2, 2008.

BARBOSA, P.R. Estudo da ação psicofarmacológica de extratos de *Passiflora alata* Dryander e *Passiflora edulis* Sims.. **Dissertação (Mestrado)**-Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma. 68p. 2006.

BAZZANO, F.C.O. **Aspectos éticos da pesquisa científica**, p. 149-180. In: SILVA, J.V. *et al.* Bioética: meio ambiente, saúde e pesquisa. 1ª Ed. São Paulo: Iátria, 2006.

BEBBINGTON, A.; BRIMBELCOMBRE, R.W.; SHAKESHAFT, D. **The central and peripheral activity of acetylenic amines related to oxotremorine**. Br. J. Pharmacol. 26: 56 – 57, 1966.

BENTHAM, G. & HOOKER, J.D. **Passifloraceae. Genera Plantarum vol.1**. London, Lovell Reeve & Co. 1865. . In: NUNES, T.S. A família Passifloraceae no Estado da Bahia, Brasil. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Estadual de Feira de Santana – BA. 2002.

BOLIGON A.A.; SAGRILLO M.R.; MACHADO, L.F.; FILHO, O.S.; MACHADO, M.M.; DA CRUZ, I.B.M.; ATHAYDE, M.L. Protective effects of extracts and flavonoids isolated from *Scutia buxifolia* Reissek against chromosome damage in human lymphocytes exposed to hydrogen peroxide. **Molecules**, 17: 5757-5769, 2012.

BOMBARDELLI, E., BONATI, A., GABETTA, B., MARTINELLI, E. M. E MUSTICH, G.: Passiflorine, a new glycoside from *Passiflora edulis*. **Phytochemistry** 14: 2661-2665, 1975.

BRASIL, **Decreto nº 24.645 de 10 julho de 1934.**

BRASIL, **Lei Federal Nº 11.794 de 2008** sobre Princípios Éticos da Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA.

BRASIL, **Lei Federal Nº 9605 do ano 1998.**

BRASIL, **Lei n.º. 6638 de 8 de maio de 1979.**

BRIZICKY, G.K.. The genera of Turneraceae and Passifloraceae in the southeastern united states. **Journal of the Arnold Arboretum** 42: 204-218. 1961.

BRUSCHI, M.L.; CARDOSO, M.L.C.; MILANI, H. Avaliação farmacológica de um extrato de *Passiflora edulis* variedade *flavicarpa*. **Rev. Cienc. Farm.**, v.23, n.2, p.263-276, 2002.

CAPASSO, A.; SORRENTINO, L. Pharmacological studies on the sedative and hypnotic effect of *Kava kava* and *Passiflora* extracts combination. **Phytomedicine**. v.12, p. 39-49, 2005.

CARLINI, E.A.; CONTAR, J.D.P.; SILVA-FILHO, A.R.; DA SILVEIRA-FILHO, N.G.; FROCHTENGARTEN, M.L.; BUENO, O.F. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). I. Effects of teas prepared from the leaves on laboratory animais. **J. Ethnopharmacol**, v.17, p.37-64, 1986.

CARLINI, E.A. Plants and the central nervous system. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 75, p. 501-512, 2003.

CARLO, G. D., MASCOLO, N., IZZO, A. A.E CAPASSO, F.: Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs (Minireview). **Life Sciences** 65 (4): 337-53, 1999.

CASTRO, P.C.F.; HOSHINO, A.; SILVA, J.C.; MENDES, F.R. Possible anxiolytic effect of two extracts of *Passiflora quadrangularis* L. in experimental models. **Phytother. Res.**, v.21, p.481-484, 2007.

CEARÁ. **Programa de Desenvolvimento Urbano de Pólos Regionais. Plano de Gestão Sócio-ambiental do Cariri Central.** 2008.

CERVI, A. C. *Passifloraceae* do Brasil. Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. **Fontqueria** 45: 1-92. 1997.

COLETA, M., CAMPOS, M. G., COTRIM, M.D. E CUNHA, A. P. D.: Comparative evaluation of *Melissa officinalis* L., *Tilia europaea* L., *Passiflora edulis* Sims. and *Hypericum perforatum* L. in the elevated plus maze anxiety test. **Pharmacopsychiatry** 34Suppl 1: S20-1, 2001.

COLETA, M.; BATISTA, M.T.; CAMPOS, M.G.; CARVALHO, R.; COTRIM, M.D.; DE LIMA, T.C.M. CUNHA, A.P. Neuropharmacological evaluation of the putative anxiolytic effects of *Passiflora edulis* Sims, its sub-fractions and flavonoid constituents. **Phytotherapy Research**, v. 20, p. 1067-1073, 2006.

COLETA, M.F.A.R. Caracterização fitoquímica e neurofarmacológica de plantas usadas na medicina tradicional pelas suas propriedades sedativas. **Tese (Doutorado)**. Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, 2008

DE-PARIS, F.; PETRY, R. D.; REGINATTO, F. H.; GOSMANN, G.; QUEVEDO, J.; SALGUEIRO, J. B.; KAPCZINSKI; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; SCHENKEL, E. P. Pharmacochemical Study of Aqueous Extracts of *Passiflora alata* Dryander and *Passiflora edulis* Sims. **Acta Farmac. Bonaer.**, v. 21, n. 1, p. 5-8, 2002.

DHAWAN, K. E SHARMA, A.: Antitussive activity of the methanol extract of *Passiflora incarnata* leaves. **Fitoterapia** 73(5): 397-399, 2002a.

DHAWAN, K., KUMAR, S. E SHARMA, A.: Antianxiety studies on extracts of *Passiflora incarnata* Linneaus. **Journal of Ethnopharmacology** 78(2-3): 165-170, 2001a.

DHAWAN, K., KUMAR, S. E SHARMA, A.: Anxiolytic activity of aerial and underground parts of *Passiflora incarnata*. **Fitoterapia** 72(8): 922-926, 2001b.

DHAWAN, K., KUMAR, S. E SHARMA, A.: Comparative biological activity study on *Passiflora incarnata* and *P. edulis*. **Fitoterapia** 72(6): 698-702, 2001c.

DHAWAN, K., KUMAR, S. E SHARMA, A.: Suppression of alcohol-cessation-oriented hyper-anxiety by the benzoflavone moiety of *Passiflora incarnata* Linneaus in mice. **Journal of Ethnopharmacology** 81 (2): 239-244, 2002b.

DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; CHHABRA, S. Attenuation of benzodiazepine in mice by a tri-substituted benzoflavone moiety of *Passiflora incarnata* Linneaus: a non-habit forming anxiolytic. **J. Pharm. Pharm. Sci.**, v.6, n.2, p.215-222, 2003.

ELHWUEGI, A.S. Central monoaminas and their role in major depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology e Biological Psychiatry**, v.28, p.435-451, 2004.

FENNER, R. Avaliação do Efeito hipnótico/sedativo e ansiolítico de um extrato seco nebulizado de *Passiflora Alata* curtis (Passifloraceae). **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2006.

FUJIMORI, H; COBB, D; Potentiation of barbital hypnosis as an evaluation method for central nervous system depressant. **Psychopharmacology**. V.7, p.374-377,1995.

GOODWIN, F.K.; BUNNEY, W.E. Depressions following reserpine: a re evaluation. **Sem Psychiatry**, v.3, p.435 – 48, 1971.

GOLUBKOVA, T.D.; HECKLER, E.; RATES, S.M.K.; HENRIQUES, J.A.P.; HENRIQUES, A.T. Inhibition of cytochrome P-450-dependent monooxygenases by an alkaloid fraction from *Helietta apiculata* markedly potentiate the hypnotic action of pentobarbital. **J. Ethopharmacol**, v.60, p.141-148, 1998.

GONÇALVES-FILHO, A.; TORRER, O.J.M.; CAMPOS, A.C.L; TÂMBARA FILHO, A.; ROCHA, L.C.A; THIEDE, A.; LUNEDO, S.M.C; BARBOA, R.E.A.; BERNHARDT, J.A.; VASCONCELOS, P.R.L. efeito do extrato de *Passiflora edulis*

(maracujá) na cicatrização de bexiga em ratos: estudo morfológico. **Acta cirúrgica Brasileira**, v.21, f.2, p. 3-8, 2006.

GRAEFF, F.G. **Medicamentos ansiolíticos**. In: GRAEFF, F.G. e GUIMARÃES, F.S. Fundamentos da Psicofarmacologia. São Paulo: Atheneu, 1999, p. 123-160.

GRUNDMANN, O.; WANG, J.; MCGREGOR, G.P.; BUTTERWECK, V. Anxiolytic activity of a phytochemically characterized *Passiflora incarnata* extract is mediated via the GABAergic system. **Planta Med.**, v.74, n.15, p.1769-1773, 2008.

GUIMARÃES, F.S. **Medicamentos hipnóticos**. In: Fundamentos de Psicofarmacologia. Eds. Graeff, F.G. & Guimarães, F.S. pp.161-174. São Paulo: Editora Atheneu. 1999.

KAPLAN, H. I.; SADOCK, B. J.; et all. Compêndio de Psiquiatria Ciências do Comportamento e Psiquiatria Clínica. 7ª ed. Porto Alegre: Artes Médicas 1997. 1.169 p.

KISS, J.P. Theory of active antidepressants: A nonynaptic approach to the treatment of depression. **Neurochemistry international**, v. 52, p. 34-39, 2008.

LAPA, A.J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M.T.R.; CASTRO, M.S.A.; LIMA, T.C.M. **Plantas medicinais- métodos de avaliação da atividade farmacológica**. SBPC. Campinas-SP, SP, 2008

LIMA, C.A. Atividade redox-protetora da *Passiflora cincinnata* Mast. sobre o estresse oxidativo induzido pelo exercício físico. **Dissertação (mestrado)**. Universidade Federal de Sergipe. 2011.

LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, p. 180-185, 1987.

LOLLI, L.F.; SATO, C.M.; ROMANINI, C.V.; VILLAS BOAS, L.D.B; SANTOS, C.A.M.; OLIVEIRA, R.W. Possible involvement of GABA_A benzodiazepine receptor in the anxiolytic-like effect induced by *Passiflora actinia* extracts in mice. **J. Ethnopharmacol.**, v.111, p.308 - 314, 2007.

LOWSON, S.; GENT, J.P.; GOODCHILD, C.S. Anticonvulsant properties of propofol and thiopentone: comparison using two tests in laboratory mice. **Br J Anaesth**, v.64, p.59 – 63, 1990.

LUCETTI, E.C.P. Efeitos centrais da cumarina (1,2-benzopirona): estudo comportamental e neuroquímico em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos, Fortaleza, **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal do Ceará, 2010.

LUTOMSKI J, MALEK B. Pharmacological investigations on raw materials of the genus *Passiflora*. **Planta Med**, 27: 381–384.1975.

MACFARLAND, C.G.; REEDER, W.G. Cleaning symbiosis involving Galapagos tortoises and two species of Darwin's finches. **Zeitschrift fur tierpsychologie**. v. 34, p. 464-483,1974.

MACHADO, J.G.S.; PINHEIRO, M.S.; MARÇAL, S.H. **Análise bioética aplicável ao uso de animais não-humanos em experimentos científicos**, p.45-62. In: GARRAFA, V.; CORDÓN, J. Pesquisas em bioética no Brasil de hoje. São Paulo: Gaia, 2006.

MALONE M.H. **Pharmacological approaches to natural product and evaluating**. In: Wasner H, Walff LP. Natural products and plant drugs with pharmacological biological or terapeutical activity. Berlin: Spring Verlag, p.23-56, 1977.

MALUF, E.; BARROS, H.M.T.; FROCHTENGARTEN, M.L.; BENTI, R.; LEITE, J.R. Assessment of the hypnotic/sedative effects and toxicity of *Passiflora edulis* aqueous extract in rodents and humans. **Phytother. Res.**, v. 5, n. 6, p. 262-266, 1991.

MARINHO M.M.F., SOUSA FCF, BRUIN VMS, VALE MR, VIANA GSB. Effects of lithium, alone or associated with pilocarpine, on muscarinic and dopaminergic receptors and on phosphoinositide metabolism in rat hippocampus and striatum. **Neurochem Int**. v.33, p. 299-306, 1998.

MASTERS, M.T. **Contributions to the natural history of the Passifloraceae.** *Trans. Linn. Soc. London* 237:5923-645. 1871. In: NUNES, T.S. A família Passifloraceae no Estado da Bahia, Brasil. **Dissertação (Mestrado).** Universidade Estadual de Feira de Santana – BA. 2002.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental.** 2ª Ed. Fortaleza, editora: UFC, 1997.

MEDEIROS, J. S.; DINIZ, M. F. F. M.; SABAA SRUR, A.U.O.; PESSOA, M.B.; CARDOSO, M.A.A.; CARVALHO, D.F. Ensaio toxicológico clínico da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*, f. *flavicarpa*), como alimento com propriedade de saúde. **Revista Brasileira de Farmacognosia/Brazilian Journal of Pharmacognosy** 19(2A): 394-399, Abr./Jun. 2009.

MORAES, M. L. L.: **Extração e análise de flavonóides em espécies brasileiras de Passiflora L.** Em Instituto de Química de São Carlos, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1995.

MULLER W, ROSSOL R. Effects of Hypericum extract on the expression of serotonin receptors. **J Geriat Psychiat Neurol**; 7. Suppl.1. S63-4, 1994.

MULLER, S.D., Determinação de Alcalóides e Flavonóides através de CLAE e UV de extratos de *Passiflora alata* curtis, Passifloraceae – Maracujá-doce. **Dissertação (Mestrado).** Universidade do Vale do Itajaí. 2006.

NASCIMENTO, D. F.; SANTANA, A. P. M.; LEITE, I. O.; VIANA, F. A. C.; LEITE, A. L. A. S.; MORAES R. A.; JAMACARU, F. V. F.; BEZERRA F. A. F.; MORAES, M.O.; MORAES, M. E. A. Estudo de toxicologia clínica de um fitoterápico contendo *Passiflora incarnata* L., *Crataegus oxyacantha* L., *Salix alba* L. em voluntários saudáveis. **Revista Brasileira de Farmacognosia/Brazilian Journal of Pharmacognosy** 19(1B): 261-268, Jan./Mar. 2009.

NASSIRI-ASL, M.; SHARIATI-RAD, S.; ZAMANSOLTANI, F. Anticonvulsant effects of aerial parts of *Passiflora incarnata* extract in mice: involvement of

benzodiazepine and opioid receptors. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.7, n.26, 2007.

NUNES, T.S. A família Passifloraceae no Estado da Bahia, Brasil. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Estadual de Feira de Santana – BA. 2002.

OECD - Organization for Economic Co-operation and Development, Guideline 425: **Acute Oral Toxicity: Modified Up-and-Down Procedure**. 2009.

OGA, S.; DE FREITAS, P.C.D.; SILVA, A.C.G.; HANADA, S. Pharmacological trials of crude extract of *Passiflora alata*. **Planta Med.**, v. 50, p. 303-306, 1984.

ORSINI, F., PELIZZONI, F., RICCA, G. E VEROTTA, L.: Triterpene Glycosides Related to Quadranguloside from *Passiflora quadrangularis*. **Phytochemistry** 26(4): 1101-1105, 1987.

PALADINI, A. C., MARDER, M., VIOLA, H., WOLFMAN, C., WASOWSKI, C. E MEDINA, J. H.: Flavonoids and the central nervous system: from forgotten factors to potent anxiolytic compounds. **Journal of Pharmacy and Pharmacology** 51(5): 519-526, 1999.

PEREIRA, C. A. M., YARIWAKE, J. H., LANCAS, F. M., WAUTERS, J. N., TITS, M. E ANGENOT, L.: A HPLC densitometric determination of flavonoids from *Passiflora alata*, *P. edulis*, *P. incarnata* and *P. caerulea* and comparison with HPLC method. **Phytochemical Analysis** 15 (4): 241-248, 2004.

PEREZ, R. M. G.; PEREZ, J. A. L.; GARCIA, L. D. M.; SOSSA, H. M. Neuropharmacological activity of *Solanum nigrum* fruit. **J. Ethnopharmacology**, v. 62, p. 43-48, 1998.

PETRY, R. D., REGINATTO, F., DE-PARIS, F., GOSMANN, G., SALGUEIRO, J. B., QUEVEDO, J., KAPCZINSKI, F., ORTEGA, G. G. E SCHENKEL, E. P.: Comparative pharmacological study of hydroethanol extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* leaves. **Phytotherapy Research** 15(2): 162-164, 2001.

PIETTA, P.; SIMONETTI, P.; MAURI, P. Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plants. **Journal of agricultural and Food Chemistry**, v.46, n.11, 1996.

PORSOLT, R.D.; ANTON, G.; BLAVET, N.; JALFRE, M. Behavioural depression in rats a new model sensitive to antidepressant treatments. **Eur J Pharmacol**,v.47, p.379 – 391, 1978.

PORSOLT, R.D.; ANTON, N.B.; JALFRE, M. Behavioural despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Arch Int Pharmacodyn.**, v.229, p. 327-327, 1987.

PORSOLT, R.D.; LEPICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatment. **Nature**,v.266, p.730 – 732, 1977.

PROVENSÍ, G. Investigação da Atividade Ansiolítica de *Passiflora Alata* Curtis (Passifloraceae). **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2007.

PRUT L, BELZUNG C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviours: a review. **European Journal of Pharmacology**, v.463, p.3 – 33, 2003.

PRYOR, J.C.; SULSER, F. Evolution of the monoamine hypothesis of depression. Biological aspects of affective disorders. **New York Academic Press**, V.2, P. 77-94, 1991.

RANG, H. P., DALE, M. M. E RITTER, J. M.: **Drogas ansiolíticas e hipnóticas. Em Farmacologia**, pp. 442-450, Guanabara Koogan S. A., Rio de Janeiro, 2001.

REGINATTO, F. H., DE-PARIS, F., PETRY, R. D., QUEVEDO, J., ORTEGA, G. G., GOSMANN, G. E SCHENKEL, E. P.: Evaluation of anxiolytic activity of spray dried powders of two south Brazilian *Passiflora* species. **Phytotherapy Research** 20(5): 348-351, 2006.

REGINATTO, F. H., KAUFFMANN, C., SCHRIPEMA, J., GUILLAUME, D., GOSMANN, G. E SCHENKEL, E. P.: Steroidal and triterpenoidal glucosides from *Passiflora alata*. **Journal of the Brazilian Chemical Society** 12(1): 32-36, 2001.

RIBEIRO-SILVA, S. *et al.* Angiosperms from the Araripe National Forest, Ceará, Brazil. **Check List Journal of Species Lists and Distribution** 8(4): 744-751. 2012.

ROCKENBACH, C., & ROMAN, J. A. EFEITO HIPOGLICÊMICO DE FARINHA DE CASCA DE MARACUJÁ (*Passiflora edulis flavicarpa*) EM RATOS INDUZIDOS A DIABETES. **Monografia (Graduação em Nutrição)**. Faculdade Assis Gurgacz – FAG. Cascavel-PR, 2007.

RODGERS R.J.; DALVI A. Anxiety, defence and the elevated plus maze. **Neurosci. Biobehav. Rev**, v.21, p.801 – 810, 1997.

ROJAS, J., RONCEROS, S., & PALOMINO, R. Efecto antihipertensivo y dosis letal 50 del jugo del fruto y del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora edulis* (maracuyá), en ratas. **An. Fac. med**, 67(3), 206-213. 2006.

ROJAS J.; RONCEROS, S.; PALOMINO, R.; SALAS, M.; AZAÑERO, R.; CRUZ, H. ROJAS, A.; ASMAT, J.; TAM, J. Adjuvant effect of freeze-dried extract of *Passiflora edulis*(passion fruit) in reducing blood pressure in patients treated with enalapril. **An Fac. med**.70(2):103-8, 2009.

ROLLI, M. SCHÄFER, C. MÜLLER, W.E. Effect of *Hypericum* extract (LI-160) on neurotransmitter receptor binding and synaptosomal uptake systems. **Pharmacopsychiatry**, 28: 207.1995.

ROMANINI, C.V.; MACHADO, M.W; BIAVATTI, M.W.; OLIVEIRA, R.M.W. Avaliação da atividade ansiolítica e antidepressiva do extrato fluido e fração aquosa de folhas de *Passiflora alata* Cutis em camundongos. **Revista Acta Sci. Health Sci.** Maringá, v.28, n.2, p.159-164, 2006.

SANTOS, K.C.; SANTOS, C.A.M. OLIVEIRA, R.M.W. *Passiflora actinia* Hooker extracts and fractions induce catalepsy in mice. **J. Ethnopharmacol.**, v.100, p.306-309, 2005.

SANTOS, K. C. Atividades sedativa e ansiolítica dos extratos de *Passiflora actinia* Hooker, Passifloraceae. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2003.

SANTOS, K.C.; KURTZ, S.M.T.F.; MÜLLER S.D.; BIAVATTI, M.W.; OLIVEIRA, R.M.M.W.; SANTOS, C.A.M. Sedative and anxiolytic effects of methanolic extract from the leaves of *Passiflora actinia*. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v.49, n.4, p. 565-573, 2006.

SCHWARTZKROIN, P. A. Origins of the epileptic state. **Epilepsia**, v. 38, n. 8, p. 853-8, Agosto 1997.

SENA, L.M. Frutos de *Passiflora edulis* variedade *flavicarpa* Degener (Maracujá) em camundongos: envolvimento de flavonóides *c*-glicosídeos. **(Tese de Doutorado)**. Florianópolis-SC: Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da UFSC, 2009.

SHINOMIYA, K.; INOUE, T.; UTSU, Y.; TOKUNAGA, S.; MASUOKA, T.; OHMORI, A.; KAMEI, C. Hypnotic activities of Chamomile and *Passiflora* extracts in sleep-disturbed rats. **Biol. Pharm. Bull.**, v.28, n.5, p.808-810, 2005.

SIEBRA, A.L.A. Avaliação do Perfil Químico, Toxicológico e Farmacológico do Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Passiflora cincinnata* Mast. (maracujá-do-mato). **Dissertação (mestrado)**. Programa de Pós-graduação em Bioprospecção Molecular. Universidade Regional do Cariri – URCA. Crato-Ceará, 2013

SILVEIRA, A.C. de; SILVA, A.C. da; CABRAL, N.R.A.J.; SCHIAVETTI, A. Análise de Efetividade de Manejo do Geopark Araripe – Estado Ceará. **Revista Geociências**. UNESP - Universidade Estadual de São Paulo.V.31, n. 1, p. 117-128. São Paulo-SP, 2012.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. ; **Farmacognosia- da Planta ao medicamento**, 5° Ed., Editora da da UFSC: Santa Catarina, 2007.

SOULIMANI, R.; YOUNOS, C.; JARMOUNI, S.; BOUSTA, D.; MISLIN, R. AND MORTIER, F. Behavioural effects of *Passiflora incarnata* L. and its indole alkaloid and flavonoid derivatives and maltol in the mouse. **J. Ethnopharmacol.**, 57, 11-20. 1997.

SPERONI, E.; BILLI, R.; MERCATI, V.; BONCOMPAGNI, E.; TOJA, E. Sedative effects of crude extract of *Passiflora incarnata* after oral administration. **Phytother. Res.**, v.10, p.S-92-S-94, 1996.

SPERONI, E.; MINGHETTI, A. Neuropharmacological activity of extract from *P. incarnata*. **Planta Medica**, v. 54, p. 488-491, 1988.

STAHL, S. **Psicofarmacologia-Bases Neurocientíficas e Aplicações Clínicas**. 1ª Ed. Rio de Janeiro: Editado por Medsi Editora Médica e Científica LTDA, 1998.

STERU, L.; CHERMAT, R.; THIERRY, B.; SIMON, P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**. V. 85, p. 367-370, 1985.

STRASSER, Marc. Triagem Fitoquímica e Farmacológica e Formulação de Nanopartículas de Produtos derivados de *Passiflora serratodigitata* L. **Dissertação (Mestrado)**. Apresentada ao programa de pós graduação em Farmacologia e Medicamentos da Universidade de São Paulo, 2011.

STRUMEYER, D.H., MALIN, M.J. Condensed tannins in grain sorghum: isolation, fractionation, and characterization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington DC, v.23, n.5, p.909-914, 1975.

TOIGO, E. V. P. **Efeitos a longo prazo de diferentes separações dos filhotes no período neonatal sobre as genitoras**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

TURNER, R.J. ; LLOYD, D. A. The stress process and the social distribution of depression. **J. Health Soc. Behav.**, v. 40, p. 4374-404, 1999.

VALLE, N.B.; LEITE, J.R. Efeitos psicofarmacológicos de preparações de *Passiflora edulis* (maracujá). **Ciência e Cultura**, v. 35, p. 11-24, 1983.

VAN DONSELAAR CE, SCHIMSHEIMER RJ, GEERTS AT, DECLERCK AC. Value of the electroencephalogram in adult patients with untreated idiopathic first seizure. *Arch Neurol*;49:231-7. 1994.

VEIGA JUNIOR, VALDIR F.; PINTO, ANGELO C.; MACIEL, MARIA Aparecida M. Plantas Mediciniais: cura segura?. **Quim. Nova**, v. 28, n.3, p. 519-528, 2005

VILLAS BÔAS, L.B. Estudo dos constiuintes quimicos ansiolíticos e sedativos de *passiflora actínia* Hook., Passifloraceae. **Dissertação (mestrado)**. Pós-graduação em ciências farmacêuticas. Universidade Federal do Paraná, 2007.

WILLIANSON, E.; OKPAKO, D.; EVANS, F.J. Selection, preparation and pharmacological evaluation of plant material. **Chichester: J. Willey**, 1996.

WOLFMAN, C.; VIOLA, H.; PALADINI. A.; DAJAS, F. AND MEDINA, J. F. Possible anxiolytic effects of chrysin, a central benzodiazepine receptor ligand isolated from *Passiflora coerulea*. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 47, 1-4. 1994.

YOSHIKAWA, K., KATSUTA, S., MIZUMORI, J. & ARIHARA, S. Four cycloartane triterpenoids and six related saponins from *Passiflora edulis*. **Journal of Natural Products**, 63: 1229-1234. 2000.

ZANOLI, P., AVALLONE, R. E BARALDI, M.: Behavioral characterisation of the flavonoids apigenin and chrysin. **Fitoterapia** 71: S117-S123, 2000.

ZOUHAR A, MARES P, LISKOVA-BERNASDOVA K, MUDROCHOVA M. Motor and electrocorticographic epileptic activity induced by bicuculline in developing rats. **Epilepsia**, v. 30, p. 501-10, 1989.

ZUANAZZI, J. A. S. E MONTANHA, J. A.: **Flavonóides**. Em Farmacognosia: da planta ao medicamento, ed. por C. M. O. Simões, E. P. Schenkel, G. Gosmann, J. C. P. Mello, L. A. Mentz, e P. R. Petrovick, pp. 489-516, Editora UFSC/Editora UFRGS, Florianópolis/Porto Alegre, 2003.

ZUANAZZI, J.A.S. Flavonóides. In: Simões, C.M.A, Schenkel, E.P, Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 2^a ed. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, p. 489-516. 2000.

Anexos

ANEXO 1 – LICENÇA SISBIO



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 33738-2	Data da Emissão: 23/04/2013 16:08	Data para Revalidação*: 23/05/2014
-----------------	-----------------------------------	------------------------------------

* De acordo com o art. 33 de IN 154/2007, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

Dados do titular

Nome: Larissa Rolim de Oliveira	CPF: 035.771.153-00
Título do Projeto: Estudo dos efeitos comportamentais de administração aguda do estato hidroalcoólico de Passiflora Cincinnata em camundongos.	
Nome da Instituição: Universidade Regional do Cariri	CNPJ: 08.740.884/0001-25

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	coleta de plantas	03/2013	07/2013

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoas naturais ou jurídicas estrangeiras, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presentes e passadas, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO isenta o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites da unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa (MAMA) nº 154/2007 ou na Instrução Normativa (ICMBio) nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviço on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte www.icmbio.gov.br/sisbio - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros de sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade das populações do grupo taxonômico de interesse em condições in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação de legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falta descrição de informações relevantes que subsistiram a expedição do ato, podem, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos de legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento de legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/legam .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura de unidade.

Outras ressalvas

1	Solicitar permissão dos proprietários das áreas de realização de pesquisa. Enviar uma via do relatório final à APA Chapada do Araripe.
---	---

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	CRATO	CE	ÁREA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL CHAPADA DO ARARIPE	UC Federal

Atividades X Taxons

#	Atividade	Taxons
1	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Passiflora cincinnata

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 38341965



Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 33738-2	Data da Emissão: 23/04/2013 16:08	Data para Revalidação*: 23/05/2014
* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades e ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Larissa Rolim de Oliveira	CPF: 035.771.155-00
Título do Projeto: Estudo dos efeitos comportamentais da administração aguda do extrato hidroalcolólico de <i>Peceflora cincinnata</i> em camundongos.	
Nome da Instituição: Universidade Regional do Cariri	CNPJ: 08.740.864/0001-28

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Plantas)	Caulis, Semente, Frutocápsulas, Folhas
---	-------------------------------	--

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	Universidade Regional do Cariri	

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 38341965



ANEXO 2 –NÚMERO DE HERBÁRIO



Herbário Caririense Dárdano de Andrade – Lima
Universidade Regional do Cariri - URCA

NÚMERO DE HERBÁRIO

Remetente:

Nº 07.2012

HERBÁRIO CARIENSE DÁRDANO DE ANDRADE-LIMA (HCDAL/URCA)

Contato: Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva (herbario@urca.br)

Universidade Regional do Cariri - URCA

Departamento de Ciências Biológicas

Rua: Cel. Antonio Luiz, 1161

Campos do Pimenta - Crato - CE

CEP: 63.105-100

Destinatário:

Data: 22.06.2012

Laboratório de Farmacologia

Larissa Oliveira

Universidade Regional do Cariri - URCA

Departamento de Ciências Biológicas

Nº Amostras: 01

Tipo de Operação: Número de Herbário

IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

NUMERO	NUMERO POPULAR	FAMILIA	NOME CIENTIFICO	RESPONSÁVEL	ASSINATURA	
01	8284	Maracujá	Passifloraceae	<i>Passiflora cf. cincinnata</i> Mast.	Ana Moraes-Mendonça	

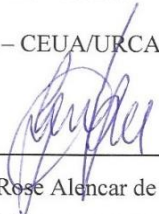
Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva
Curadora do HCDAL

ANEXO 3 –DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO DA CEUA

UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COMISSÃO DE EXPERIMENTAÇÃO E USO DE ANIMAIS
Rua Cel. Antonio Luis 1161, Pimenta
Fones: (088) 3102.1291 / Fax: (088) 3102.1291
CEP 63105-000 – Crato - CE - Brasil
propg@urca.br - www.urca.br/ceua

**DECLARAÇÃO**

Declaro para os devidos fins que o projeto intitulado “**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANSIOLÍTICA E ANTIDEPRESSIVA DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DO EXTRATO HIDROALCOOLICO DE *PASSIFLORA CINCINNATA* EM CAMUNDONGOS.**” Processo No 19/2012 foi **APROVADO** pela Comissão de experimentação e Uso de Animais – CEUA/URCA.



Irwin Rose Alencar de Menezes
Presidente do CEUA/URCA

Apêndices

APÊNDICES

Coluna Estatística do efeito do EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de cruzamentos (NC) em camundongos submetidos ao campo aberto.

EHPC-CA.pzf.Col. stats of Data 1 - Tue Nov 05 10:57:10 2013

Col. stats		A	B	C	D	E	F	G
		CONT	DZP 1	EHFPC 25	EHFPC 50	EHFPC 100	EHFPC 200	EHFPC 400
		Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9	9	9
2								
3	Minimum	52.00	23.00	22.00	43.00	42.00	13.00	4.000
4	25% Percentile	57.50	29.50	30.50	50.00	44.00	18.50	8.000
5	Median	62.00	32.00	43.00	54.00	46.00	50.00	14.00
6	75% Percentile	74.00	38.50	44.50	59.50	52.00	61.50	20.00
7	Maximum	79.00	40.00	56.00	67.00	68.00	65.00	39.00
8								
9	Mean	64.78	33.11	38.78	54.67	49.11	41.89	15.89
10	Std. Deviation	9.536	5.487	10.34	7.124	8.038	20.63	10.31
11	Std. Error	3.179	1.829	3.447	2.375	2.679	6.877	3.438
12								
13	Lower 95% CI of mean	57.45	28.89	30.83	49.19	42.93	26.03	7.962
14	Upper 95% CI of mean	72.11	37.33	46.73	60.14	55.29	57.75	23.82
15								
16	Sum	583.0	298.0	349.0	492.0	442.0	377.0	143.0

Análise ANOVA do efeito do EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de cruzamentos (NC) em camundongos submetidos ao campo aberto.

EHPC-CA.pzf.1way ANOVA of Data 1 - Tue Nov 05 10:54:42 2013

1way ANOVA					
1	Table Analyzed	Data 1			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	P<0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	7			
8	F	17.98			
9	R squared	0.6582			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	18.31			
13	P value	0.0055			
14	P value summary	**			
15	Do the variances differ signif. (P < 0.05)	Yes			
16					
17	ANOVA Table	SS	df	MS	
18	Treatment (between columns)	13490	6	2248	
19	Residual (within columns)	7003	56	125.0	
20	Total	20490	62		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	EHFPC 400 vs CONT	-48.89	13.12	Yes	***
24	EHFPC 400 vs EHFPC 50	-38.78	10.40	Yes	***
25	EHFPC 400 vs EHFPC 100	-33.22	8.913	Yes	***
26	EHFPC 400 vs EHFPC 200	-26.00	6.975	Yes	***
27	EHFPC 400 vs EHFPC 25	-22.89	6.141	Yes	***
28	EHFPC 400 vs DZP 1	-17.22	4.620	Yes	**
29	DZP 1 vs CONT	-31.67	8.495	Yes	***
30	DZP 1 vs EHFPC 50	-21.56	5.783	Yes	**
31	DZP 1 vs EHFPC 100	-16.00	4.292	Yes	*
32	DZP 1 vs EHFPC 200	-8.778	2.355	No	ns
33	DZP 1 vs EHFPC 25	-5.667	—	No	ns
34	EHFPC 25 vs CONT	-26.00	6.975	Yes	***
35	EHFPC 25 vs EHFPC 50	-15.89	4.263	Yes	*
36	EHFPC 25 vs EHFPC 100	-10.33	2.772	No	ns
37	EHFPC 25 vs EHFPC 200	-3.111	—	No	ns
38	EHFPC 200 vs CONT	-22.89	6.141	Yes	***
39	EHFPC 200 vs EHFPC 50	-12.78	3.428	Yes	*
40	EHFPC 200 vs EHFPC 100	-7.222	—	No	ns
41	EHFPC 100 vs CONT	-15.67	4.203	Yes	*
42	EHFPC 100 vs EHFPC 50	-5.556	1.490	No	ns
43	EHFPC 50 vs CONT	-10.11	2.713	No	ns

Coluna Estatística do efeito do EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de *grooming* (NG) em camundongos submetidos ao campo aberto.

EHPC-CA.pzf.Col. stats of Data 2 - Tue Nov 05 10:56:05 2013

Col. stats		A	B	C	D	E	F	G
		CONT	DZP 1	EHFPC 25	EHFPC 50	EHFPC 100	EHFPC 200	EHFPC 400
		Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9	9	9
2								
3	Minimum	9.000	2.000	3.000	4.000	1.000	4.000	0.0
4	25% Percentile	9.500	4.000	3.000	4.500	5.000	4.000	0.0
5	Median	12.00	4.000	5.000	5.000	5.000	5.000	1.000
6	75% Percentile	13.00	5.000	7.000	9.000	11.50	8.500	4.500
7	Maximum	15.00	5.000	8.000	10.00	14.00	9.000	5.000
8								
9	Mean	11.44	4.111	5.111	6.444	7.111	6.000	2.000
10	Std. Deviation	2.128	0.9280	1.965	2.351	4.226	2.121	2.121
11	Std. Error	0.7093	0.3093	0.6550	0.7837	1.409	0.7071	0.7071
12								
13	Lower 95% CI of mean	9.809	3.398	3.601	4.637	3.863	4.369	0.3694
14	Upper 95% CI of mean	13.08	4.824	6.622	8.252	10.36	7.631	3.631
15								
16	Sum	103.0	37.00	46.00	58.00	64.00	54.00	18.00

Análise da ANOVA do efeito do EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de *grooming* (NG) em camundongos submetidos ao campo aberto.

EHPC-CA.pzf:1way ANOVA of Data 2 - Tue Nov 05 10:57:50 2013

1way ANOVA					
1	Table Analyzed	Data 2			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	P<0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	7			
8	F	12.97			
9	R squared	0.5815			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	16.57			
13	P value	0.0110			
14	P value summary	*			
15	Do the variances differ signif. (P < 0.05)	Yes			
16					
17	ANOVA Table	SS	df	MS	
18	Treatment (between columns)	462.8	6	77.14	
19	Residual (within columns)	333.1	56	5.948	
20	Total	795.9	62		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	EHFPC 400 vs CONT	-9.444	11.62	Yes	***
24	EHFPC 400 vs EHFPC 100	-5.111	6.287	Yes	***
25	EHFPC 400 vs EHFPC 50	-4.444	5.467	Yes	**
26	EHFPC 400 vs EHFPC 200	-4.000	4.920	Yes	**
27	EHFPC 400 vs EHFPC 25	-3.111	3.827	Yes	*
28	EHFPC 400 vs DZP 1	-2.111	2.597	No	ns
29	DZP 1 vs CONT	-7.333	9.020	Yes	***
30	DZP 1 vs EHFPC 100	-3.000	3.690	No	ns
31	DZP 1 vs EHFPC 50	-2.333	---	No	ns
32	DZP 1 vs EHFPC 200	-1.889	---	No	ns
33	DZP 1 vs EHFPC 25	-1.000	---	No	ns
34	EHFPC 25 vs CONT	-6.333	7.790	Yes	***
35	EHFPC 25 vs EHFPC 100	-2.000	---	No	ns
36	EHFPC 25 vs EHFPC 50	-1.333	---	No	ns
37	EHFPC 25 vs EHFPC 200	-0.8889	---	No	ns
38	EHFPC 200 vs CONT	-5.444	6.697	Yes	***
39	EHFPC 200 vs EHFPC 100	-1.111	---	No	ns
40	EHFPC 200 vs EHFPC 50	-0.4444	---	No	ns
41	EHFPC 50 vs CONT	-5.000	6.150	Yes	***
42	EHFPC 50 vs EHFPC 100	-0.6667	---	No	ns
43	EHFPC 100 vs CONT	-4.333	5.330	Yes	***

Coluna Estatística do Efeito do EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de *rearing* (NR) em camundongos submetidos ao campo aberto.

EHPC-CA.pzf.Col. stats of Data 3 - Tue Nov 05 10:58:57 2013

Col. stats		A	B	C	D	E	F	G
		CONT	DZP 1	EHFPC 25	EHFPC 50	EHFPC 100	EHFPC 200	EHFPC 400
		Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9	9	9
2								
3	Minimum	9.000	0.0	0.0	1.000	0.0	0.0	0.0
4	25% Percentile	9.000	0.0	0.0	2.000	0.5000	0.0	0.0
5	Median	12.00	0.0	1.000	3.000	2.000	0.0	0.0
6	75% Percentile	18.50	2.000	2.000	4.500	3.500	3.000	0.0
7	Maximum	19.00	2.000	3.000	6.000	5.000	6.000	1.000
8								
9	Mean	13.11	0.6667	1.111	3.333	2.000	1.444	0.1111
10	Std. Deviation	4.512	1.000	1.054	1.658	1.732	2.351	0.3333
11	Std. Error	1.504	0.3333	0.3514	0.5528	0.5774	0.7837	0.1111
12								
13	Lower 95% CI of mean	9.643	-0.1020	0.3009	2.059	0.6686	-0.3628	-0.1451
14	Upper 95% CI of mean	16.58	1.435	1.921	4.608	3.331	3.252	0.3673
15								
16	Sum	118.0	6.000	10.00	30.00	18.00	13.00	1.000

Análise ANOVA do Efeito do EHFPC (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de *rearing* (NR) em camundongos submetidos ao campo aberto.

EHPC-CA.pzf:1way ANOVA of Data 3 - Tue Nov 05 10:59:11 2013

1way ANOVA					
1	Table Analyzed	Data 3			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	P<0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	7			
8	F	38.15			
9	R squared	0.8035			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	48.05			
13	P value	P<0.0001			
14	P value summary	***			
15	Do the variances differ signif. (P < 0.05)	Yes			
16					
17	ANOVA Table	SS	df	MS	
18	Treatment (between columns)	1107	6	184.6	
19	Residual (within columns)	270.9	56	4.837	
20	Total	1378	62		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	EHFPC 400 vs CONT	-13.00	17.73	Yes	***
24	EHFPC 400 vs EHFPC 50	-3.222	4.395	Yes	*
25	EHFPC 400 vs EHFPC 100	-1.889	2.576	No	ns
26	EHFPC 400 vs EHFPC 200	-1.333	---	No	ns
27	EHFPC 400 vs EHFPC 25	-1.000	---	No	ns
28	EHFPC 400 vs DZP 1	-0.5556	---	No	ns
29	DZP 1 vs CONT	-12.44	16.97	Yes	***
30	DZP 1 vs EHFPC 50	-2.667	3.637	No	ns
31	DZP 1 vs EHFPC 100	-1.333	---	No	ns
32	DZP 1 vs EHFPC 200	-0.7778	---	No	ns
33	DZP 1 vs EHFPC 25	-0.4444	---	No	ns
34	EHFPC 25 vs CONT	-12.00	16.37	Yes	***
35	EHFPC 25 vs EHFPC 50	-2.222	---	No	ns
36	EHFPC 25 vs EHFPC 100	-0.8889	---	No	ns
37	EHFPC 25 vs EHFPC 200	-0.3333	---	No	ns
38	EHFPC 200 vs CONT	-11.67	15.91	Yes	***
39	EHFPC 200 vs EHFPC 50	-1.889	---	No	ns
40	EHFPC 200 vs EHFPC 100	-0.5556	---	No	ns
41	EHFPC 100 vs CONT	-11.11	15.16	Yes	***
42	EHFPC 100 vs EHFPC 50	-1.333	---	No	ns
43	EHFPC 50 vs CONT	-9.778	13.34	Yes	***

Coluna Estatística do Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) e Associação EHFPC + FLU (100mg/Kg + 10 mg/Kg, i.p.) sobre o número de entradas em braços abertos (NEBA) em camundongos submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado.

EHFPC -LCE.pzf.Col. stats of Data 1 - Tue Nov 05 11:04:55 2013

Col. stats		A	B	C	D	E	F
		CONT	DZP 1	EHPC 50	EHPC 100	DZP 1 + FLU 10	EHPC 100 + FLU 10
		Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	6	6
2							
3	Minimum	1.000	6.000	2.000	2.000	3.000	1.000
4	25% Percentile	1.000	7.500	2.000	3.000	3.000	3.250
5	Median	2.000	9.000	3.000	5.000	4.000	4.500
6	75% Percentile	2.500	11.50	5.000	7.500	6.250	6.000
7	Maximum	3.000	14.00	7.000	9.000	7.000	6.000
8							
9	Mean	1.778	9.444	3.556	5.111	4.500	4.333
10	Std. Deviation	0.8333	2.555	1.878	2.522	1.761	1.862
11	Std. Error	0.2778	0.8517	0.6261	0.8407	0.7188	0.7601
12							
13	Lower 95% CI of mean	1.137	7.481	2.112	3.172	2.652	2.379
14	Upper 95% CI of mean	2.418	11.41	4.999	7.050	6.348	6.287
15							
16	Sum	16.00	85.00	32.00	46.00	27.00	26.00

Análise ANOVA do Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) e Associação EHFPC + FLU (100mg/Kg + 10 mg/Kg, i.p.) sobre o número de entradas em braços abertos (NEBA) em camundongos submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado.

EHFPC -LCE.pzf:1way ANOVA of Data 1:Tabular results - Tue Nov 05 11:05:22 2013

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 1			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	P<0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	6			
8	F	14.50			
9	R squared	0.6332			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	9.260			
13	P value	0.0991			
14	P value summary	ns			
15	Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No			
16					
17	ANOVA Table	SS	df	MS	
18	Treatment (between columns)	292.9	5	58.59	
19	Residual (within columns)	169.7	42	4.041	
20	Total	462.7	47		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	CONT vs DZP 1	-7.667	11.44	Yes	***
24	CONT vs EHPC 100	-3.333	4.975	Yes	**
25	CONT vs DZP 1 + FLU 10	-2.722	3.634	No	ns
26	CONT vs EHPC 100 + FLU 10	-2.556	---	No	ns
27	CONT vs EHPC 50	-1.778	---	No	ns
28	EHPC 50 vs DZP 1	-5.889	8.788	Yes	***
29	EHPC 50 vs EHPC 100	-1.556	2.321	No	ns
30	EHPC 50 vs DZP 1 + FLU 10	-0.9444	---	No	ns
31	EHPC 50 vs EHPC 100 + FLU 10	-0.7778	---	No	ns
32	EHPC 100 + FLU 10 vs DZP 1	-5.111	6.822	Yes	***
33	EHPC 100 + FLU 10 vs EHPC 100	-0.7778	---	No	ns
34	EHPC 100 + FLU 10 vs DZP 1 + FLU 10	-0.1667	---	No	ns
35	DZP 1 + FLU 10 vs DZP 1	-4.944	6.600	Yes	***
36	DZP 1 + FLU 10 vs EHPC 100	-0.6111	---	No	ns
37	EHPC 100 vs DZP 1	-4.333	6.467	Yes	***

Coluna Estatística do Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) e Associação EHFPC + FLU (100mg/Kg + 10 mg/Kg, i.p.) sobre o número de entradas em braços fechados (NEBF) em camundongos submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado.

EHFPC -LCE.pzf:Col. stats of Data 2 - Tue Nov 05 11:06:05 2013

Col. stats		A	B	C	D	E	F
		CONT	DZP 1	EHFPC 50	EHFPC 100	DZP 1 + FLU 10	EHFPC 100 + FLU 10
		Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	6	6
2							
3	Minimum	8.000	1.000	4.000	3.000	7.000	9.000
4	25% Percentile	9.500	3.500	4.000	4.000	7.750	9.000
5	Median	11.00	4.000	5.000	6.000	9.500	9.000
6	75% Percentile	12.00	5.000	8.000	7.500	12.25	10.25
7	Maximum	13.00	6.000	9.000	8.000	13.00	11.00
8							
9	Mean	10.67	4.000	5.778	5.778	9.833	9.500
10	Std. Deviation	1.581	1.414	2.048	1.856	2.483	0.8367
11	Std. Error	0.5270	0.4714	0.6827	0.6186	1.014	0.3416
12							
13	Lower 95% CI of mean	9.451	2.913	4.204	4.351	7.227	8.622
14	Upper 95% CI of mean	11.88	5.087	7.352	7.204	12.44	10.38
15							
16	Sum	96.00	36.00	52.00	52.00	59.00	57.00

Análise ANOVA do Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) e Associação EHFPC + FLU (100mg/Kg + 10 mg/Kg, i.p.) sobre o número de entradas em braços fechados (NEBF) em camundongos submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado.

EHFPC -LCE.pzf:1way ANOVA of Data 2:Tabular results - Tue Nov 05 11:06:37 2013

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 2			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	P<0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	6			
8	F	19.76			
9	R squared	0.7017			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	6.015			
13	P value	0.3048			
14	P value summary	ns			
15	Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No			
16					
17	ANOVA Table	SS	df	MS	
18	Treatment (between columns)	309.2	5	61.84	
19	Residual (within columns)	131.4	42	3.130	
20	Total	440.7	47		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	DZP 1 vs CONT	-6.667	11.31	Yes	***
24	DZP 1 vs DZP 1 + FLU 10	-5.833	8.848	Yes	***
25	DZP 1 vs EHFPC 100 + FLU 10	-5.500	8.342	Yes	***
26	DZP 1 vs EHFPC 100	-1.778	3.015	No	ns
27	DZP 1 vs EHFPC 50	-1.778	---	No	ns
28	EHFPC 50 vs CONT	-4.889	8.291	Yes	***
29	EHFPC 50 vs DZP 1 + FLU 10	-4.056	6.151	Yes	***
30	EHFPC 50 vs EHFPC 100 + FLU 10	-3.722	5.646	Yes	***
31	EHFPC 50 vs EHFPC 100	0.0000	---	No	ns
32	EHFPC 100 vs CONT	-4.889	8.291	Yes	***
33	EHFPC 100 vs DZP 1 + FLU 10	-4.056	6.151	Yes	***
34	EHFPC 100 vs EHFPC 100 + FLU 10	-3.722	5.646	Yes	***
35	EHFPC 100 + FLU 10 vs CONT	-1.167	1.770	No	ns
36	EHFPC 100 + FLU 10 vs DZP 1 + FLU 10	-0.3333	---	No	ns
37	DZP 1 + FLU 10 vs CONT	-0.8333	---	No	ns

Coluna Estatística do Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) e Associação EHFPC + FLU (100mg/Kg + 10 mg/Kg, i.p.) sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) em camundongos submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado.

EHFPC -LCE.pzf.Col. stats of Data 3 - Tue Nov 05 11:07:12 2013

Col. stats		A	B	C	D	E	F
		CONT	DZP 1	EHFPC 50	EHFPC 100	DZP 1 + FLU 10	EHFPC 100 + FLU 10
		Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	6	6
2							
3	Minimum	20.00	143.0	13.00	66.00	20.00	5.000
4	25% Percentile	25.00	161.5	38.00	72.00	31.25	24.50
5	Median	64.00	187.0	65.00	94.00	55.50	43.00
6	75% Percentile	71.50	200.0	116.5	141.0	76.25	69.00
7	Maximum	85.00	216.0	184.0	158.0	80.00	72.00
8							
9	Mean	51.11	182.1	77.89	106.1	53.50	43.67
10	Std. Deviation	25.04	23.92	55.11	35.81	22.97	25.22
11	Std. Error	8.346	7.975	18.37	11.94	9.376	10.29
12							
13	Lower 95% CI of mean	31.87	163.7	35.53	78.59	29.40	17.20
14	Upper 95% CI of mean	70.36	200.5	120.3	133.6	77.60	70.13
15							
16	Sum	460.0	1639	701.0	955.0	321.0	262.0

Análise ANOVA do Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) e Associação EHFPC + FLU (100mg/Kg + 10 mg/Kg, i.p.) sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) em camundongos submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado.

EHFPC -LCE.pzf:1way ANOVA of Data 3:Tabular results - Tue Nov 05 11:08:50 2013

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 3			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	P<0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	6			
8	F	19.25			
9	R squared	0.6962			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	9.523			
13	P value	0.0899			
14	P value summary	ns			
15	Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No			
16					
17	ANOVA Table	SS	df	MS	
18	Treatment (between columns)	114500	5	22900	
19	Residual (within columns)	49960	42	1190	
20	Total	164500	47		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	EHFPC 100 + FLU 10 vs DZP 1	-138.4	10.77	Yes	***
24	EHFPC 100 + FLU 10 vs EHFPC 100	-62.44	4.858	Yes	*
25	EHFPC 100 + FLU 10 vs EHFPC 50	-34.22	2.662	No	ns
26	EHFPC 100 + FLU 10 vs DZP 1 + FLU 10	-9.833	---	No	ns
27	EHFPC 100 + FLU 10 vs CONT	-7.444	---	No	ns
28	CONT vs DZP 1	-131.0	11.39	Yes	***
29	CONT vs EHFPC 100	-55.00	4.784	Yes	**
30	CONT vs EHFPC 50	-26.78	---	No	ns
31	CONT vs DZP 1 + FLU 10	-2.389	---	No	ns
32	DZP 1 + FLU 10 vs DZP 1	-128.6	10.01	Yes	***
33	DZP 1 + FLU 10 vs EHFPC 100	-52.61	4.093	Yes	*
34	DZP 1 + FLU 10 vs EHFPC 50	-24.39	---	No	ns
35	EHFPC 50 vs DZP 1	-104.2	9.065	Yes	***
36	EHFPC 50 vs EHFPC 100	-28.22	2.455	No	ns
37	EHFPC 100 vs DZP 1	-76.00	6.610	Yes	***

Coluna Estatística do Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) e Associação EHFPC + FLU (100mg/Kg + 10 mg/Kg, i.p.) sobre o tempo de permanência nos braços fechados (TPBF) em camundongos submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado.

EHFPC -LCE.pzf:Col. stats of Data 4 - Tue Nov 05 11:10:41 2013

Col. stats		A	B	C	D	E	F
		CONT	DZP 1	EHFPC 50	EHFPC 100	DZP 1 + FLU 10	EHFPC 100 + FLU 10
		Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	6	6
2							
3	Minimum	185.0	79.00	108.0	100.0	159.0	187.0
4	25% Percentile	198.0	84.50	163.5	128.5	167.3	190.0
5	Median	231.0	96.00	207.0	148.0	183.5	200.5
6	75% Percentile	242.0	109.5	220.0	179.5	210.0	219.5
7	Maximum	246.0	129.0	238.0	193.0	246.0	224.0
8							
9	Mean	219.7	98.22	190.2	152.2	190.0	203.5
10	Std. Deviation	23.47	16.15	41.08	30.93	30.50	14.84
11	Std. Error	7.823	5.382	13.69	10.31	12.45	6.059
12							
13	Lower 95% CI of mean	201.6	85.81	158.6	128.4	158.0	187.9
14	Upper 95% CI of mean	237.7	110.6	221.8	176.0	222.0	219.1
15							
16	Sum	1977	884.0	1712	1370	1140	1221

Análise ANOVA do Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) e Associação EHFPC + FLU (100mg/Kg + 10 mg/Kg, i.p.) sobre o tempo de permanência nos braços fechados (TPBF) em camundongos submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado.

EHFPC-LCE.pzf:1way ANOVA of Data 4:Tabular results - Tue Nov 05 11:11:30 2013

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 4			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	P<0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	6			
8	F	21.08			
9	R squared	0.7150			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	9.442			
13	P value	0.0927			
14	P value summary	ns			
15	Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No			
16					
17	ANOVA Table	SS	df	MS	
18	Treatment (between columns)	83800	5	16760	
19	Residual (within columns)	33400	42	795.1	
20	Total	117200	47		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	DZP 1 vs CONT	-121.4	12.92	Yes	***
24	DZP 1 vs EHFPC 100 + FLU 10	-105.3	10.02	Yes	***
25	DZP 1 vs EHFPC 50	-92.00	9.788	Yes	***
26	DZP 1 vs DZP 1 + FLU 10	-91.78	8.733	Yes	***
27	DZP 1 vs EHFPC 100	-54.00	5.745	Yes	***
28	EHFPC 100 vs CONT	-67.44	7.175	Yes	***
29	EHFPC 100 vs EHFPC 100 + FLU 10	-51.28	4.879	Yes	**
30	EHFPC 100 vs EHFPC 50	-38.00	4.043	Yes	*
31	EHFPC 100 vs DZP 1 + FLU 10	-37.78	3.595	Yes	*
32	DZP 1 + FLU 10 vs CONT	-29.67	2.823	No	ns
33	DZP 1 + FLU 10 vs EHFPC 100 + FLU 10	-13.50	---	No	ns
34	DZP 1 + FLU 10 vs EHFPC 50	-0.2222	---	No	ns
35	EHFPC 50 vs CONT	-29.44	---	No	ns
36	EHFPC 50 vs EHFPC 100 + FLU 10	-13.28	---	No	ns
37	EHFPC 100 + FLU 10 vs CONT	-16.17	---	No	ns

Coluna Estatística do Efeito do EHFPC (200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre a latência de sono em camundongos submetidos a potencialização do sono induzidas por barbitúricos.

TS.pzf.Col. stats of Data 1 - Tue Nov 05 17:06:45 2013

Col. stats		A	B	C	D
		CONT	DZP 2	EHFPC 200	EHFPC 400
		Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9
2					
3	Minimum	132.0	47.00	123.0	103.0
4	25% Percentile	141.0	55.50	129.5	106.0
5	Median	151.0	69.00	165.0	129.0
6	75% Percentile	176.5	86.00	187.5	144.0
7	Maximum	197.0	108.0	222.0	154.0
8					
9	Mean	159.9	71.44	164.0	127.6
10	Std. Deviation	22.28	19.96	33.30	19.07
11	Std. Error	7.428	6.654	11.10	6.358
12					
13	Lower 95% CI of mean	142.8	56.10	138.4	112.9
14	Upper 95% CI of mean	177.0	86.79	189.6	142.2
15					
16	Sum	1439	643.0	1476	1148

Análise ANOVA do Efeito do EHFPC (200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre a latência de sono em camundongos submetidos a potencialização do sono induzidas por barbitúricos.

TS.pzf:1way ANOVA of Data 1:Tabular results - Tue Nov 05 17:07:23 2013

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 1			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	P<0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	4			
8	F	27.78			
9	R squared	0.7226			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	3.274			
13	P value	0.3513			
14	P value summary	ns			
15	Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No			
16					
17	ANOVA Table	SS	df	MS	
18	Treatment (between columns)	49340	3	16450	
19	Residual (within columns)	18940	32	592.0	
20	Total	68280	35		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	DZP 2 vs EHFPC 200	-92.56	11.41	Yes	***
24	DZP 2 vs CONT	-88.44	10.91	Yes	***
25	DZP 2 vs EHFPC 400	-56.11	6.919	Yes	***
26	EHFPC 400 vs EHFPC 200	-36.44	4.494	Yes	**
27	EHFPC 400 vs CONT	-32.33	3.987	Yes	**
28	CONT vs EHFPC 200	-4.111	0.5069	No	ns

Coluna Estatística do Efeito do EHFPC (200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre a duração do sono em camundongos submetidos a potencialização do sono induzidas por barbitúricos.

TS.pzf.Col. stats of Data 2 - Tue Nov 05 20:02:27 2013

Col. stats		A	B	C	D
		CONT	DZP 2	EHPC 200	EHPC 400
		Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9
2					
3	Minimum	473.0	2241	312.0	3627
4	25% Percentile	702.5	5049	2584	4549
5	Median	912.0	6596	3230	5845
6	75% Percentile	1212	8065	3704	6546
7	Maximum	1361	8565	3932	6722
8					
9	Mean	944.3	6375	2903	5583
10	Std. Deviation	295.5	2057	1094	1151
11	Std. Error	98.51	685.6	364.7	383.8
12					
13	Lower 95% CI of mean	717.2	4794	2062	4698
14	Upper 95% CI of mean	1171	7956	3744	6468
15					
16	Sum	8499	57378	26129	50248

Análise ANOVA Efeito do EHFPC (200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre a duração do sono em camundongos submetidos a potencialização do sono induzidas por barbitúricos.

TS.pzf.1way ANOVA of Data 2:Tabular results - Tue Nov 05 20:02:08 2013

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 2			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	P<0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	4			
8	F	32.77			
9	R squared	0.7544			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	20.38			
13	P value	0.0001			
14	P value summary	***			
15	Do the variances differ signif. (P < 0.05)	Yes			
16					
17	ANOVA Table	SS	df	MS	
18	Treatment (between columns)	168100000	3	56040000	
19	Residual (within columns)	54730000	32	1710000	
20	Total	222800000	35		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	CONT vs DZP 2	-5431	12.46	Yes	***
24	CONT vs EHPC 400	-4639	10.64	Yes	***
25	CONT vs EHPC 200	-1959	4.494	Yes	**
26	EHPC 200 vs DZP 2	-3472	7.965	Yes	***
27	EHPC 200 vs EHPC 400	-2680	6.148	Yes	***
28	EHPC 400 vs DZP 2	-792.2	1.817	No	ns

Coluna Estatística do Efeito do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a latência de imobilidade em camundongos submetidos ao Nado Forçado.

EHPC-NF.pzf:Col. stats of Data 1 - Tue Nov 05 17:01:01 2013

Col. stats		A	B	C	D	E	F	G
		CONT	IMI 30	FLUOX 10	BUP 20	EHFPC 25	EHFPC 50	EHFPC 100
		Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	8	9	9	9	9	9	9
2								
3	Minimum	96.00	4.000	43.00	12.00	65.00	45.00	24.00
4	25% Percentile	98.25	12.00	45.50	30.50	70.50	58.00	29.00
5	Median	111.5	28.00	71.00	70.00	86.00	84.00	63.00
6	75% Percentile	121.0	45.00	78.00	77.00	112.0	99.50	85.50
7	Maximum	141.0	52.00	89.00	84.00	131.0	140.0	97.00
8								
9	Mean	112.4	27.44	65.00	56.22	92.33	82.78	58.33
10	Std. Deviation	15.29	17.23	16.99	25.94	23.06	28.89	28.71
11	Std. Error	5.405	5.742	5.664	8.645	7.687	9.629	9.571
12								
13	Lower 95% CI of mean	99.59	14.20	51.94	36.29	74.61	60.57	36.26
14	Upper 95% CI of mean	125.2	40.69	78.06	76.16	110.1	105.0	80.40
15								
16	Sum	899.0	247.0	585.0	506.0	831.0	745.0	525.0

Análise ANOVA do Efeito do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a latência de imobilidade em camundongos submetidos ao Nado Forçado.

EHPC-NF.pzf.1way ANOVA of Data 1 - Tue Nov 05 17:01:34 2013

1way ANOVA					
1	Table Analyzed	Data 1			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	P<0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	7			
8	F	12.48			
9	R squared	0.5765			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	5.984			
13	P value	0.4249			
14	P value summary	ns			
15	Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No			
16					
17	ANOVA Table	SS	df	MS	
18	Treatment (between columns)	39780	6	6630	
19	Residual (within columns)	29230	55	531.4	
20	Total	69010	61		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	IMI 30 vs CONT	-84.93	10.72	Yes	***
24	IMI 30 vs EHFPC 25	-64.89	8.445	Yes	***
25	IMI 30 vs EHFPC 50	-55.33	7.201	Yes	***
26	IMI 30 vs FLUOX 10	-37.56	4.887	Yes	**
27	IMI 30 vs EHFPC 100	-30.89	4.020	Yes	*
28	IMI 30 vs BUP 20	-28.78	3.745	Yes	*
29	BUP 20 vs CONT	-56.15	7.090	Yes	***
30	BUP 20 vs EHFPC 25	-36.11	4.699	Yes	*
31	BUP 20 vs EHFPC 50	-26.56	3.456	No	ns
32	BUP 20 vs FLUOX 10	-8.778	---	No	ns
33	BUP 20 vs EHFPC 100	-2.111	---	No	ns
34	EHFPC 100 vs CONT	-54.04	6.823	Yes	***
35	EHFPC 100 vs EHFPC 25	-34.00	4.425	Yes	*
36	EHFPC 100 vs EHFPC 50	-24.44	---	No	ns
37	EHFPC 100 vs FLUOX 10	-6.667	---	No	ns
38	FLUOX 10 vs CONT	-47.38	5.981	Yes	***
39	FLUOX 10 vs EHFPC 25	-27.33	3.557	Yes	*
40	FLUOX 10 vs EHFPC 50	-17.78	---	No	ns
41	EHFPC 50 vs CONT	-29.60	3.737	Yes	*
42	EHFPC 50 vs EHFPC 25	-9.556	1.244	No	ns
43	EHFPC 25 vs CONT	-20.04	2.530	No	ns

Coluna Estatística do Efeito do EHFPC (1 e 100 mg/Kg, i.p.) e associações (EHFPC 1 + IMIP 1; EHFPC 1 + FLU 1; EHFPC 1 + BUP 1) sobre a latência de imobilidade em camundongos submetidos ao teste de potencialização do Nado Forçado.

EHPC-NF (potencialização).pzf.Col. stats of Data 1 - Tue Nov 05 16:57:17 2013

Col. stats	A	B	C	D	E	F	G	H	I	
	CONT	IMI 1	IMI 30	FLUOX 1	FLUOX 10	BUP 1	BUP 20	EHFPC 1	EHFPC 100	
	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	
1	Number of values	9	9	9	9	9	9	9	9	
2										
3	Minimum	64.00	47.00	0.0	54.00	9.000	46.00	0.0	47.00	18.00
4	25% Percentile	94.50	56.50	0.0	64.50	20.00	60.50	10.50	79.00	31.00
5	Median	120.0	65.00	8.000	81.00	26.00	79.00	19.00	96.00	47.00
6	75% Percentile	143.5	96.00	25.50	96.00	37.00	106.0	23.00	104.0	50.50
7	Maximum	154.0	121.0	42.00	105.0	49.00	118.0	42.00	143.0	55.00
8										
9	Mean	115.8	75.00	12.33	79.00	27.44	82.00	18.67	94.00	41.22
10	Std. Deviation	29.29	25.19	16.48	18.12	12.02	24.82	11.81	25.76	12.65
11	Std. Error	9.764	8.398	5.492	6.039	4.007	8.273	3.937	8.588	4.216
12										
13	Lower 95% CI of mean	93.26	55.63	-0.3322	65.07	18.20	62.92	9.588	74.20	31.50
14	Upper 95% CI of mean	138.3	94.37	25.00	92.93	36.69	101.1	27.75	113.8	50.94
15										
16	Sum	1042	675.0	111.0	711.0	247.0	738.0	168.0	846.0	371.0

EHPC-NF (potencialização).pzf.Col. stats of Data 1 - Tue Nov 05 16:57:17 2013

	J	K	L
	EHFPC 1 + IMI 1	EHFPC 1 + FLUOX 1	EHFPC 1 + BUP 1
	Y	Y	Y
1	9	9	9
2			
3	13.00	0.0	2.000
4	32.00	23.00	15.00
5	55.00	30.00	42.00
6	68.00	42.00	61.00
7	79.00	55.00	73.00
8			
9	50.33	31.00	38.44
10	22.35	15.81	25.51
11	7.450	5.270	8.503
12			
13	33.15	18.85	18.84
14	67.51	43.15	58.05
15			
16	453.0	279.0	346.0

Análise ANOVA do Efeito do EHFPC (1 e 100 mg/Kg, i.p.) e associações (EHFPC 1 + IMIP 1; EHFPC 1 + FLU 1; EHFPC 1 + BUP 1) sobre a latência de imobilidade em camundongos submetidos ao teste de potencialização do Nado Forçado.

(continuação) Análise ANOVA do Efeito do EHFPC (1 e 100 mg/Kg, i.p.) e

EHPC-NF (potencialização).pzf:1way ANOVA of Data 1 - Tue Nov 05 16:58:18 2013

1way ANOVA					
1	Table Analyzed	Data 1			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	P<0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	12			
8	F	22.36			
9	R squared	0.7193			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	16.61			
13	P value	0.1200			
14	P value summary	ns			
15	Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No			
16					
17	ANOVA Table	SS	df	MS	
18	Treatment (between columns)	106900	11	9719	
19	Residual (within columns)	41730	96	434.7	
20	Total	148600	107		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	IMI 30 vs CONT	-103.4	14.88	Yes	***
24	IMI 30 vs EHFPC 1	-81.67	11.75	Yes	***
25	IMI 30 vs BUP 1	-69.67	10.02	Yes	***
26	IMI 30 vs FLUOX 1	-66.67	9.593	Yes	***
27	IMI 30 vs IMI 1	-62.67	9.017	Yes	***
28	IMI 30 vs EHFPC 1 + IMI 1	-38.00	5.468	Yes	**
29	IMI 30 vs EHFPC 100	-28.89	4.157	Yes	*
30	IMI 30 vs EHFPC 1 + BUP 1	-26.11	3.757	No	ns
31	IMI 30 vs EHFPC 1 + FLUOX 1	-18.67	---	No	ns
32	IMI 30 vs FLUOX 10	-15.11	---	No	ns
33	IMI 30 vs BUP 20	-6.333	---	No	ns
34	BUP 20 vs CONT	-97.11	13.97	Yes	***
35	BUP 20 vs EHFPC 1	-75.33	10.84	Yes	***
36	BUP 20 vs BUP 1	-63.33	9.113	Yes	***
37	BUP 20 vs FLUOX 1	-60.33	8.681	Yes	***
38	BUP 20 vs IMI 1	-56.33	8.106	Yes	***
39	BUP 20 vs EHFPC 1 + IMI 1	-31.67	4.556	Yes	*
40	BUP 20 vs EHFPC 100	-22.56	3.245	No	ns
41	BUP 20 vs EHFPC 1 + BUP 1	-19.78	---	No	ns
42	BUP 20 vs EHFPC 1 + FLUOX 1	-12.33	---	No	ns
43	BUP 20 vs FLUOX 10	-8.778	---	No	ns
44	FLUOX 10 vs CONT	-88.33	12.71	Yes	***
45	FLUOX 10 vs EHFPC 1	-66.56	9.577	Yes	***
46	FLUOX 10 vs BUP 1	-54.56	7.850	Yes	***
47	FLUOX 10 vs FLUOX 1	-51.56	7.418	Yes	***

associações (EHFPC 1 + IMIP 1; EHFPC 1 + FLU 1; EHFPC 1 + BUP 1) sobre a latência de imobilidade em camundongos submetidos ao teste de potencialização do Nado Forçado

EHFC-NF (potencialização).pzf.1way ANOVA of Data 1 - Tue Nov 05 16:58:18 2013

1way ANOVA					
48	FLUOX 10 vs IMI 1	-47.56	6.843	Yes	***
49	FLUOX 10 vs EHFPC 1 + IMI 1	-22.89	3.293	No	ns
50	FLUOX 10 vs EHFPC 100	-13.78	---	No	ns
51	FLUOX 10 vs EHFPC 1 + BUP 1	-11.00	---	No	ns
52	FLUOX 10 vs EHFPC 1 + FLUOX 1	-3.556	---	No	ns
53	EHFPC 1 + FLUOX 1 vs CONT	-84.78	12.20	Yes	***
54	EHFPC 1 + FLUOX 1 vs EHFPC 1	-63.00	9.065	Yes	***
55	EHFPC 1 + FLUOX 1 vs BUP 1	-51.00	7.338	Yes	***
56	EHFPC 1 + FLUOX 1 vs FLUOX 1	-48.00	6.907	Yes	***
57	EHFPC 1 + FLUOX 1 vs IMI 1	-44.00	6.331	Yes	***
58	EHFPC 1 + FLUOX 1 vs EHFPC 1 + IMI 1	-19.33	---	No	ns
59	EHFPC 1 + FLUOX 1 vs EHFPC 100	-10.22	---	No	ns
60	EHFPC 1 + FLUOX 1 vs EHFPC 1 + BUP 1	-7.444	---	No	ns
61	EHFPC 1 + BUP 1 vs CONT	-77.33	11.13	Yes	***
62	EHFPC 1 + BUP 1 vs EHFPC 1	-55.56	7.994	Yes	***
63	EHFPC 1 + BUP 1 vs BUP 1	-43.56	6.267	Yes	***
64	EHFPC 1 + BUP 1 vs FLUOX 1	-40.56	5.835	Yes	***
65	EHFPC 1 + BUP 1 vs IMI 1	-36.56	5.260	Yes	**
66	EHFPC 1 + BUP 1 vs EHFPC 1 + IMI 1	-11.89	---	No	ns
67	EHFPC 1 + BUP 1 vs EHFPC 100	-2.778	---	No	ns
68	EHFPC 100 vs CONT	-74.56	10.73	Yes	***
69	EHFPC 100 vs EHFPC 1	-52.78	7.594	Yes	***
70	EHFPC 100 vs BUP 1	-40.78	5.867	Yes	***
71	EHFPC 100 vs FLUOX 1	-37.78	5.436	Yes	**
72	EHFPC 100 vs IMI 1	-33.78	4.860	Yes	**
73	EHFPC 100 vs EHFPC 1 + IMI 1	-9.111	---	No	ns
74	EHFPC 1 + IMI 1 vs CONT	-65.44	9.417	Yes	***
75	EHFPC 1 + IMI 1 vs EHFPC 1	-43.67	6.283	Yes	***
76	EHFPC 1 + IMI 1 vs BUP 1	-31.67	4.556	Yes	**
77	EHFPC 1 + IMI 1 vs FLUOX 1	-28.67	4.125	Yes	*
78	EHFPC 1 + IMI 1 vs IMI 1	-24.67	3.549	Yes	*
79	IMI 1 vs CONT	-40.78	5.867	Yes	***
80	IMI 1 vs EHFPC 1	-19.00	2.734	No	ns
81	IMI 1 vs BUP 1	-7.000	---	No	ns
82	IMI 1 vs FLUOX 1	-4.000	---	No	ns
83	FLUOX 1 vs CONT	-36.78	5.292	Yes	**
84	FLUOX 1 vs EHFPC 1	-15.00	---	No	ns
85	FLUOX 1 vs BUP 1	-3.000	---	No	ns
86	BUP 1 vs CONT	-33.78	4.860	Yes	**
87	BUP 1 vs EHFPC 1	-12.00	---	No	ns
88	EHFPC 1 vs CONT	-21.78	3.134	Yes	*

Coluna Estatística do Efeito do EHFPC (25, 50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre o número de cruzamentos em camundongos submetidos ao Campo Aberto no teste de acinesia induzida por reserpina.

EHPC-RES.pzf.Col. stats of Data 2 - Fri Feb 07 12:47:02 2014

Col. stats		A	B	C	D	E	F	G	H
		CONT	RES 10	IMI 30	FLU 10	BUP 20	EHPC 25	EHPC 50	EHPC 100
		Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	6	6	6	6	6	6	6	6
2									
3	Minimum	60.00	16.00	18.00	61.00	66.00	47.00	35.00	28.00
4	25% Percentile	61.50	16.75	42.00	63.25	69.75	47.75	37.25	32.50
5	Median	67.50	23.00	62.50	74.50	83.00	52.00	44.50	39.50
6	75% Percentile	79.00	33.75	75.50	88.00	93.00	55.25	52.25	49.00
7	Maximum	79.00	36.00	89.00	100.0	96.00	59.00	65.00	55.00
8									
9	Mean	69.17	24.67	58.83	76.33	81.83	52.00	45.83	40.50
10	Std. Deviation	8.232	8.311	23.89	15.21	11.69	4.382	10.53	9.649
11	Std. Error	3.361	3.393	9.755	6.211	4.771	1.789	4.301	3.939
12									
13	Lower 95% CI of mean	60.53	15.95	33.76	60.37	69.57	47.40	34.78	30.37
14	Upper 95% CI of mean	77.81	33.39	83.91	92.30	94.10	56.60	56.89	50.63
15									
16	Sum	415.0	148.0	353.0	458.0	491.0	312.0	275.0	243.0

Coluna Estatística do Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a latência para primeira convulsão em camundongos submetidos a convulsões induzida por pentilenotetrazol (PTZ).

PTZ.pzf:Col. stats of Data 1 - Tue Nov 05 17:07:55 2013

Col. stats		A	B	C	D
		CONT	DZP 1	EHFPC 50	EHFPC 100
		Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9
2					
3	Minimum	81.00	1800	73.00	91.00
4	25% Percentile	92.50	1800	90.00	98.50
5	Median	97.00	1800	100.0	154.0
6	75% Percentile	122.0	1800	115.5	230.0
7	Maximum	129.0	1800	118.0	236.0
8					
9	Mean	103.6	1800	101.1	161.7
10	Std. Deviation	16.97	0.0	15.56	59.72
11	Std. Error	5.657	0.0	5.187	19.91
12					
13	Lower 95% CI of mean	90.51	1800	89.15	115.8
14	Upper 95% CI of mean	116.6	1800	113.1	207.6
15					
16	Sum	932.0	16200	910.0	1455

Análise ANOVA do Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a latência para primeira convulsão em camundongos submetidos a convulsões induzida por pentilenotetrazol (PTZ).

PTZ.pzf:1way ANOVA of Data 1:Tabular results - Tue Nov 05 17:08:17 2013

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 1			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	P<0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	4			
8	F	6192			
9	R squared	0.9983			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)				
13	P value				
14	P value summary	ns			
15	Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No			
16					
17	ANOVA Table	SS	df	MS	
18	Treatment (between columns)	19020000	3	6342000	
19	Residual (within columns)	32780	32	1024	
20	Total	19060000	35		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	EHFPC 50 vs DZP 1	-1699	159.3	Yes	***
24	EHFPC 50 vs EHFPC 100	-60.56	5.676	Yes	***
25	EHFPC 50 vs CONT	-2.444	0.2291	No	ns
26	CONT vs DZP 1	-1696	159.0	Yes	***
27	CONT vs EHFPC 100	-58.11	5.447	Yes	***
28	EHFPC 100 vs DZP 1	-1638	153.6	Yes	***

Coluna Estatística do Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a latência de morte em camundongos submetidos a convulsões induzida por pentilenotetrazol (PTZ).

PTZ.pzfCol. stats of Data 2 - Tue Nov 05 17:08:30 2013

Col. stats		A	B	C	D
		CONT	DZP 1	EHFPC 50	EHFPC 100
		Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9
2					
3	Minimum	363.0	1800	475.0	733.0
4	25% Percentile	405.5	1800	564.0	909.5
5	Median	458.0	1800	656.0	1339
6	75% Percentile	590.5	1800	1120	1800
7	Maximum	1051	1800	1240	1800
8					
9	Mean	531.0	1800	794.7	1343
10	Std. Deviation	211.3	0.0	291.5	441.8
11	Std. Error	70.43	0.0	97.16	147.3
12					
13	Lower 95% CI of mean	368.6	1800	570.6	1003
14	Upper 95% CI of mean	693.4	1800	1019	1682
15					
16	Sum	4779	16200	7152	12084

Análise ANOVA do Efeito do EHFPC (50 e 100 mg/Kg, i.p.) sobre a latência de morte em camundongos submetidos a convulsões induzida por pentilenotetrazol (PTZ).

PTZ.pzf:1way ANOVA of Data 2:Tabular results - Tue Nov 05 17:10:38 2013

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 2			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	P<0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	4			
8	F	35.65			
9	R squared	0.7697			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)				
13	P value				
14	P value summary	ns			
15	Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No			
16					
17	ANOVA Table	SS	df	MS	
18	Treatment (between columns)	8682000	3	2894000	
19	Residual (within columns)	2598000	32	81190	
20	Total	11280000	35		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	CONT vs DZP 1	-1269	13.36	Yes	***
24	CONT vs EHFPC 100	-811.7	8.546	Yes	***
25	CONT vs EHFPC 50	-263.7	2.776	No	ns
26	EHFPC 50 vs DZP 1	-1005	10.58	Yes	***
27	EHFPC 50 vs EHFPC 100	-548.0	5.770	Yes	***
28	EHFPC 100 vs DZP 1	-457.3	4.815	Yes	**

Coluna Estatística do Efeito do EHFPC (5, 25 e 50 mg/Kg, i.p.) e potencialização (EHFPC 5 + Atropina 0,1 mg/Kg) sobre a latência para primeira convulsão em camundongos submetidos a convulsões induzida por pilocarpina (PILO).

PILO.pzf.Col. stats of Data 1 - Tue Nov 05 17:13:43 2013

Col. stats		A	B	C	D	E	F	G
		CONT	ATR 0,1	ATR 10	EHFPC 5	EHFPC 25	EHFPC 50	ATR0,1+EHFPC5
		Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	6	6	6	6	6	6	6
2								
3	Minimum	482.0	530.0	3600	487.0	420.0	585.0	622.0
4	25% Percentile	558.5	611.8	3600	504.3	431.3	610.5	628.0
5	Median	616.0	683.5	3600	589.5	503.5	765.0	736.0
6	75% Percentile	651.8	804.0	3600	622.8	666.5	940.0	975.0
7	Maximum	657.0	858.0	3600	625.0	668.0	1123	1050
8								
9	Mean	600.8	696.7	3600	570.5	532.7	789.3	787.3
10	Std. Deviation	64.31	115.1	0.0	58.34	112.2	198.2	175.6
11	Std. Error	26.25	46.98	0.0	23.82	45.82	80.90	71.69
12								
13	Lower 95% CI of mean	533.3	575.9	3600	509.3	414.9	581.4	603.1
14	Upper 95% CI of mean	668.3	817.4	3600	631.7	650.5	997.3	971.6
15								
16	Sum	3605	4180	21600	3423	3196	4736	4724

Análise ANOVA do Efeito do EHFPC (5, 25 e 50 mg/Kg, i.p.) e potencialização (EHFPC 5 + Atropina 0,1 mg/Kg) sobre a latência para primeira convulsão em camundongos submetidos a convulsões induzida por pilocarpina (PILO).

PILO.pzf:1way ANOVA of Data 1:Tabular results - Tue Nov 05 17:14:13 2013

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 1			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	P<0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	7			
8	F	504.4			
9	R squared	0.9886			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)				
13	P value				
14	P value summary	ns			
15	Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No			
16					
17	ANOVA Table	SS	df	MS	
18	Treatment (between columns)	44740000	6	7456000	
19	Residual (within columns)	517400	35	14780	
20	Total	45250000	41		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	EHFPC 25 vs ATR 10	-3067	61.80	Yes	***
24	EHFPC 25 vs EHFPC 50	-256.7	5.171	Yes	*
25	EHFPC 25 vs ATR 0,1 + EHFPC 5	-254.7	5.131	Yes	**
26	EHFPC 25 vs ATR 0,1	-164.0	3.304	No	ns
27	EHFPC 25 vs CONT	-68.17	---	No	ns
28	EHFPC 25 vs EHFPC 5	-37.83	---	No	ns
29	EHFPC 5 vs ATR 10	-3030	61.03	Yes	***
30	EHFPC 5 vs EHFPC 50	-218.8	4.409	Yes	*
31	EHFPC 5 vs ATR 0,1 + EHFPC 5	-216.8	4.368	Yes	*
32	EHFPC 5 vs ATR 0,1	-126.2	---	No	ns
33	EHFPC 5 vs CONT	-30.33	---	No	ns
34	CONT vs ATR 10	-2999	60.42	Yes	***
35	CONT vs EHFPC 50	-188.5	3.798	No	ns
36	CONT vs ATR 0,1 + EHFPC 5	-186.5	---	No	ns
37	CONT vs ATR 0,1	-95.83	---	No	ns
38	ATR 0,1 vs ATR 10	-2903	58.49	Yes	***
39	ATR 0,1 vs EHFPC 50	-92.67	---	No	ns
40	ATR 0,1 vs ATR 0,1 + EHFPC 5	-90.67	---	No	ns
41	ATR 0,1 + EHFPC 5 vs ATR 10	-2813	56.67	Yes	***
42	ATR 0,1 + EHFPC 5 vs EHFPC 50	-2.000	---	No	ns
43	EHFPC 50 vs ATR 10	-2811	56.62	Yes	***

Efeito do EHFPC (5, 25 e 50 mg/Kg, i.p.) e potencialização (EHFPC 5 + Atropina 0,1 mg/Kg) sobre a latência de morte em camundongos submetidos a convulsões induzida por pilocarpina (PILO).

PILO.pzf.Col. stats of Data 2 - Tue Nov 05 17:15:34 2013

Col. stats		A	B	C	D	E	F	G
		CONT	ATR 0,1	ATR 10	EHFPC 5	EHFPC 25	EHFPC 50	ATR0,1+EHFPC5
		Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	6	6	6	6	6	6	6
2								
3	Minimum	427.0	833.0	3600	689.0	950.0	1709	3600
4	25% Percentile	608.5	896.8	3600	836.0	1048	3127	3600
5	Median	902.0	974.0	3600	958.5	1944	3600	3600
6	75% Percentile	966.8	1118	3600	1133	3600	3600	3600
7	Maximum	1053	1353	3600	1173	3600	3600	3600
8								
9	Mean	815.2	1015	3600	964.0	2186	3285	3600
10	Std. Deviation	227.6	179.3	0.0	174.0	1266	772.0	0.0
11	Std. Error	92.90	73.21	0.0	71.03	516.7	315.2	0.0
12								
13	Lower 95% CI of mean	576.4	827.0	3600	781.4	858.1	2475	3600
14	Upper 95% CI of mean	1054	1203	3600	1147	3515	4095	3600
15								
16	Sum	4891	6091	21600	5784	13118	19709	21600

Análise ANOVA do Efeito do EHFPC (5, 25 e 50 mg/Kg, i.p.) e potencialização (EHFPC 5 + Atropina 0,1 mg/Kg) sobre a latência de morte em camundongos submetidos a convulsões induzida por pilocarpina (PILO).

PILO.pzf:1way ANOVA of Data 2:Tabular results - Tue Nov 05 17:15:38 2013

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 2			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	P<0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	7			
8	F	30.11			
9	R squared	0.8377			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)				
13	P value				
14	P value summary	ns			
15	Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No			
16					
17	ANOVA Table	SS	df	MS	
18	Treatment (between columns)	59670000	6	9946000	
19	Residual (within columns)	11560000	35	330300	
20	Total	71240000	41		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	CONT vs ATR 0,1 + EHFPC 5	-2785	11.87	Yes	***
24	CONT vs ATR 10	-2785	11.87	Yes	***
25	CONT vs EHFPC 50	-2470	10.53	Yes	***
26	CONT vs EHFPC 25	-1371	5.844	Yes	**
27	CONT vs ATR 0,1	-200.0	0.8524	No	ns
28	CONT vs EHFPC 5	-148.8	---	No	ns
29	EHFPC 5 vs ATR 0,1 + EHFPC 5	-2636	11.23	Yes	***
30	EHFPC 5 vs ATR 10	-2636	11.23	Yes	***
31	EHFPC 5 vs EHFPC 50	-2321	9.892	Yes	***
32	EHFPC 5 vs EHFPC 25	-1222	5.210	Yes	**
33	EHFPC 5 vs ATR 0,1	-51.17	---	No	ns
34	ATR 0,1 vs ATR 0,1 + EHFPC 5	-2585	11.02	Yes	***
35	ATR 0,1 vs ATR 10	-2585	11.02	Yes	***
36	ATR 0,1 vs EHFPC 50	-2270	9.673	Yes	***
37	ATR 0,1 vs EHFPC 25	-1171	4.992	Yes	**
38	EHFPC 25 vs ATR 0,1 + EHFPC 5	-1414	6.025	Yes	***
39	EHFPC 25 vs ATR 10	-1414	6.025	Yes	***
40	EHFPC 25 vs EHFPC 50	-1099	4.682	Yes	**
41	EHFPC 50 vs ATR 0,1 + EHFPC 5	-315.2	1.343	No	ns
42	EHFPC 50 vs ATR 10	-315.2	---	No	ns
43	ATR 10 vs ATR 0,1 + EHFPC 5	0.0000	---	No	ns

Coluna Estatística e análise do Teste 't' do Efeito do pré-tratamento do EHFPC (100 mg/Kg, i.p.) sobre a concentração de monoaminas (Dopamina) e metabólitos em corpo estriado de camundongos.

EHPC-CLAE.pzf.Col. stats of Data 1 - Tue Nov 05 11:00:45 2013

Col. stats		A	B
		CONT	EHPC 100
		Y	Y
1	Number of values	4	4
2			
3	Minimum	2778	3264
4	25% Percentile	2840	3573
5	Median	3214	5359
6	75% Percentile	3424	6324
7	Maximum	3431	6359
8			
9	Mean	3159	5085
10	Std. Deviation	314.7	1479
11	Std. Error	157.3	739.6
12			
13	Lower 95% CI of mean	2659	2732
14	Upper 95% CI of mean	3660	7439
15			
16	Sum	12638	20342

EHPC-CLAE.pzf.t test of Data 1 - Tue Nov 05 11:01:07 2013

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column A	CONT
3	vs	vs
4	Column B	EHPC 100
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0437
8	P value summary	*
9	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes
10	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
11	t, df	t=2.547 df=6
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column A	3159 ± 157.3 N=4
15	Mean ± SEM of column B	5085 ± 739.6 N=4
16	Difference between means	-1926 ± 756.1
17	95% confidence interval	-3776 to -75.76
18	R squared	0.5195
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	22.09, 3, 3
22	P value	0.0302
23	P value summary	*
24	Are variances significantly different?	Yes

Coluna Estatística e análise do Teste 't' do Efeito do pré-tratamento do EHFPC (100 mg/Kg, i.p.) sobre a concentração de monoaminas e metabólitos (Dopac) em corpo estriado de camundongos.

EHPC-CLAE.pzf:Col. stats of Data 2 - Tue Nov 05 11:01:24 2013

Col. stats		A	B
		CONT	EHPC 100
		Y	Y
1	Number of values	4	4
2			
3	Minimum	1328	990.6
4	25% Percentile	1414	1003
5	Median	1749	1045
6	75% Percentile	1855	1461
7	Maximum	1864	1598
8			
9	Mean	1673	1170
10	Std. Deviation	244.5	286.6
11	Std. Error	122.2	143.3
12			
13	Lower 95% CI of mean	1284	713.7
14	Upper 95% CI of mean	2062	1626
15			
16	Sum	6691	4679

EHPC-CLAE.pzf:t test of Data 2 - Tue Nov 05 11:01:46 2013

t test		
1	Table Analyzed	Data 2
2	Column A	CONT
3	vs	vs
4	Column B	EHPC 100
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0370
8	P value summary	*
9	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes
10	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
11	t, df	t=2.670 df=6
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column A	1673 ± 122.2 N=4
15	Mean ± SEM of column B	1170 ± 143.3 N=4
16	Difference between means	503.0 ± 188.4
17	95% confidence interval	41.99 to 963.9
18	R squared	0.5430
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	1.374, 3, 3
22	P value	0.8001
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Coluna Estatística e análise do Teste 't' do Efeito do pré-tratamento do EHFPC (100 mg/Kg, i.p.) sobre a concentração de monoaminas (Noradrenalina) e metabólitos em corpo estriado de camundongos.

EHPC-CLAE.pzf.Col. stats of Data 3 - Tue Nov 05 11:02:17 2013

Col. stats		A	B
		CONT	EHPC 100
		Y	Y
1	Number of values	4	4
2			
3	Minimum	2471	5067
4	25% Percentile	2546	5101
5	Median	2971	5633
6	75% Percentile	3219	6759
7	Maximum	3235	6991
8			
9	Mean	2912	5831
10	Std. Deviation	358.6	890.1
11	Std. Error	179.3	445.0
12			
13	Lower 95% CI of mean	2341	4415
14	Upper 95% CI of mean	3482	7247
15			
16	Sum	11647	23323

EHPC-CLAE.pzf.t test of Data 3 - Tue Nov 05 11:02:32 2013

t test		
1	Table Analyzed	Data 3
2	Column A	CONT
3	vs	vs
4	Column B	EHPC 100
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0009
8	P value summary	***
9	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes
10	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
11	t, df	t=6.084 df=6
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column A	2912 ± 179.3 N=4
15	Mean ± SEM of column B	5831 ± 445.0 N=4
16	Difference between means	-2919 ± 479.8
17	95% confidence interval	-4093 to -1745
18	R squared	0.8605
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	6.160, 3, 3
22	P value	0.1696
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No