



UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI-URCA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA - DQB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOPROSPECÇÃO
MOLECULAR

CARACTERIZAÇÃO DO EFEITO DEPRESSOR CENTRAL DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper tuberculatum* Jacq. EM
CAMUNDONGOS

VALTERLÚCIO DOS SANTOS SALES

CRATO – CE
2015

VALTERLÚCIO DOS SANTOS SALES

**CARACTERIZAÇÃO DO EFEITO DEPRESSOR CENTRAL DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper tuberculatum* Jacq. EM
CAMUNDONGOS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri- URCA, como requisito de 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

Co-orientador: Prof. Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe

**CRATO – CE
2015**

Sales, Valterlúcio dos Santos
S163c Caracterização do efeito depressor central do óleo essencial de
Piper tuberculatum Jacq. em camundongos/ Valterlúcio dos Santos
Sales – Crato-CE, 2015
196p.; Il.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do
Cariri- URCA. Área de Concentração: Bioprospecção de Produtos
Naturais; Linha de Pesquisa: Farmacologia de Produtos Naturais.
Orientadora: Profa. Dra. Marta Regina Kerntopf

1. *Piper tuberculatum* Jacq, α -pineno; 2. β -pineno;
3. Ansiedade; 4. Convulsão sedação e sistema GABAérgico.

CDD: 632.9

VALTERLÚCIO DOS SANTOS SALES

**CARACTERIZAÇÃO DO EFEITO DEPRESSOR CENTRAL DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper tuberculatum* Jacq. EM
CAMUNDONGOS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri- URCA, como requisito de obtenção do título de Mestre em Bioprospecção Molecular. Área de Concentração: Bioprospecção de Produtos Naturais; Linha de Pesquisa: Farmacologia de Produtos Naturais.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Marta Regina Kerntopf Mendonça – 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.

Dedico este trabalho aos meus dois grandes heróis: meus pais, **Maria Verônica dos Santos Sales** e **José Melquiades de Sales**. Foi através dos seus esforços sem medida que me propiciaram uma oportunidade de seguir meus estudos. Cada um, com seu jeito particular de agir, me deu uma lição. Mostrou-me que devo ser leal, batalhador, estudioso, honesto e paciente.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Este trabalho é resultado de muita dedicação e fé, foram etapas para transpor, mas o meu DEUS permaneceu; como sempre, junto a mim. Agradeço primeiramente a ELE, que me deu forças e sabedoria nesta grande caminhada. Sem a benção do Pai Celestial tudo seria em vão. Para tua glória, Senhor. Obrigado!

A meus pais, **José Melquiades** e **Maria Verônica**, por todo o zelo e atenção. E aos meus irmãos, **Valéria Sales** e **Caio Vinícius**, por sempre acreditarem em mim.

A minha avó **Josefa Sales**, que com todo o seu carinho e ajuda dada a mim, foi essencial para o meu crescimento.

A toda minha família, que foi um dos pilares para que essa jornada fosse concluída,

Ao meu **AMOR, Emmilly Petícia do Nascimento**. Durante o trabalho de Pós graduação com toda aquela correria, fazer experimento, analisar dados, discutir resultados, ler e escrever artigos, DEUS me presenteou com uma mulher maravilhosa. ELE tinha um propósito para mim, e eu acreditava na sua promessa em minha vida. E agradeço a ELE por te cruzado nossos caminhos. Você está sempre ali, e como as coisas acontecem no momento certo, você chegou para me amar, ajudar, compartilhar alegrias, vencer nas adversidades. E que nossa linda história seja sempre assim, abençoada, preenchida por sinceridade, companheirismo e amizade. Obrigado amor, por acreditar em mim e incentivar sempre. Amo-te!

A minha amiga **Cristina Kelly**, que foi uma grande companheira no trabalho. Crescemos juntos dentro do laboratório e sempre buscamos apoio um do outro. És como uma irmã para mim.

A minha grande amiga **Daniele Oliveira**, fico quase sem palavras de como agradecer. Foi você que me acolheu quando cheguei ao laboratório e com toda a sua bondade foi me ensinando os procedimentos. Obrigado.

Aos meus amigos, **Francisco Rodolpho**. Realizamos nossos trabalhos em parceria. “Valeu camarada”

A minha amiga, **Larissa Rolim**, pelas palavras de incentivo.

Aos amigos **Luiz Jardelino de Lacerda Neto** e **Andreza Guedes Barbosa Ramos**,
pelo incentivo e apoio para todas as horas. Serei sempre grato.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora **Dra. Marta Regina Kerntopf**, que tem sido uma segunda mãe para mim. Lembro-me do seu convite para fazer parte da equipe do Laboratório. Foi ali, naquele momento, que minha vida tomou outro rumo. Reforçou minha paixão pela Ciência e pela Farmacologia. A professora; desde então vem ensinando-me lições que serviram para meu bom desempenho na academia, incentivando a importância do trabalho construído à base de esforço e honestidade. Sem os seus ensinamentos e esforços para suprir todas as necessidades deste trabalho, creio que não seria possível a sua conclusão. Obrigado pela grandiosa orientação!

Ao meu nobre e bom co-orientador, **Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe**, o qual, juntamente com minha orientadora trabalhou incansavelmente para a elaboração deste trabalho. A parceria dos professores foi de suma importância para a realização deste trabalho. Tenho aprendido que a união entre esforço, sonhos e vontade de um grupo modifica tudo e todos evoluem. Obrigado pela disponibilidade e gentileza.

Ao professor **Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes**, pela sua grande colaboração nesta pesquisa e disponibilidade para auxiliar sempre que foi preciso! Muito obrigado.

Ao Prof. Dr. **José Galberto Martins da Costa** e **todos** que fazem parte do Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais – **LPPN** pela colaboração;

Ao Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM) coordenado pelo professor **Dr. Henrique Douglas**, pela realização dos testes microbiológicos.

Ao Prof. Dr. **Francisco Romero Cabral**, pela gentileza e atenção de participar da banca avaliadora deste trabalho.

A Profa. Dra. **Roseli Barbosa**, por aceitar gentilmente em fazer parte da banca avaliadora.

Aos **professores** do Programa de Pós-graduação em Bioprospecção Molecular, pelos conhecimentos disponibilizados.

Aos amigos, **Álefe Brito, Érika Amaro, Luzia Paulo, Gyliandson Delmondes, Tatiele Carvalho, Haielly Costa, Maria Rayane, Andressa Alencar**, que colocaram a

mão na massa e estando a disposição para ajudar na realização dos protocolos. Vocês também fazem parte dessa vitória.

À **Universidade Regional do Cariri – URCA** e a **todos** que direta ou indiretamente contribuíram na realização deste trabalho.

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

Agora estou prestes a ir pelo caminho de toda a terra. Vocês sabem, lá no fundo do coração e da alma, que nenhuma das boas promessas que o Senhor, o seu Deus, lhes fez deixou de cumprir-se. Todas se cumpriram; nenhuma delas falhou.

Josué 23:14

SUMÁRIO

Lista de figuras	
Lista de tabelas	
Lista de abreviaturas, siglas e símbolos	
Resumo	
Abstract	
1. INTRODUÇÃO	18
2. REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1. Família Piperaceae	22
2.2. Gênero <i>Piper</i> : aspectos botânicos, químicos e farmacológicos	23
2.3. Espécie <i>Piper tuberculatum</i> : aspectos botânicos, químicos e farmacológicos	36
3. OBJETIVOS	40
3.1. Objetivo Geral	40
3.2. Objetivo Específico	40
4. METODOLOGIA	41
4.1 MATERIAIS	41
4.1.1 Material vegetal e Identificação do Espécime Botânico	41
4.1.2 Drogas e Reagentes	43
4.1.3 Animais e Aspectos éticos da pesquisa	43
4.2 MÉTODOS	44
4.2.1 Obtenção do óleo essencial de <i>Piper tuberculatum</i> Jacq.	44
4.2.2 Análise química do óleo essencial	45
4.2.3 Protocolo experimental	46
4.2.3.1. Teste hipocrático e determinação da dose letal mediana (DL50)	47
4.2.3.2. Avaliação da atividade ansiolítica, sedativa e coordenação motora	48
4.2.3.3. Avaliação da atividade anticonvulsivante	54
4.2.3.4. Avaliação da atividade sedativa-hipnótica	55
4.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA	58
5. RESULTADOS	59
5.1 Análise da composição química do OEPT	59
5.2 Efeitos do OEPT na triagem farmacológica comportamental e DL50	60
5.3 Testes comportamentais	62
5.3.1 Campo aberto	62
5.3.2 Labirinto em Cruz Elevado	66
5.3.3 Rota Rod	70
5.3.4 Convulsões induzidas por Pentilenotetrazol	70
5.3.5 Tempo de sono induzido com Pentobarbital	73
5.3.6 Tempo de sono com éter etílico	75
6. DISCUSSÃO	76
7. CONCLUSÕES	88
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	89
9. REFERÊNCIAS	90
ANEXOS	
APÊNDICES	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Sistema límbico	19
Figura 2	Distribuição geográfica das espécies do gênero <i>Piper</i> no mundo	23
Figura 3	Arbusto da <i>Piper tuberculatum</i> Jacq. com folhas e frutos.	37
Figura 4	Localização geográfica do Sítio Arajara, Barbalha-Ce	41
Figura 5	Exsicata da <i>Piper tuberculatum</i> Jacq.	42
Figura 6	Fluxograma do método de extração do óleo essencial dos frutos de <i>Piper tuberculatum</i>	45
Figura 7	Fluxograma dos testes comportamentais para avaliação do efeito do OEPT	47
Figura 8	Campo aberto	50
Figura 9	Labirinto em cruz elevado	52
Figura 10	<i>Rota Rod</i>	53
Figura 11	Telha para avaliar a atividade hipnótico-sedativa	56
Figura 12	Efeito do OEPT (25, 50, 100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre o número de cruzamentos (NC) dos camundongos submetidos ao teste do campo aberto.	62
Figura 13	Efeito do OEPT (25, 50, 100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre o número de <i>grooming</i> e <i>rearing</i> (NG e NR) dos camundongos submetidos ao teste do campo aberto	63
Figura 14	Investigação do mecanismo de ação do OEPT (Óleo essencial de <i>Piper tuberculatum</i> Jacq.), com a dose de 100 mg/kg, sobre o número de cruzamentos (NC) dos camundongos submetidos ao teste do campo aberto	64
Figura 15	Investigação do mecanismo de ação do OEPT (Óleo essencial de <i>Piper tuberculatum</i> Jacq.), com a dose de 100 mg/kg, sobre o número de <i>grooming</i> e <i>rearing</i> (NG e NR) dos camundongos submetidos ao teste do campo aberto	65
Figura 16	Efeito do OEPT (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre número de entradas dos camundongos nos braços abertos e fechados (NEBA e NEBF) do labirinto em cruz elevado	66
Figura 17	Efeito do OEPT (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) tempo de	67

permanência dos camundongos nos braços abertos e fechados (TPBA e TPBF)

- Figura 18** Investigação do mecanismo de ação do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.), com a dose de 100 mg/kg, sobre o número de entradas dos camundongos nos braços abertos e fechados (NEBA e NEBF) do labirinto em cruz elevado 68
- Figura 19** Investigação do mecanismo de ação do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.), com a dose de 100 mg/kg, sobre o tempo de permanência dos camundongos nos braços abertos e fechados (TPBA e TPBF) do labirinto em cruz elevado 69
- Figura 20** Efeito do OEPT (100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre a latência da primeira convulsão e latência para a morte dos camundongos tratados com pentilenotetrazol (PTZ). 71
- Figura 21** Investigação do mecanismo de ação do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) na dose de 400 mg/kg, i.p.) sobre a latência da primeira convulsão e latência para a morte no teste de convulsões induzida com pentilenotetrazol (PTZ). 72
- Figura 22** Efeito do OEPT (100, 200 e 400mg/kg, i.p.) sobre a latência para o sono e duração do sono no teste de potencialização do sono com Pentobarbital sódico 73
- Figura 23** Investigação do mecanismo de ação do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) na dose de 400 mg/kg, i.p.), sobre a latência do sono e duração do sono no teste de potencialização do sono com Pentobarbital (PTB). 74
- Figura 24** Efeito do OEPT (100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre a latência da perda do reflexo postural e na duração do sono induzido por éter. 75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classificação botânica da <i>Piper tuberculatum</i> Jacq.	36
Tabela 2	Grupos experimentais para avaliação da atividade ansiolítica, sedativa e o mecanismo de ação do óleo essencial da <i>Piper tuberculatum</i> Jacq., no teste do CA	49
Tabela 3	Grupos experimentais para avaliação da atividade ansiolítica e o mecanismo de ação do óleo essencial de <i>Piper tuberculatum</i> Jacq. no teste do LCE	51
Tabela 4	Grupos experimentais para avaliação da atividade ansiolítica no teste do <i>Rota Rod</i>	53
Tabela 5	Grupos experimentais para avaliação da atividade anticonvulsivante e o mecanismo de ação do óleo essencial da <i>Piper tuberculatum</i> Jacq., no teste de convulsões induzidas por Pentilenotetrazol	54
Tabela 6	Grupos experimentais para avaliação da atividade sedativo-hipnótica e o mecanismo de ação do óleo essencial da <i>Piper tuberculatum</i> Jacq., no teste de potencialização do tempo de sono induzido por pentobarbital	55
Tabela 7	Grupos experimentais para avaliação da atividade sedativo-hipnótica no teste de sono induzido com Éter etílico.	57
Tabela 8	Composição química do óleo essencial dos frutos de <i>Piper tuberculatum</i>	59
Tabela 9	Alterações observadas no teste hipocrático	61
Tabela 10	Efeito do OEPT (Óleo essencial de <i>Piper tuberculatum</i> Jacq.) nas doses de (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o tempo de permanência e número de quedas dos camundongos na barra giratória.	70

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Espécies do gênero <i>Piper</i> com atividades farmacológicas no sistema nervoso central	29
Quadro 2	Drogas e reagentes utilizados	43
Quadro 3	Estrutura molecular do α – pineno e do β – pineno.	60

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ANOVA	Análise de variância
CA	Campo aberto
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
DS	Duração do Sono
DZP	Diazepam
EPM	Erro padrão da média
GABA	Ácido gama aminobutírico
GABA_A	Receptor do ácido gama-aminobutírico do tipo A
GABA_B	Receptor do ácido gama-aminobutírico do tipo B
I. P.	Intraperitoneal
LS	Latência de sono
NC	Número de cruzamentos
NEBA	Número de entradas nos braços abertos
NEBF	Número de entradas nos braços fechados
NG	Número de <i>grooming</i>
NR	Número de <i>rearing</i>
PTB	Pentobarbital sódico
PTZ	Pentilenotetrazol
TPBA	Tempo de permanência nos braços abertos
TPBF	Tempo de permanência nos braços fechados
TS	Tempo de sono
AINES	Antiinflamatório não Esteroidais

RESUMO

Piper tuberculatum Jacq. é uma espécie da família Piperaceae conhecida popularmente no nordeste como “pimenta de macaco”, onde é utilizada na culinária e na medicina popular para tratar problemas estomacais, como sedativo e antídoto contra picada de cobras. Este trabalho teve os objetivos de identificar a composição química do óleo essencial dos frutos da *Piper tuberculatum* (OEPT), a toxicidade e os possíveis efeitos centrais da administração aguda do OEPT em camundongos, utilizando modelos experimentais que avaliem os seguintes efeitos: ansiolítico, sedativo, miorelaxante, anticonvulsivante e hipnótico. Na análise química foi encontrada presença de sesquiterpenos e monoterpenos, sendo o α -pineno (26,54%) e o β -pineno (27,74%), os constituintes majoritários. Quanto ao estudo toxicológico, o OEPT apresentou toxicidade moderada, caracterizada por piloereção, ambulação reduzida e sedação, com DL_{50} de 5000 mg/kg, via intraperitoneal. No teste do campo aberto foi detectado um efeito sedativo, caracterizado pela redução do número de cruzamentos em 22,3%, *grooming* em 40,9% e *rearing* em 45,4%, em relação ao controle, sendo a dose efetiva de 50 mg/kg. No labirinto em cruz elevado, os resultados também indicaram efeito ansiolítico, uma vez que o OEPT aumentou o número de entradas em 76,9% e o tempo de permanência em 114,7%, dos animais tratados nos braços abertos do aparelho, de maneira semelhante ao diazepam, sendo também a dose efetiva de 50 mg/kg. Apesar desses resultados, não houve qualquer alteração na coordenação motora dos animais tratados com o OEPT e submetidos ao teste do *rota rod*. Os efeitos sedativo e ansiolítico foram parcialmente revertidos pela administração do flumazenil, um antagonista GABAérgico. O OEPT também apresentou efeitos anticonvulsivante (neuroprotetor) no teste das convulsões induzidas por pentilenotetrazol, aumentando a latência para 1ª convulsão em 94% e latência para morte em 193,7%, sendo a dose efetiva, neste teste, de 200 mg/kg. Este efeito, também foi parcialmente revertido na presença do flumazenil. A atividade hipnótica do OEPT também foi observada no teste de potencialização no tempo de sono induzido por pentobarbital; onde a dose efetiva foi de 400 mg/kg, havendo redução da latência para o sono em 54,1% e aumento na duração do sono em 47,3%. De forma semelhante, a associação do flumazenil neste teste também reverteu os efeitos anteriormente citados. Tomados em conjunto, os resultados obtidos mostraram que o OEPT apresenta importante efeito depressor central o qual parece ser decorrente da possível interação de seus componentes majoritários com o sistema GABAérgico, o que pode justificar em parte, a utilização de seus frutos para o tratamento de algumas desordens do sistema nervoso central por parte da população.

Palavras-chaves: *Piper tuberculatum* Jacq, α -pineno, β -pineno, ansiedade, convulsão sedação e sistema GABAérgico.

ABSTRACT

Piper tuberculatum Jacq. (Piperaceae) is a species popularly known in the northeast as "pimento de macaco", where it is used in cooking and in folk medicine to treat stomach problems such as sedative and bite antidote snakes. This study had the objective of identifying the chemical composition of the essential oil of the fruits of *Piper tuberculatum* (OEPT), the toxicity and the central effects of the acute administration of OEPT in mice, using experimental models that evaluate the following effects: anxiolytic, sedative, muscle relaxant, anticonvulsant and hypnotic. The chemical analysis showed the presence of monoterpenes and sesquiterpenes, and α -pinene (26.54%) and β -pinene (27.74%), were the major constituent. As regard the toxicology study, the essential oil showed moderate toxicity, characterized by piloerection, sedation and decreased ambulation and the DL_{50} was 5000 mg/kg when administered intraperitoneally. In the open field test it was observed a sedative effect, characterized by reducing the number of crossings (22.3%), grooming (40.9%) and rearing (45.4%) compared to control, with an effective dose of 50 mg/kg. In the elevated plus-maze, the results also indicated an anxiolytic-like effect, since the OEPT increased the number of entries (76.9%) and the time spent (114.7%) in open arms of the apparatus, in a similar way to diazepam, also with an effective dose of 50 mg/kg. Despite of these results, there was no change in the coordination of the animals treated with the OEPT and submitted to the test of route rod. The sedative and anxiolytic effects were partially reversed by administration of flumazenil a GABAergic antagonist. The OEPT also showed anticonvulsant effects (neuroprotective) testing of the seizures induced by pentylenetetrazol, increasing the latency to 1^a convulsion (94%) and latency to death (193.7%), with an effective dose of 200 mg/kg. This effect, however, was also partially reversed in the presence of flumazenil. The OEPT hypnotic activity was also observed in the potentiation test in the sleeping time induced by pentobarbitalin, where the effective dose was 400 mg / kg, with a reduction of sleep latency (54.1%) and increased sleep duration (47.3%). A similar way the association of flumazenil in this test also reversed the effect previously mentioned. As a whole, the results showed that the OEPT has important central depressant effect which seems to be due to the possible interaction of its major components with the GABAergic system, which may explain in part their use for the treatment of certain disorders of the central nervous system by the population.

Keywords: *Piper tuberculatum* Jacq., α pinene, β pinene, anxiety, seizures, sedation and GABAergic system.

1. Introdução

A emoção é um sentimento que faz parte da condição humana que deve ser regulada frente aos eventos aversivos, a fim de assegurar bem estar mental e físico (Ochsner et al., 2002). Apesar do pouco entendimento sobre as bases neurais das emoções, alguns estudos com foco neste assunto possibilitaram a compreensão de alguns transtornos mentais (Mocaiber et al., 2008). Este é o caso da ansiedade, definida como uma sensação complexa e desagradável, caracterizada por emoções fortes promovidas por situações que representam perigo, embasado na reação de luta e fuga, e dependendo do grau de manifestação, deixa de ser uma condição adaptativa tornando-se uma desordem psiquiátrica (Stahl, 2010).

Este termo foi descrito na antiguidade, em relatos sobre os estados ansiosos na obra clássica escrita no século VIII a. C., *Ilíada*, do renomado poeta Homero, na qual o medo e a ansiedade decorrem de fatores externos relacionados a fenômenos sobrenaturais, como a visitação de deuses ou até mesmo possessão dos corpos por espíritos malignos (Nardi, 2006).

Estima-se que 13,6 a 28,8% da população mundial sofrem com este distúrbio, um valor preocupante, que reflete o impacto negativo para a saúde (Pasquini & Berardelli, 2009). Tal situação exige que os profissionais que lidam com a doença estejam qualificados e atentos para a eficácia do tratamento, acarretando altos custos aos cofres públicos (Balestrieri et al., 2008).

O Manual de Diagnóstico e Estatística das Doenças Mentais classifica esse transtorno em 8 tipos: transtorno da ansiedade da separação, transtorno do pânico, agorafobia, fobia específica, transtorno de ansiedade social (fobia social), transtorno de ansiedade generalizada, transtorno de ansiedade induzida por substância e o transtorno de ansiedade associada a condição médica (APA, 2013).

As alterações emocionais que os pacientes apresentam refletem diretamente no seu comportamento, trazendo modificações caracterizadas pelos sintomas físicos, decorrentes da ativação do sistema nervoso simpático: tremor, midríase, sudorese, sintomas gastrintestinais, distúrbios urinários e hiperventilação (Kandel, Schwartz, Jessell, 2000).

De acordo com a neurobiologia, várias estruturas cerebrais estão relacionadas com o estresse, medo e ansiedade. É o caso do sistema septo-hipocampal e da amígdala, responsáveis por receber as informações exteriores e interpretá-las (Margis et al., 2003). As estruturas envolvidas no controle emocional, cognitivo e da memória, estabelecem uma interligação com os seus neurotransmissores, desencadeando respostas fisiológicas que

conectam o organismo ao meio (sistema nervoso somático) e à inervação de estruturas viscerais (sistema nervoso autônomo) (Lanotte et al., 2005).

A amígdala e o hipocampo representados na figura 1 são as principais áreas dos circuitos neurais que explicam a ansiedade (Rosen & Schulkin, 1998). O papel da amígdala consiste em detectar, promover e fazer a manutenção das emoções relacionadas ao medo, sendo ainda responsável pela coordenação das respostas à ameaça e situações que caracterizem perigo (Phan, 2002; De Gelder, 2004; Höistad & Barbas, 2008). Foi verificado que lesões nas amígdalas bloqueiam as reações para os estímulos condicionados e incondicionados (Brandão et al., 2003), ocorrendo redução das emoções e da capacidade em reconhecer o medo. Todavia, observa-se um estado de vigilância quando a mesma é estimulada, levando ao medo e ansiedade (Graham et al., 2006), em decorrência de alterações nos circuitos a ela ligados (Brandão, 2008). Essas modificações têm origem neuroquímica e estão relacionadas a um estado de excessiva estimulação do SNC e/ou inibição do sistema GABAérgico (Carlini & Mendes, 2011).

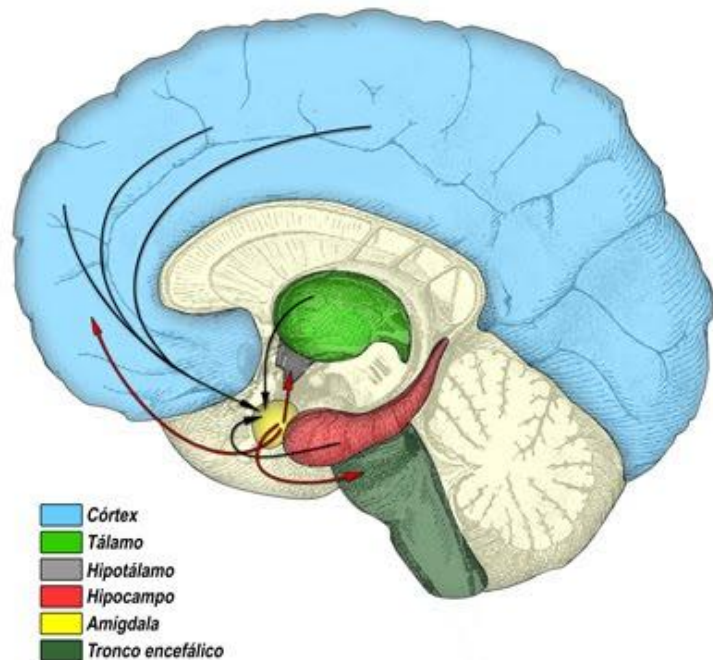


Figura 1: sistema límbico

Fonte: http://www.inec-usp.org/cursos/cursoiii/circuitaria_neuronal_ansiedade.html

No tocante ao manejo das desordens de ansiedade, foram desenvolvidos métodos eficazes que podem ser implementados conjuntamente ou isolados em seu tratamento, como a farmacoterapia e a psicoterapia (Martin et al., 2007). Os primeiros fármacos utilizados no tratamento dessas desordens foram os barbitúricos, que apesar da eficácia, possuem toxicidade elevada, o que ocasionou no seu desuso com o passar do tempo. A descoberta dos benzodiazepínicos marcou o curso da história do tratamento da ansiedade e na compreensão do envolvimento e funcionamento do mecanismo GABAérgico (Dinan, 2006), firmando-se como a principal classe de fármacos utilizada, dotada de rápido efeito e boa afinidade para o receptor GABA_A, potencializando a ação do sistema GABAérgico, principal sistema de inibição do sistema nervoso central (Flight, 2010).

Mesmo assim, durante o tratamento com os benzodiazepínicos, podem surgir efeitos colaterais, caracterizados por: risco de dependência, depressão das funções do SNC, efeitos amnésicos e depressão aditiva do SNC em associação com outras substâncias (Katzung et al., 2014). Além disso, em casos de suspensão abrupta da medicação há o risco do desenvolvimento da síndrome de privação, que consiste na perda de apetite, irritabilidade, confusão e cefaleias (Nicolini et al., 2009).

Outro grupo de fármacos empregados na terapia da ansiedade são os antidepressivos, como a buspirona, que tem vantagens em relação aos benzodiazepínicos, por não provocar síndrome de privação e efeito sedativo (Tyrer & Baldwin, 2006). A imipramina, da classe dos inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina, também apresenta eficácia (Stewart et al., 2010). Além disso, alguns inibidores seletivos da recaptação de serotonina tiveram sua eficácia comprovada, como, citalopram, escitalopram, fluoxetina, fluvoxamina, paroxetina e sertralina (Baldwin et al., 2011).

A escolha do medicamento está atrelada a algumas condições do paciente. Primeiramente, deve ser investigado o histórico clínico, com ênfase nos tratamentos anteriores e se há presença de outros distúrbios. Outro aspecto a ser considerado é em relação às preferências do paciente e o seu acesso aos serviços de saúde. A partir dessas informações, a próxima etapa é orientar quanto ao que se espera do uso do fármaco, especialmente sobre o tempo de tratamento e os cuidados durante este período (Tyrer & Baldwin, 2006).

Outra opção de tratamento é a psicoterapia, técnica utilizada para direcionar o paciente para a realidade, reduzindo as alterações comportamentais (Stewart & Chambless, 2009). A psico-educação, a monitorização dos sintomas, a reestruturação cognitiva e a exposição ao estímulo causador da ansiedade, são alguns exemplos, este último tem a finalidade de fazer o

contato do paciente com a situação que seja ameaçadora, de forma que o mesmo possa desenvolver uma adaptação e evitar possíveis recaídas (Arch & Craske, 2009).

Apesar destas intervenções, o número de pacientes que apresentam algum grau de resistência à medicação ainda é elevado (Menezes et al., 2007). Com isto, é necessário que novas condutas sejam planejadas e implementadas, proporcionando maior adesão e melhora da resposta diante do tratamento ao qual esteja submetido (Bystritsky, 2006).

Diante desta problemática, há interesse quanto à obtenção de novas drogas para o tratamento dos transtornos de ansiedade, com uma melhor segurança e maior eficácia, e boas perspectivas quanto a medidas alternativas de tratamento, com ênfase no desenvolvimento de estudos neurofarmacológicos, visando identificar compostos com ação tipo ansiolítica, esclarecendo o seu mecanismo de ação (Costa et al., 2014).

Com base nisso, o potencial terapêutico de muitas plantas foi descoberto, tornando-as assim um produto fitoterápico, utilizado no tratamento da ansiedade. Entre as plantas estudadas, a *Piper methysticum* (kava), tem sido destaque, seguida da *Ginkgo biloba*, *Matriarca recutita* (camomila), *Passiflora incarnata* e a *Galphimia glauca* e a *Valeriana officinalis* (Faustino et al., 2010).

Portanto, é essencial o desenvolvimento de estudos que avaliem plantas ou seus derivados, quanto ao seu possível efeito tipo ansiolítico. Para isso, os modelos animais têm sido úteis, visto que os testes que induzem ansiedade ou emoções em humanos são mais caros, menos práticos e são limitados por questões éticas (Graeff & Hetem, 2004). Embora sofram as restrições inerentes ao fato de não se poderem reproduzir fidedignamente neles as características dos transtornos humanos, estes modelos são responsáveis, em grande parte, pelo que se sabe atualmente sobre as ações dos psicofármacos em diversas etapas dos processos de transmissão sináptica. (Gorenstein & Scavone, 1999).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Família Piperaceae

A família Piperaceae pertence à superordem Nymphaeiflorae e a ordem Piperales, constituída por 14 gêneros (Santos et al., 2001). Esta família abrange uma variedade de espécies com importância econômica, utilizadas em ornamentações, na culinária e medicina. No último caso, essa família é utilizada de diversas formas, como banhos aromáticos, chás e infusões. As partes vegetais mais empregadas são caules, frutos, folhas e raízes (Guimarães & Giordano, 2004).

Em se tratando das suas características botânicas, as plantas dessa família podem ter porte arbustivo, herbáceo ou arbóreo, chegando até a altura de 3 metros. O caule assume um formato articulado e nodoso, suas folhas são: inteiras, dorsiventrals, alternas, raramente opostas ou verticiladas, pecíolas com estípulas (Hutchinson, 1973).

A dispersão desta família se dá pela polinização das sementes por espécies de morcegos, que ao se alimentarem dos frutos liberam suas excretas, disseminando-as por diversas regiões (Bizerril et al., 1998), ou com ação dos ventos e de pequenos insetos, denominada, respectivamente, anemofilia e entomofilia, ocorrendo especialmente no sudeste brasileiro (Figueiredo & Sazima, 2000).

No nordeste do país, quatro gêneros estão presentes: *ottonia*, *peperomia*, *piper* e *pothomorphe*. Regionalmente, várias espécies são distribuídas no estado do Ceará, com predominância na região sul, principalmente nas encostas da Chapada do Araripe, no topo do planalto e da Serra Grande, tendo preferência pelas serras úmidas (superfícies de relevo residuais cristalinos e proeminentes), de elevado índice pluviométrico e solos profundos. Uma característica marcante, é o endemismo da espécie *Piper rufipilum* Yunck no estado do Ceará, encontrada apenas nas florestas úmidas da Chapada do Araripe, e a presença da *Peperomia lanceolato-peltata* C.DC., espécie presente em outros países da Americana Latina, mas que no Brasil sua ocorrência é apenas nesse estado (Guimarães & Giordano, 2004).

2.2 Gênero *Piper*: aspectos botânicos, químicos e farmacológicos

O gênero *Piper* é um dos principais da família Piperaceae e suas espécies são empregadas como condimentos e na medicina alternativa. Está distribuído geograficamente em ambos os hemisférios de forma especial nas regiões tropical e subtropical. Estima-se que exista cerca de 700 espécies (Reigada et al., 2007), representando 2/3 das espécies descritas nos países neotropicais e, desse total, cerca de 300 espécies são endêmicas do sudeste da Ásia, incluindo o leste das ilhas da Índia e o norte da Austrália. No continente Americano, há a ocorrência de aproximadamente 90 tipos na América Central (Dyer et al., 2004). A Colômbia é o país em que há uma maior predominância de *Piper* na América do Sul, com maior frequência na região Andina, principalmente nos bosques úmidos e tropicais (Quijano-Abril et al., 2006). Os locais do desenvolvimento das espécies alternam-se, desde clareiras como em áreas perturbadas a florestas úmidas de terras baixas (Tebbs, 1989).

Logo abaixo, o mapa representado na figura 2 mostra a distribuição geográfica do gênero *Piper* no mundo.

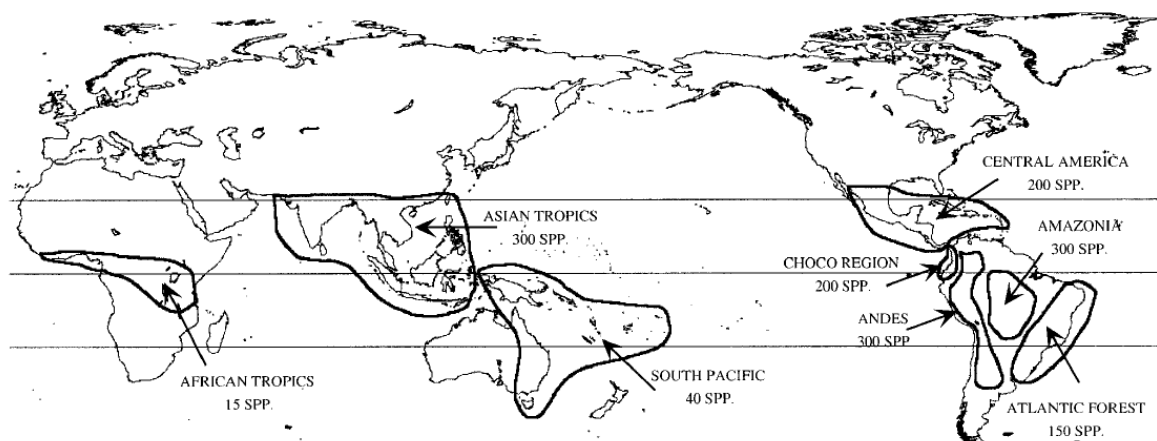


Figura 2: Distribuição geográfica do gênero *Piper* no mundo.

Fonte: Jaramillo et al., 2001.

Do ponto de vista botânico, este gênero apresenta-se como subarbustos, arbustos ou arvoretas, medindo de 1 a 5 metros, podendo chegar até 10 metros. Os caules são geralmente lignificados, nodosos e ramosos. As folhas contêm pecíolo longo, e são alternas ao caule. O limbo é simples, tendo sua margem inteira, com diferentes formas e de variável tamanho. As

flores são sésseis, aperiartadas, dispostas em espigas opostas às folhas, variando de comprimento e espessura, eretas, subcurvas ou curvas, acompanhadas de pedúnculos delgados ou espessos, de 2 a 5 estames e 3 a 4 estigmas, filiformes, curvas, estilosos ou sésseis. Ovário ovoide ou subovóide. Os frutos são druptos globosos com pericarpo pouco espessado (Guimarães & Giordano, 2004).

A investigação fitoquímica das espécies de *Piper* revelou a presença de uma variedade de substâncias importantes, como, alcalóides/amidas, lignanas, neolignanas e terpenos (Parmar et al., 1997). A primeira amida isolada das espécies do gênero *Piper* foi a piperina (Lee et al., 1984), que logo apresentou várias propriedades farmacológicas. As lignanas são compostas por duas unidades, C6 e C3, ligadas ao carbono β da cadeia lateral, caracterizadas pelas várias atividades biológicas (MacRae & Towers, 1984). A primeira lignana isolada de uma piperaceae foi a sesamina, extraída da *Piper peepuloides*. Com relação às neolignanas identificadas, existem várias moléculas já isoladas, como a Isodihidrofutoquinol A e B, Isofutoquinol A e Futoquinol/Hancinona D, isoladas da *Piper futokadsura* (Matsui & Munakata, 1976) e da Isofutoquinol B, Kadsurin A e B e Lancifohn C, isoladas da *Piper argyrophyllum* (Singh et al., 1996). Referente à análise dos óleos essenciais, vários terpenos foram identificados, havendo predominância de monoterpenos ou sesquiterpenos (Parmar et al., 1997). Nas espécies *Piper decurrens* (Chauret et al., 1996), *Piper auritum* (Ampofo et al., 1987) e *Piper aduncum* (Orjala et al., 1993), foi identificado o transfitol, um diterpeno.

Alguns extratos e substâncias isoladas de espécies de *Piper* apresentam atividades farmacológicas, dentre elas a antiinflamatória. Vaghasiya et al (2007) demonstrou que extrato metanólico das folhas da *Piper sarmentosum*, *Piper argyrophyllum* e *Piper longum*, inibiram o edema de pata induzido por dois agentes, a carragenina e a dextrana. Na investigação com o extrato etanólico das hastes da *Piper interruptum* Opiz. e dos frutos da *Piper chaba* Linn., houve ação antiinflamatória nos testes do edema de orelha induzido por etil-fenilpropiolato, e na indução de granulomatoma, sugerindo que o mecanismo seja semelhante aos fármacos antiinflamatórios não esteroidais (Sireeratawong et al., 2012). Em relação às amidas piperovatina e a piperlonguiminina, isoladas das folhas da *Piper ovatum*, foi observada redução do edema de orelha induzido por óleo de cróton, sugerindo ser eficaz no tratamento da inflamação tópica (Silva et al., 2008).

Estudos demonstraram a capacidade de inibição das enzimas ciclooxigenase I e 5-lipoxigenase de alguns compostos isolados de espécies de *Piper*, com ênfase para as amidas alifáticas insaturadas. A *Piper kadsura* destacou-se na inibição da formação de leucotrienos,

enquanto que a *Piper boehmeriifolium* impediu com maior eficácia a atividade da enzima ciclooxigenase (Stohr et al., 2001).

Além do efeito antiinflamatório, o extrato aquoso das folhas da *Piper sarmentosum*, mostrou ter efeito antinociceptivo, dose dependente, nos modelos de contorções abdominais induzidas por ácido acético e no teste da placa quente, efeito este mediado por receptores opióides periféricos e centrais (Zakaria et al., 2010). Com a *Piper longum*, o extrato da raiz promoveu redução das contorções abdominais induzidas pelo mesmo agente, demonstrando potente efeito antinociceptivo (Vedhanayaki et al., 2003).

Na busca por novas substâncias antibacterianas com menos efeitos colaterais, algumas piperaceas mostraram-se promissoras. O extrato das sementes da *Piper nigrum* L. inibiu de maneira significativa o crescimento da *Salmonella typhi* (Deshwal, 2013). Substâncias isoladas da *Piper longum* mostraram-se ativas contra bactérias gram-negativas e em menor grau contra bactérias gram-positivas (Reddy et al., 2001). O extrato etanólico das folhas de *Piper betel* exibiu amplo espectro de ação quando testado contra quatro espécies bacterianas: *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiellapneumonia*, *Proteus vulgaris* e *Staphylococcus aureus*, , semelhante a ceftriaxona (Datta et al., 2011).

No tocante a atividade antioxidante, o extrato etanólico da *Piper cubeba* promoveu eliminação dos radicais livres. Este efeito foi atribuído aos compostos presentes, principalmente os polifenóis (Nahak & Sahu, 2011). A *Piper guineense*, *Piper umbellatum* e *Piper nigrum* também apresentaram efeito antioxidante, atuando contra a formação da placa de ateroma, reduzindo os níveis lipídicos plasmáticos e espécies reativas de oxigênio (Agbor et al., 2012).

Em testes laboratoriais utilizando ratos diabéticos, o extrato das folhas da *Piper auritum* foi capaz de diminuir o estresse oxidativo e peroxidação lipídica mitocondrial, e desencadeou melhora no metabolismo lipídico, bem como a redução das espécies reativas de oxigênio (Gutierrez et al., 2012).

Outra atividade farmacológica observada na literatura foi a capacidade de combater a leishmaniose, considerada uma doença negligenciada. Um estudo com o óleo essencial das folhas de *Piper clausenianum* inibiu o crescimento das formas promastigotas da *Leishmania brasiliensis* (Marques et al., 2010). Da *Piper malacophyllum* foi isolado um alkenylphenol, caracterizado por 4-[(30E)-deceny] phenol (gibbilimbol B), responsável pela ação contra a *Leishmania* spp. Promastigotas e amastigotas e contra as formas tripomastigotas de *Trypanossoma cruzi* (Oliveira et al., 2012). Quando investigado o extrato e frações das folhas da *Piper regnellii* var *pallescences*, houve inibição do crescimento das formas promastigotas

de *Leishmania amazonensis* cultivada em meio de Warren a 28 °C durante 72 horas (Nakamura et al., 2006), efeito também apresentado pela ciclopentandiona isolada das raízes da *Piper carniconectivum* (Paes-Gonçalves et al., 2012).

Algumas espécies deste gênero apresentaram efeitos benéficos sobre o sistema cardiovascular. O extrato das folhas da *Piper aduncum*, quando administrado por via oral reduziu os níveis pressóricos de ratos hipertensos induzidos por L-NAME. Este extrato é rico em alcalóides, compostos fenólicos, flavonoides e taninos, e provavelmente esses compostos estejam estimulando a atuação de substâncias vasodilatadoras e a síntese de óxido nítrico (Arroyo et al., 2012).

Em aorta de coelhos, o extrato aquoso da *Piper sarmentosum* reduziu as lesões ateroscleróticas induzidas por uma alimentação rica em colesterol (para cada 200 g de ração foram adicionadas 2 g de colesterol). O efeito anti-aterogênico foi atribuído à ação antioxidante, como também pela atividade da naringinina, composto com propriedades anti-aterogênicas (Amran et al., 2010).

Além disso, o extrato da espécie supracitada exerceu efeito protetor contra a cirrose hepática em ratos, observando-se diminuição dos valores de TGP, bilirrubina total, bilirrubina direta e albumina (Arroyo et al., 2012). O efeito hepatoprotetor também foi verificado com a utilização de amidas isoladas dos frutos da *Piper chaba*, dentre essas a piperina demonstrou melhores resultados em dose dependente, com 5 e 10 mg/kg (Matsuda et al., 2009).

Um estudo clínico envolvendo pacientes recentemente diagnosticados com diabetes tipo 2, mostrou que cápsulas compostas de pó pulverizado dos frutos de *Piper betel*, proporcionou redução do nível de glicose sanguínea, considerado candidato nutracêutico para o tratamento do diabetes tipo 2 (Hewageegana et al., 2011). Além dessa espécie, o extrato aquoso da *Piper rostratum* promoveu redução dos níveis séricos de glicose em coelhos diabéticos, assim como em pacientes portadores do diabetes melitus tipo 2 (Riditid et al., 1998). Outro trabalho evidenciou que o extrato aquoso da *Piper sarmentosum* administrado durante sete dias por via oral, reduziu o nível de glicose no plasma em ratos normais, enquanto que o mesmo extrato e nas mesmas doses não reduziu a glicose plasmática em ratos diabéticos (Peungvicha et al., 1998).

Para melhor compreensão dos efeitos no sistema nervoso central das espécies de Piper, foi elaborada uma revisão sistemática baseada em métodos estritamente criteriosos para garantir que os estudos encontrados fossem observados quanto a sua validade e qualidade (De-La-Torre-Ugarte-Guanilo et al., 2011). Para isso, realizou-se uma busca rigorosa em algumas bases de dados, seguida de uma análise crítica das informações coletadas. Todo o

estudo foi conduzido de acordo com a seguinte pergunta: Quais as plantas do gênero *Piper* que apresentam atividade farmacológica no sistema nervoso central?

Foram utilizados os descritores *Piper*, *Piper tuberculatum*, *Piper methysticum*, *Piper nigrum*, e *Piper angustifolium*, nas seguintes bases de dados: Bioline internacional, Bridge Base Online (BBO), Directory of Open Access Journals (DOAJ), Highwire, Índice Bibliográfico Espanhol de Ciências da Saúde (IBECS), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Medline (PUBMED), Scientific Electronic Library Online (SciELO).

Ao final da busca foram selecionados os estudos que abordaram efeitos no sistema nervoso central promovido por alguma espécie do gênero. Logo em seguida, aplicaram-se critérios de inclusão e exclusão, com a finalidade de escolher as publicações que atenderam o objetivo deste estudo.

Para exclusão dos estudos que não se adequaram a esta revisão, foram utilizados os seguintes critérios: ser repetido nas bases de dados; teses; dissertações; artigos de revisão; não especificar qual o material utilizado (extrato, óleo ou substância isolada) para a execução dos experimentos; pesquisas que trataram da associação de espécies para obtenção do efeito central, onde uma das espécies seja de outro gênero; e trabalhos que relataram alguma atividade central associada a uma patologia que não era foco deste estudo.

Em relação aos critérios de inclusão, adotaram-se os seguintes: estudos clínicos randomizados, estudos pré-clínicos (*in vivo* e *in vitro*), idiomas (espanhol, inglês, português e francês), estudos entre os anos de 1938 a 2014 e trabalhos que especificaram o material vegetal utilizado nos experimentos). A partir da aplicação de todos esses critérios, os estudos incluídos foram submetidos a uma leitura rigorosa para a coleta de informações, seguido de uma análise crítica, obtendo-se um panorama geral das espécies do gênero *Piper* que apresentam atividades no sistema nervoso central.

Ao final da busca foram encontrados 2.496 artigos, destes 89 foram selecionados. Quando aplicado os critérios de exclusão e inclusão, apenas 26 estiveram de acordo com o objetivo desta revisão. Dos estudos inclusos, foi verificado dois perfis distintos: clínicos (6), pré-clínicos, *in vivo* (15) e *in vitro* (7).

De acordo com o levantamento realizado, verificou-se 12 espécies de *Piper* que promoveram algum tipo de efeito farmacológico no sistema nervoso central: *Piper aduncum* L., *Piper amalago* L., *Piper capense* L. f., *Piper guineense*, *Piper longum* Linn., *Piper laestispicum* C. DC., *Piper methysticum*, *Piper mikaniamum*, *Piper nigrum* L., *Piper*

tuberculatum Jacq., *Piper retrofractum* e *Piper solmsiamun* C. DC. Estando organizadas na tabela abaixo.

Quadro 1: Espécies do gênero *Piper* com atividades farmacológicas no sistema nervoso central

Espécie	País	Extrato/Óleo essencial/Substância isolada	Tipo de estudo	Resultados	Referência
<i>Piper aduncum</i> Linn.	Peru	Extrato hidroalcoólico das folhas	Estudo pré-clínico (<i>in vitro</i>)	Efeito neuroprotetor no modelo de neurodegeneração	Zaa et al., 2012
<i>Piper amalago</i> var. <i>medium</i> Linnaeus	Brasil	Extrato metanólico das folhas	Estudo pré-clínico (<i>in vivo</i>)	Efeito ansiogênico nos testes do campo aberto e labirinto em cruz elevado	Lopes et al., 2012
<i>Piper capense</i> L. f.	África do Sul	Piperina e 4,5-dihydropiperine (amidas isoladas das raízes)	Estudo pré-clínico (<i>in vitro</i>)	Moderada afinidade para o receptor GABA _A , o que pode favorecer a atuação em diferentes alvos.	Pedersen et al., 2009
<i>Piper guineense</i>	Japão	Óleo essencial dos frutos	Estudo pré-clínico (<i>in vivo</i>)	A inalação do óleo essencial provocou efeito tranquilizante	Tankam & Ito, 2013
<i>Piper longum</i> Linn.	China	Piperina, piper longuminina e Dihydropiperlonguminina (alcalóides isolados das sementes)	Estudo pré-clínico (<i>in vitro</i>)	Melhorou a disfunção motora e a depleção de dopamina	Liu et al., 2013
<i>Piper longum</i> Linn.	Bangladesh	Extrato metanólico das folhas	Estudo pré-clínico (<i>in vivo</i>)	Efeito depressor	Manum et al., 2011
<i>Piper longum</i> Linn.	Índia	Piperina (Synthit Pharma)	Estudo clínico	Aumentou a biodisponibilidade da carbamazepina	Pattanaik et al., 2009
<i>Piper longum</i> Linn.	Japão	Piperina (Sigma-Aldrich)	Estudo pré-clínico (<i>in vivo</i>)	Foi sugerido efeito antidepressivo	Mao et al., 2011
<i>Piper longum</i> Linn.	Índia	Piperina (Embiotic Laboratories)	Estudo clínico	Aumentou a biodisponibilidade da fenitoína	Pattanaik et al., 2006

Quadro 1 (continuação): Espécies do gênero *Piper* com atividades farmacológicas no sistema nervoso central

<i>Piper longum</i> Linn.	Coréia do Sul	Piperina (isolada dos frutos)	Estudo pré-clínico (<i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>)	O composto promoveu efeito antidepressivo, possivelmente pela inibição da monoamina oxidase	Lee et al., 2005
<i>Piper lastispicum</i> C. DC.	China	Laetispicine (amida isolada das hastes)	Estudo pré-clínico (<i>in vivo</i>)	O alcalóide apresentou atividade antidepressiva	Yao et al., 2009
<i>Piper laetispicum</i> C. DC.	China	Extrato acetato de etila das hastes	Estudo pré-clínico (<i>in vivo</i>)	Promoveu atividade antidepressiva	Xie et al., 2011
<i>Piper methysticum</i> G. Forster	Alemanha	Extrato etanólico das raízes	Estudo pré-clínico (<i>in vivo</i>)	Efeito tipo ansiolítico, semelhante ao diazepam	Rex et al., 2002
<i>Piper methysticum</i> G. Forster	USA	Extrato etanólico das raízes	Estudo pré-clínico (<i>in vivo</i>)	Efeito ansiolítico e sedativo	Garret et al., 2003
<i>Piper methysticum</i> G. Forster	USA	Extrato e frações	Estudo pré-clínico (<i>in vivo</i>)	Efeito ansiolítico	Feltenstein et al., 2003
<i>Piper methysticum</i> G. Forster	Inglaterra	Cápsulas fornecidas pelo Lichtwer-Pharma UK Ltd	Estudo clínico	Efeito hipnótico	Wheatley, 2001
<i>Piper methysticum</i> G. Forster	Alemanha	Extrato WS® 1490	Estudo clínico	Efeito ansiolítico	Geier et al., 2004
<i>Piper methysticum</i> G. Forster	Austrália	Cápsulas fornecidas pela MediHerb Pty Ltd. (Warwick, Australia)	Estudo clínico	Doses agudas de kavalactones não promoveu efeito ansiolítico	Sarris et al., 2012
<i>Piper methysticum</i> G. Forster	Alemanha	Extrato WS® 1490	Estudo clínico	Efeito ansiolítico e boa tolerância	Malsch & Kieser, 2001
<i>Piper methysticum</i> G. Forster	Alemanha	Extrato WS® 1490	Estudo clínico	Redução dos sintomas associados a ansiedade neurótica	Gastpar et al., 2003

Quadro 1 (continuação): Espécies do gênero *Piper* com atividades farmacológicas no sistema nervoso central

<i>Piper mikianium</i> Kunth	Brasil	Extrato metanólico das folhas	Estudo pré-clínico (<i>in vivo</i>)	Provocou efeito ansiogênico nos testes do campo aberto e labirinto em cruz elavado	Lopes et al., 2012
<i>Piper nigrum</i> Linn.	USA	Piperina (Sigma Aldrich)	Estudo pré-clínico (<i>in vitro</i>)	Inibe de forma seletiva a monoamina oxidase B, considerada assim uma possível forma de tratamento para a doença de Parkinson	Al-Baghdadi et al., 2012
<i>Piper nigrum</i> Linn.	Áustria	Piperina (Sigma)	Estudo pré-clínico (<i>in vivo</i>)	Propriedades ansiolíticas	Khom et al., 2013
<i>Piper nigrum</i> Linn.	China	Piperina (China National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products (Beijing, China)	Estudo pré-clínico (<i>in vitro</i>)	Efeito neuroprotetor por meio da supressão das descargas neuronais, liberação pré-sináptica do glutamato e da sobrecarga de Ca.	Fu et al., 2010
<i>Piper tuberculatum</i> Jacq.	Brasil	Piplartina (amida solada das raízes)	Estudo pré-clínico (<i>in vivo</i>)	O composto isolado apresentou efeito ansiolítico e antidepressivo	Felipe et al., 2007
<i>Piper retrofractum</i> Vahl.	Japão	Piperodiona, (2E,12E)-Pipertridecadienamida e N-Isobutyl-(2E,4E,10Z)-hexadeca-2,4,10-trienamida (isoladas dos frutos)	Estudo pré-clínico (<i>in vitro</i>)	Os compostos apresentaram atividade neurotrófica, (ação indicada para o tratamento de doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer)	Kubo et al., 2013
<i>Piper solmsianum</i> C. DC.	Brasil	Óleo essencial das folhas e seu constituinte majoritário (sarisan)	Estudo pré-clínico (<i>in vivo</i>)	Foram verificados efeitos excitantes e depressores	Moreira et al., 2001

Considerando a necessidade por novas alternativas para o tratamento dos distúrbios do sistema nervoso central, foi possível identificar nesta revisão as espécies do gênero *Piper* que promovem atividade farmacológica central, onde algumas são utilizadas na medicina popular de acordo com a literatura (Lopes et al., 2012).

O primeiro estudo com este gênero foi realizado com a *Piper methysticum* G. Forster. De acordo com Veen (1938) apud Klohs et al (1959), o uso das raízes dessa espécie foram capazes de aliviar a fadiga e combater a ansiedade. Os polinésios e outros povos antigos utilizaram o extrato da *Piper methysticum* G. Forster com estas finalidades. Nesse sentido, acreditou-se que a referida espécie continha substâncias capazes de promover alguma alteração no sistema nervoso central e que outras com o mesmo grau de parentesco apresentariam alguns desses efeitos.

Do gênero *Piper*, a *Piper methysticum* G. Forster, também conhecida como kava, representa a espécie mais estudada do ponto de vista farmacológicos e com ênfase no sistema nervoso central, deixando evidente a sua relevância para a fitoterapia, principalmente no tratamento da ansiedade e insônia. Apesar disso, segundo Ernst (2004) o seu uso é restrito em alguns países, por promover hepatotoxicidade.

Nos experimentos pré-clínicos (*in vivo*) com a *Piper methysticum* G. Forster, o extrato demonstrou atividade semelhante aos fármacos utilizados na terapia da ansiedade, como o diazepam e o clordiazepóxido, relacionando sua ação à via GABAérgica. No estudo de Garret et al (2003), o flumazenil, antagonista do receptor GABA_A, mostrou que o efeito do extrato da *Piper methysticum* G. Forster não foi revertido. Desta forma, provavelmente outro mecanismo seja responsável pelo efeito observado. De acordo com Yuan et al (2002), o mecanismo de ação da kavalactona, um dos compostos presente na *Piper methysticum* G. Forster responsáveis pelas ações psicoativas ainda é obscuro, na literatura encontra-se informações contraditórias quanto a sua interação com o sistema GABA.

Com relação às pesquisas clínicas, o extrato padronizado (WS® 1490) da *Piper methysticum* G. Forster teve destaque, indicando efeito ansiolítico (Gastpar et al., 2003; Geier et al., 2004; Malsch et al., 2001). Todos os estudos citados mostraram a eficácia desse produto natural. Outro aspecto abordado diz respeito sobre a sua tolerância, garantindo o mínimo de efeitos colaterais e contribuindo para o seu uso de forma segura. No trabalho de Malsch et al (2001), o extrato WS® 1490 mostrou-se eficaz quando substituíram os benzodiazepínicos. Mesmo assim, a utilização da *Piper methysticum* G. Forster como fitoterápico deve ser cuidadosa, visto que existe a possibilidade de interações medicamentosas e o desenvolvimento de reações adversas (Justo & Silva, 2008).

No trabalho de Sarris et al (2012), no primeiro ensaio com humanos utilizando administração aguda da kava na dosagem de 180 mg/kg, não foi detectado efeito ansiolítico. Por outro lado, observou-se ausência de déficits cognitivos e melhora do humor, dados previamente observados na pesquisa de Laporte et al (2011). A ausência da atividade ansiolítica pode ser atribuída a dois fatores: o efeito não seja obtido com o tratamento agudo, bem como na dosagem utilizada (Sarris et al., 2012).

O extrato da *Piper methysticum* G. Forster apresentou melhora na qualidade do sono dos pacientes tratados (Wheatley, 2001), tornando-o candidato como hipnótico e ansiolítico geral. Entretanto, o próprio autor revela que tal estudo serviu para o direcionamento de novas pesquisas mais detalhadas, para obtenção de resultados mais consistentes, visto que não foi realizado controle placebo, nem duplo cego, como nos estudos anteriormente descritos.

Em estudos com substâncias isoladas, a *Piper longum* Linn. e *Piper nigrum* Linn. foram as espécies de maior ocorrência, piperina apresentou maior número de citações. Alguns autores confirmaram a influência desta amida na farmacocinética da carbamazepina (Pattanaik et al., 2009) e da fenitoína (Pattanaik et al., 2006). Além disso, foi visto efeito antidepressivo (Mao et al., 2011), neuroprotetor (Fu et al., 2010) e antiparkinsoniano, uma vez que a molécula promoveu inibição da MAO B (Al-Baghdadi et al., 2012). Esta amida também foi testada em animais, indicando efeito tipo ansiolítico (Khom et al., 2013).

As amidas isoladas da *Piper capense* L. f. a piperina e a 4,5-dihdropiperina, mostraram afinidade moderada para o receptor GABA_A (Pedersen et al., 2009). Além disso, a Piperodiona, a (2E,12E)-Pipertridecadienamida e a N-Isobutil-(2E,4E,10Z)-hexadeca-2,4,10-trienamida, apresentaram ação neurotrófica (Kubo et al., 2013) e efeito neuroprotetor (Zaa et al., 2012). Os alcalóides Piperina e Dihidropiperlonguminina isolados das sementes de *Piper longum* Linn. inibindo a depleção de dopamina (Liu et al., 2013). Para Rogero et al (2003), os testes *in vitro* são mais vantajosos do que *in vivo* com relação a dois aspectos: são realizados em um período de tempo menor, garantindo rápida obtenção dos dados, além de permitir a limitação das variáveis experimentais.

Baseado nas publicações avaliadas foi visto que o efeito ansiolítico é predominante em algumas espécies do gênero, como *Piper tuberculatum* Jacq. (Felipe et al., 2007). No entanto, a *Piper mikanianum* Kunth e a *Piper amalago* var. *medium* Linnaeus, apresentaram efeito ansiogênico (indução da ansiedade) no teste do labirinto em cruz elevado, evidenciado por aumento no tempo de permanência dos animais nos braços fechados do equipamento (Lopes et al., 2012). Ainda de acordo com o autor, o que pode ter provocado tal efeito foi a utilização

de doses elevadas, que possivelmente desencadeou uma ação de saturação nos receptores centrais.

Outro aspecto relevante é quanto à facilidade de encontrar espécies do gênero *Piper*, úteis na medicina, como por exemplo, a *Piper guineense*, planta que mostrou ter efeito tranquilizante, sendo alvo para o desenvolvimento de uma terapia alternativa. Em relação aos compostos responsáveis por este efeito, é atribuído em parte ao 3,5-dimethoxitolueno e ao linalol, seus compostos majoritários. Quando testados isoladamente, esses constituintes apresentaram ação menos acentuada em comparação ao óleo essencial. Dessa forma, é sugerido que há sinergismo com os outros componentes do óleo essencial (Tankan & Ito, 2013).

Da mesma forma que a *Piper guineense*, o óleo essencial da *Piper solmsianum* C. DC., foi caracterizado por sua capacidade de gerar efeito depressor no SNC. Esta atividade foi verificada por meio do teste da potencialização do sono com o pentobarbital (Moreira et al., 2001). Mesmo assim, não se pode afirmar com certeza sobre tal propriedade farmacológica, pois, drogas que interferem na biotransformação do pentobarbital pelo complexo enzimático do citocromo P-450 podem apresentar os mesmos efeitos de drogas depressoras do SNC (Blumenthal, 2000).

As atividades que foram verificadas por meio dos experimentos clínicos e pré-clínicos (*in vivo* e *in vitro*), permitiram traçar um perfil geral das propriedades farmacológicas centrais, assegurando o uso popular, bem como, servindo para o desenvolvimento de novos fármacos. Essa caracterização é marcada pela identificação dos princípios ativos, o que torna ainda maior a validade dos estudos apresentados.

Independente do tipo de estudo, local realizado, ano de publicação, e espécies investigadas, algumas considerações podem ser feitas: a piperina é o principal alcalóide que pode ser encontrado na *Piper longum* Linn. e *Piper nigrum* Linn. (Pattanaik et al., 2009; Pattanaik et al., 2006; Mao et al., 2011; Lee et al., 2005; Pedersen et al., 2009); a pipartina identificada e isolada das raízes da *Piper tuberculatum*, foi apresentada em um único trabalho (Felipe et al., 2007), assim como a laetispicine, isolada da *Piper laetispicine* C. DC. (Yao et al., 2009). Algumas espécies, como a *Piper aduncum* L., *Piper amalago*, *Piper capense* L. f., *Piper guineense*, *Piper mikanianum* Kunth, *Piper solmsianum* C. DC e a *Piper tuberculatum* Jacq., tiveram apenas um estudo, o que leva a acreditar que existe uma lacuna quanto a ação investigada, no que diz respeito a identificação dos compostos responsáveis pelas atividades e os mecanismos pelos quais agem, possibilitando a apresentação de um trabalho mais refinado.

Apesar de a revisão sistemática conter falhas, como as limitações por encontrar ensaios clínicos randomizados de relevância e os que foram detectados possam apresentar tendência na exposição dos resultados positivos, este fato impede que conclusões consistentes sejam tomadas (Ernst et al., 2006). Este trabalho proporcionou caracterizar um panorama geral das espécies e suas atividades farmacológicas no SNC. De acordo com Cook et al (1997), este tipo de estudo permite ter uma visão ampla e esclarecida dos estudos primários, fazendo um levantamento dos aspectos positivos e negativos, bem como direcionar o planejamento de outras pesquisas.

Dessa forma, mesmo encontrando poucas pesquisas com espécies do gênero *Piper* com efeitos no sistema nervoso central, as publicações encontradas e selecionadas são relevantes, possibilitando a busca por novas substâncias eficazes no tratamento dos distúrbios do SNC.

2.3 Espécie *Piper tuberculatum* Jacq. : aspectos botânicos, químicos e farmacológicos

Piper tuberculatum popularmente conhecida como “pimenta de macaco”, é uma piperaceae que apresenta importância econômica e medicinal. No Brasil, é encontrada em vários estados, como; Amazonas, Rondônia, Pará, Maranhão, Piauí, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Rio de Janeiro e Mato Grosso (Guimarães & Giordiano, 2004). É utilizada empiricamente com sedativo, antídoto para veneno de cobras (Araújo-Junior et al., 1999), e ainda no tratamento de problemas estomacais (Chaves et al., 2006).

Quando avaliado seus aspectos botânicos, a espécie pode apresentar-se como arbustos com 2 a 2,5 m de altura e ramos pubérulos. Suas folhas possuem bainha alada, lâmina oblongo-elíptica ou ovado elíptica, base assimétrica e ápice agudo, de textura papiráceo-membranácea, brilhante, nervuras ascendentes em número de 8-10 pares, perinérveas, dispostas até o ápice da lâmina. As espigas dessa espécie são eretas, com comprimento de 4-7 cm, bractéolas triangular-subpeltadas, marginalmente franjadas e a drupa é tetragonal, ovada ou subovada, lateralmente comprimida (Guimarães & Giordiano, 2004). Uma curiosidade é que essa espécie é semelhante morfológicamente à *Piper arboreum*, a diferença entre as duas se dá pela pilosidade, suas lâminas são em menor comprimento, os pedúnculos maiores e presença de tubérculos especialmente nos nós caulinares (Junior et al., 2014).

A classificação botânica da *Piper tuberculatum* segue na tabela 2, logo abaixo (Cronquist, 1981).

Tabela 1: Classificação botânica da *Piper tuberculatum* Jacq.

Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Subclasse	Magnoliidae
Ordem	Piperales
Família	Piperaceae
Gênero	<i>Piper</i>
Espécie	<i>Piper tuberculatum</i>



Figura 3: Foto do arbusto da *Piper tuberculatum* Jacq com folhas e frutos.

Dando ênfase aos estudos fitoquímicos, a literatura descreve trabalhos desenvolvidos com a finalidade de detectar e isolar metabólitos secundários oriundos da espécie, é o caso da pipartina, do seu dímero piperdardina (Braz-Filho et al., 1981), piperetina, piperina (Araújo-Júnior et al., 1997), ácido 3,4-metilenodioxiciâmico (Simmonds & Stevens, 1956), piparóxido, demetoxipipartina (Capron & Wiemer 1996), cefaranona B (Araújo-Júnior et al., 1999), $\Delta\alpha;\beta$ -dihidropiperina, dihidropipartina, 8(Z)-N-12,13,14-trimetoxicinamoila)- Δ 3-piridin-2-ona, 5,6-dihidropiperlonguminina, pellitorina, (Navickiene et al., 2000), N-[10-(13,14-metilenodioxifenil)-7(E)-9(E)-pentadienoila]-pirrolidina, N-[10-(13,14-metilenodioxifenil)-7(E)-pentadienoila-pirrolidina, fagaramida, trans-6,7,8-trimetóxi-dihidrocinamato de metila, 6,7,8-trimetóxidihidrocinamato de metila (Silva et al., 2002), piperina (Chaves et al., 2003).

As amidas isobutílicas, presentes em *Piper tuberculatum* são responsáveis pela ação inseticida. Essa atividade foi verificada contra a broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* e *Anticarsia gemmatilis* (Navickiene, 2003). Além disso, o extrato das folhas demonstrou o mesmo efeito, servindo até como uma possível alternativa para o controle de pragas utilizando métodos naturais (Scott et al., 2004). A atividade antifúngica é outra ação apresentada pelas amidas, verificada em estudos contra fungos fitopatógenos: *Cladosporium sphaerospermum* e *Cladosporium cladosporioides* (Navickiene et al., 2000). Em um trabalho realizado no Brasil, o extrato das inflorescências, talos e frutos mostrou esse efeito contra *Trichophyton rubrum*, *Mycosporum canis* e *Mycosporum gypseum* (Palacios et al., 2009).

Nessa espécie o ácido 3,4,5-trimetóxi-dihidrocinâmico foi identificado pela primeira vez e mostrou ser eficaz contra a ação do TNF α sobre a liberação de ICAM-1 pelas células (Kumar et al., 2005). Este mesmo ácido e mais dois alcaloides isolados dos frutos, a piplartina e a dihidro-piplartina, assim como o extrato bruto, são capazes de produzir efeito antinociceptivo em contorções abdominais induzidos por ácido acético (Rodrigues et al 2009).

O efeito inibidor da agregação plaquetária induzida por colágeno, ácido araquidônico e pelo fator ativador de plaquetas foi observado com a piplartina (Fontenele et al., 2009). Este composto apresentou também efeito espasmolítico na aorta de ratos, resultando na redução dos espasmos induzido por KCL, indicando uma possível relação com os canais de potássio dependentes de voltagem (Oliveira, 2000).

Quanto à atividade antitumoral, foram obtidos resultados promissores, com ênfase na inibição da proliferação de algumas linhagens de células tumorais (HL-60 – leucemia promielocítica humana, B16 – melanoma murino, HCT-8 – carcinoma de cólon humano, CEM – leucemia linfocítica humana, K-562 – leucemia mielocítica crônica humana e JUKART - leucemia de células T humanas), apontando para um provável efeito anti-proliferativo, ligado a inibição da síntese do DNA e com a morte por apoptose, e necrose (Bezerra et al., 2006; Bezerra et al., 2007; Bezerra et al., 2008).

No efeito larvicida, foi apontado que o extrato metanólico das folhas resultou em 100% de mortalidade das larvas do *Aedes aegypti* (Pohlit et al., 2004), assim como na utilização do óleo essencial das folhas (Lavor et al., 2012).

Considerando o fato do desenvolvimento da pesquisa experimental, muitas propriedades farmacológicas de uma variedade espécies vegetais têm sido identificadas em modelo animais, proporcionando fonte para o desenvolvimento de terapias alternativas. Além dessa triagem, são empregados métodos neuroquímicos permitindo o evidenciamento dos mecanismos de ação responsáveis por tais efeitos (Sousa et al., 2008). Em se tratando da *Piper tuberculatum* alguns compostos químicos com atividades biológicas foram identificados, indicando a relevância dessa espécie para a medicina e favorecendo ao planejamento e execução de futuros estudos.

Apesar disso, há uma escassez de trabalhos científicos com abordagem dos efeitos farmacológicos no sistema nervoso central com a *Piper tuberculatum* Jacq. Assim o desenvolvimento desta pesquisa é justificado por acreditar na obtenção de dados relevantes que poderão contribuir para a busca de alternativas terapêuticas utilizadas para os transtornos psiquiátricos, visto que esta espécie já foi citada na literatura por promover alterações no

sistema nervoso e possuir parentesco com espécies de *Piper* que já tiveram seus efeitos centrais comprovados.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar os efeitos centrais da administração aguda do óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq. (OEPT) em camundongos.

3.2 Objetivos específicos

- Preparar uma exsicata a partir do material botânico coletado;
- Extrair o óleo essencial dos frutos de *Piper tuberculatum* Jacq.;
- Identificar os principais constituintes químicos presentes no óleo essencial;
- Avaliar, por meio do teste hipocrático, o perfil de efeitos obtidos com a administração intraperitoneal de doses crescentes do OEPT, bem como sinais de toxicidade e letalidade (DL₅₀);
- Caracterizar os efeitos centrais decorrentes da administração aguda do OEPT em camundongos submetidos aos seguintes testes comportamentais: campo aberto (CA), labirinto em cruz elevado (LCE), *rota rod*, convulsões induzidas por pentilenotetrazol, potencialização do tempo de sono induzido por pentobarbital e éter etílico;
- Sugerir um possível mecanismo de ação que explique os efeitos centrais do OEPT.

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Material vegetal e Identificação Botânica

O material vegetal (frutos da *Piper tuberculatum* Jacq.) foi coletado no sítio Arajara, no município de Barbalha, Estado do Ceará, à orientação sul $07^{\circ} 19' 568''$, e a oeste $039^{\circ} 23' 580''$, estando de acordo com a autorização com base na Instrução Normativa nº154/2007; licença nº41398-1 (ANEXO 1), do Ministério do Meio Ambiente – MMA/ Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio.



Figura 4: Localização do Sítio Arajara, município de Barbalha-Ce.
Fonte: Google Earth, 2014 – acessado em 13 de Setembro de 2014.

A identificação botânica foi realizada pela Profa. Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva e uma exsicata foi depositada no Herbário Cariariense Dárdano de Andrade Lima – HCDAL da Universidade Regional do Cariri – URCA, catalogada sob o registro de número **10.631** (ANEXO 2).



Figura 5: Exsicata da espécie depositada no Herbário Cariariense Dárdano Andrade Lima.

Fonte: Sales, VS., 2014.

4.1.2 Drogas e Reagentes

Quadro 2: Drogas e reagentes utilizados

Drogas/Reagentes	Origem
Água deionizada	Deionizador, LFQM
Álcool etílico P. A.	Sigma-Aldrich, EUA
Diazepam	Germed, Brasil
Pentobarbital sódico	Cristália Farma, Brasil
Pentilenotetrazol	Sigma-Aldrich, EUA
Flumazenil	Cristália Farma, Brasil
Tween 80 – Polyoxyethylene Sorbitan Mono – oleate	Sigma-Aldrich, EUA
Sulfato de sódio anidro	Superquímica Comércio e Transporte Ltda

4.1.3 Animais e Aspectos Éticos da Pesquisa

Nos ensaios farmacológicos foram utilizados camundongos *Swiss* albinos (*Mus musculus*), adultos, fêmeas, com massa corpórea entre 25-30 g, cedidos pelo Biotério da Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte (Estácio/FMJ) e monitorados no Biotério Experimental da URCA, em conformidade com as normas e procedimentos de Biossegurança para biotérios (Cardoso, 1998-2001) e bioéticas (Bazzano, 2006).

Todos os animais foram acondicionados em gaiolas de polipropileno e mantidos em ambiente com temperatura entre 23 ± 2 °C, com ciclo claro/escuro de 12 h, água e ração *ad libitum* (Lapa et al., 2008).

Os protocolos experimentos foram desenvolvidos de acordo com a aprovação do Comitê de Ética, em estrita obediência com as normas e diretrizes bioéticas vigentes para ensaios envolvendo 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). Também estando de acordo com as normas estabelecidas por órgãos superiores de acordo com o decreto nº 24. 645 de 10 de julho de 1934, assegurando os direitos dos animais, com medidas de proteção, e ainda o decreto lei n °. 6.638 de 8 de maio de 1979, que regulamenta as práticas científicas de vivisseção (BRASIL, 1934; BRASIL, 1979), dispendo sobre a composição do CONCEA e funcionamento, que estabelece as normas para o seu funcionamento, mediante a regulamentação da Lei 11.794, de 08 de outubro de 2008 (Lei Arouca), e dispõe sobre procedimentos para o uso científico de animais.

Este estudo foi enviado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa 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; com **parecer nº 00211. 2013.1** (ANEXO 3).

4.2. MÉTODOS

4.2.1. Obtenção do óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.

Os frutos frescos coletados foram selecionados, excluindo aqueles com sujidade e com mau aspecto. Ao final obteve-se 3.852 g de frutos, os quais foram submetidos à hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger. O material foi pesado e em seguida colocado em balão de vidro, sendo acrescentada água destilada e submetidos à ebulição por 02 horas. Ao término desse período, o óleo essencial extraído foi tratado com sulfato de sódio anidro para eliminação da umidade residual e depositado em frasco âmbar sendo mantido em refrigerador. Veja o esquema especificado na figura 5.

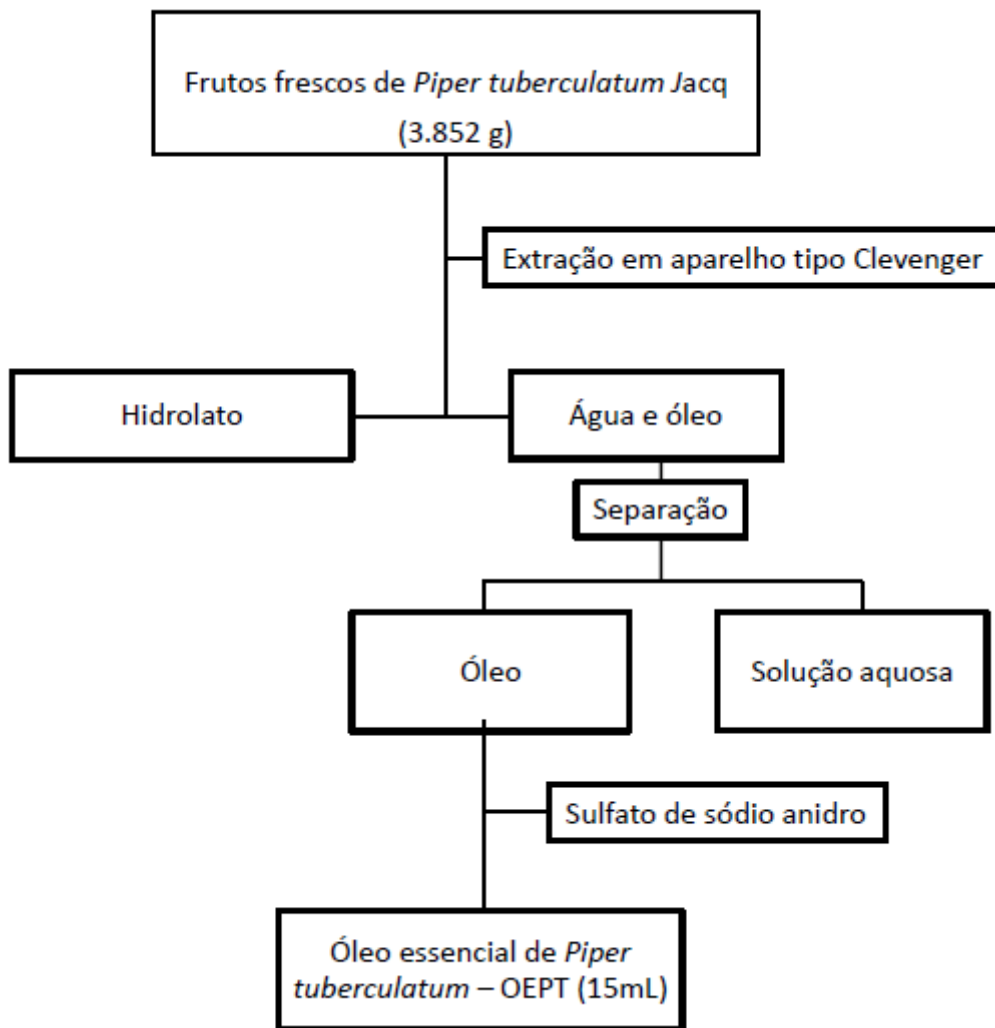


Figura 6 : Fluxograma do método de extração do óleo essencial dos frutos de *Piper tuberculatum*.

4.2.2. Análise química do óleo essencial

A análise da composição química do óleo essencial foi realizada em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (CG/EM Shimadzu, modelo QP5050A) e provido de uma coluna capilar DB-5HT de sílica fundida com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e filme 0,25 μm , tendo o hélio como gás de arraste e fluxo de 0,8 mL/min. A temperatura do injetor foi 250 °C e a temperatura do detector (ou interface) foi 200 °C. A temperatura da coluna foi programada de 35 °C para 180 °C em 4 °C/min e em seguida 180 °C para 250 °C em 10 °C/min. Os espectros de massas foram gravados a partir de 30 - 450 m/z .

Os componentes individuais foram identificados por correspondência de seus espectros de massa, com energia de impacto de 70 eV, com os da base de dados usando a

biblioteca construída através do espectrômetro (Wiley, 229) e outros dois computadores utilizando índices de retenção como uma pré-seleção (Alencar et al., 1984; Alencar et al., 1990), bem como por comparação visual da fragmentação padrão com aqueles relatados na literatura (Stenhagen et al., 1974; Adams, 2001).

4.2.3. Protocolo experimental

Todos os experimentos foram realizados em horário padronizado (12h00min as 16h00min), no Laboratório de Farmacologia e Química Molecular (LFQM) da URCA, em condições controladas de temperatura ($23 \pm 1^\circ \text{C}$) e em um ambiente desprovido de barulho externo, com iluminação de baixa intensidade (lâmpada vermelha de 15 W), mimetizando o ambiente natural do animal, evitando alterações comportamentais. Os animais foram divididos em grupos (24 horas antes da realização dos experimentos) compostos por nove animais em cada, e levados para o LFQM para serem ambientados. Inicialmente foi realizada uma triagem farmacológica (teste hipocrático) para identificação dos efeitos farmacológicos gerais, a toxicidade e DL_{50} do OEPT. A DL_{50} serviu como parâmetro na escolha das doses utilizadas neste trabalho, sendo a maior dose correspondente a 10% da DL_{50} . Logo após a triagem, foram executados protocolos específicos para caracterizar as atividades no sistema nervoso central, tais como, ansiólise, alteração na coordenação motora, anticonvulsivante e sedativo/hipnótica. Os animais receberam tratamento com veículo (Tween 80 a 0,5 % em salina), OEPT (em doses crescentes) e diazepam (para o controle positivo). Com trinta minutos após a injeção das substâncias, os camundongos foram submetidos aos testes comportamentais descritos na figura 6.

Vale ressaltar que a administração das substâncias utilizou-se a via intraperitoneal, i.p., com volume de 0,1 ml/10g de peso corporal do camundongo. Um dos fatores que influenciam na obtenção do efeito desejado de uma droga é o método de aplicação da mesma, implicando em seu tempo de absorção (Montanha & Azevedo, 2004). A cavidade peritoneal é bem vascularizada, e os fármacos infundidos atingem níveis plasmáticos em cerca de 10 segundos (Lukas et al., 1971).

Nos estudos de Felipe et al (2007); Felterstein et al (2003); Garret et al (2003); Lee et al (2005); Manum et al (2011); Mao et al (2011); Smith et al (2001); Xie et al (2011) e Yao et al (2009), com plantas do gênero *Piper*, para investigação de atividades no SNC, também empregou-se essa mesma via de administração, o que reforçou sua escolha neste trabalho.

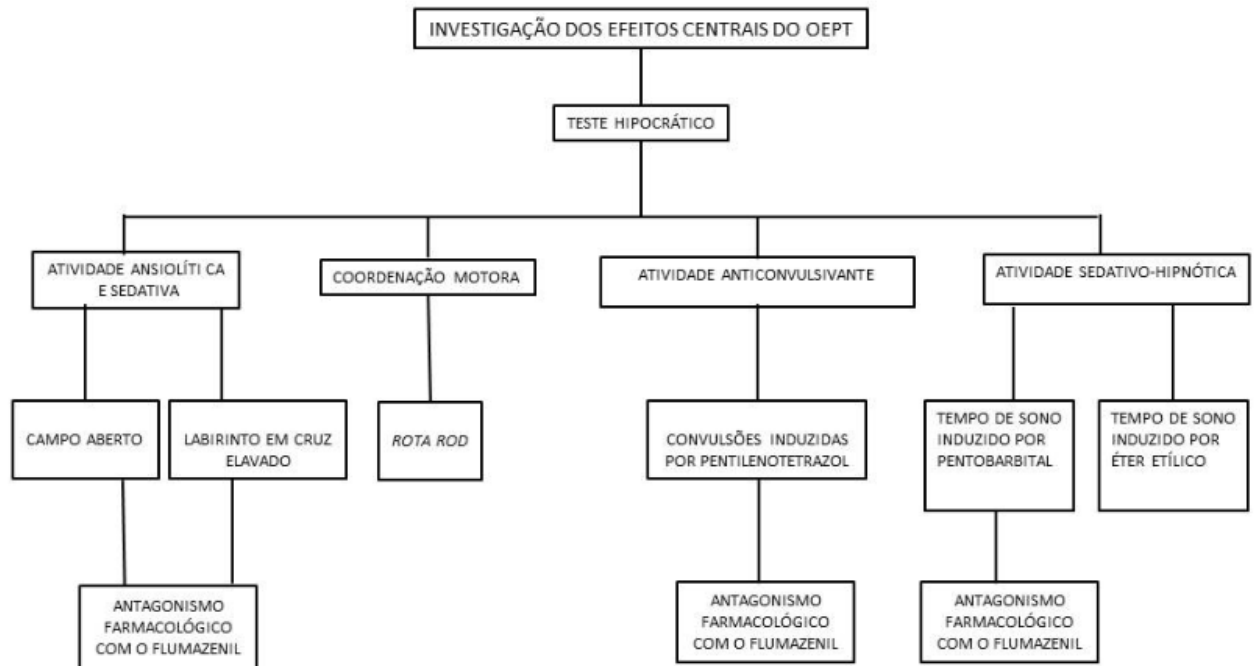


Figura 7: Fluxograma dos testes comportamentais para avaliação do efeito do OEPT

4.2.3.1. Teste hipocrático e Determinação da Dose Letal Mediana (DL₅₀)

Os efeitos gerais da administração aguda do OEPT foram avaliados de acordo com os as alterações descritas no modelo proposto por Malone (1977), caracterizando possíveis mudanças comportamentais resultantes de ações estimulantes ou depressoras do SNC, além de efeitos tóxicos e morte. Inicialmente os animais foram tratados com doses crescentes do OEPT (10 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg, 500 mg/kg, 1000 mg/kg, 2000 mg/kg e 5000 mg/kg), e observados os comportamentos nos seguintes tempos após o tratamento; 10 min., 30 min., 60 min., 120 min., 180 min., 240 minutos, e por 14 dias consecutivos, conforme tabela no anexo 4.

Para o registro dos sinais de toxicidade, foi seguido um padrão tabulado de zero a três cruces (0, +, ++, +++) correspondendo a 0: efeito ausente, +: efeito presente (leve); ++: efeito presente (moderado) e +++: efeito presente (intenso).

Os parâmetros observados relacionados às ações estimulantes foram: autolimpeza, convulsão clônica e tônica, irritabilidade, aumento da frequência respiratória, lamber patas, morder cauda, ambulação aumentada, movimentos estereotipados, piloereção, tremores finos

e grosseiros. Referente as ações depressoras, foram: analgesia (por teste de compressão da cauda do animal), anestesia (puxando o pêlo e suspendendo o animal), ataxia, diminuição da apreensão da pata, catatonía, dispneia, exoftalmia, diminuição da frequência respiratória, ambulação diminuída, diminuição do reflexo corneano, ptose palpebral e sedação. Outros parâmetros observados foram: agressividade, coloração da urina, diâmetro da pupila, diarreia, ereção da cauda, fasciculações, grunhidos, aumento ou diminuição da micção, aumento ou ausência da defecação, midríase, cianose, reação de fuga, tremor da cauda, lacrimejamento, hipotermia, letargia, coma e morte (Yamanaka, 2008).

A avaliação da toxicidade aguda da administração intraperitoneal do OEPT 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 423*, 2008).

4.2.3.2. Avaliação da atividade ansiolítica, sedativa e coordenação motora

Visando diminuir o número de animais por experimento, os testes do campo aberto, labirinto em cruz elevado e *rota rod*, foram realizados no mesmo dia e com os mesmos grupos de animais. Quanto à ordem de execução dos testes, os animais foram inicialmente submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado, seguido do teste do campo aberto e, por último, submetidos ao teste do *rota rod*.

Campo aberto

Este teste foi realizado para avaliar a atividade exploratória, ansiolítica (Archer, 1973) e locomotora (Courvoisier et al., 1996). O equipamento foi confeccionado em vidro (paredes transparentes e piso preto, 30 x 30 x 15 cm) e dividido em nove quadrantes iguais (10 x 10 cm). Após 30 minutos do tratamento i.p., com, veículo, OEPT (25, 50, 100, 200 e 400mg/kg) e diazepam 1 mg/kg (droga padrão para investigação ansiolítica), os animais foram colocados individualmente no centro do campo aberto. Durante cinco minutos registraram-se os seguintes parâmetros: número de cruzamentos (NC), quando o camundongo encontrava-se com as quatro patas dentro do mesmo quadrante e cruzava para outro; o número de *grooming*

(NG), ação de auto-limpeza; e por último o número de *rearing* (NR), postura na qual o animal fica na posição vertical, apoiado somente pelas patas traseiras sem encostar-se às paredes.

Posteriormente, para investigar o possível envolvimento da neurotransmissão GABAérgica, foi utilizado um antagonista do receptor GABA_A, o flumazenil. Os animais foram divididos em dois grupos pré-tratados com flumazenil 2,5 mg/kg, e 15 minutos após o pré-tratamento, os camundongos receberam DZP 1 mg/kg e OEPT 50 mg/kg. Com 30 minutos dos tratamentos, cada animal foi colocado no campo aberto para o registro do NC, NG e NR. É importante ressaltar que os mesmos grupos de animais foram submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado e *rota rod*.

Tabela 2 – Grupos experimentais para avaliação da atividade ansiolítica, sedativa e o mecanismo de ação do óleo essencial da *Piper tuberculatum* Jacq., no teste do CA.

Grupo	Tratamentos/via
CONT	1 mg/kg/i.p.
DZP	1 mg/kg/i.p.
OEPT	25 mg/kg/i.p.
OEPT	50 mg/kg/i.p.
OEPT	100 mg/kg/i.p.
OEPT	200 mg/kg/i.p.
OEPT	400 mg/kg/i.p.
FLU + DPZ	2,5 + 1 mg/kg/i.p.
FLU + OEPT	2,5 + 50 mg/kg/i.p.

Legenda:

CONT: controle

DZP: diazepam

OEPT: óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.

FLU: flumazenil



Figura 8: Campo aberto. Aparelho utilizado para avaliar atividade ansiolítica
Fonte: Sales, V. S., 2014.

Labirinto em cruz elevado

O teste do labirinto em cruz elevado é considerado um dos principais modelos para avaliar compostos com propriedade ansiolítica (Carobrez Bertoglio, 2005; Pellow et al., 1985). O aparelho consiste de dois braços abertos (32 x 6 cm) e dois fechados (31 x7x27cm), ambos opostos, em forma de cruz, conectados por uma plataforma central (5 x 5 cm), elevado a uma altura de 45 cm do nível do chão (Lister, 1987), como mostra a figura 8. Após 30 minutos do tratamento por via i.p., com, veículo, OEPT (25, 50, 100, 200 e 400mg/kg) e diazepam 1 mg/kg (droga padrão para investigação ansiolítica), os animais foram colocados individualmente no centro do aparelho com a cabeça voltada para um dos braços fechados. Durante cinco minutos foram registrados os seguintes parâmetros:

- Número de entradas nos braços abertos (NEBA).
- Número de entradas nos braços fechados (NEBF).
- Tempo de permanência nos braços abertos (TPBA).
- Tempo de permanência nos braços fechados (TPBF).

Posteriormente, para investigar o possível envolvimento do mecanismo GABAérgico, foi utilizado um antagonista do receptor GABA_A, o flumazenil. Os animais foram divididos em dois grupos pré-tratados com flumazenil 2,5 mg/kg, e 15 minutos após o pré-tratamento, os camundongos foram tratados com DZP 1 mg/kg e OEPT 50 mg/kg. Com 30 minutos dos tratamentos, cada animal foi colocado no labirinto em cruz elevado e durante 5 minutos foram registrados: NEBA, NEBF, TPBA, TPBF.

Tabela 3 – Grupos experimentais para avaliação da atividade ansiolítica e o mecanismo de ação do óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq. no teste do LCE.

Grupo	Tratamentos/via
CONT	1 mg/kg/i.p.
DZP	1 mg/kg/i.p.
OEPT	25 mg/kg/i.p.
OEPT	50 mg/kg/i.p.
OEPT	100 mg/kg/i.p.
OEPT	200 mg/kg/i.p.
OEPT	400 mg/kg/i.p.
FLU + DPZ	2,5 + 1 mg/kg/i.p.
FLU + OEPT	2,5 + 50 mg/kg/i.p.

Legenda:

CONT: controle

DZP: diazepam

OEPT: óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.

FLU: flumazenil

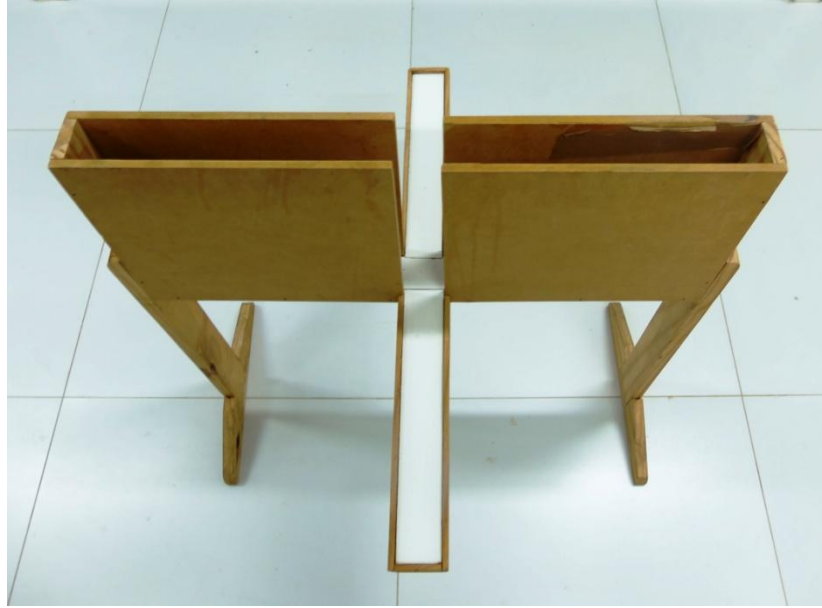


Figura 9: Labirinto em cruz elevado:. Aparelho utilizado para avaliar atividade ansiolítica
Fonte: Sales, V. S., 2014.

Rota rod

Para investigação do efeito de relaxamento muscular e incoordenação motora, foi utilizado o teste do *rota rod* (Carlini & Burgos, 1979). Neste experimento, os camundongos foram selecionados em uma sessão de treino 24 horas antes da execução do protocolo. O treino consistiu em colocar os animais com as quatro patas sobre uma barra giratória (16 rpm) com 2,5 cm de diâmetro, elevada a 25 cm do piso. Aqueles que permaneceram na barra giratória por mais de 180 segundos e que não caíram por 3 vezes consecutivas foram selecionados para o teste.

Com 24 horas após o treino, os animais aptos foram tratados com, veículo, OEPT (25, 50, 100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) e diazepam 5 mg/kg. Decorridos 30 minutos do tratamento, cada animal foi colocado individualmente com as quatro patas sobre a barra giratória, durante 1 minuto, sendo registrado os seguintes parâmetros: o número de quedas (NQ) sofridas (sendo o limite máximo de 3 quedas para cada animal) e o tempo de permanência (TP) na barra giratória (Dunham & Myia, 1957).

Tabela 4 – Grupos experimentais para avaliação da incoordenação motora dos animais tratados com o óleo essencial da *Piper tuberculatum* Jacq. no teste do *Rota rod*.

Grupo	Tratamentos/via
DZP	5 mg/kg/i.p.
CONT	1 mg/kg/i.p.
OEPT	25 mg/kg/i.p.
OEPT	50 mg/kg/i.p.
OEPT	100 mg/kg/i.p.
OEPT	200 mg/kg/i.p.
OEPT	400 mg/kg/i.p.

Legenda:

CONT: controle

DZP: diazepam

OEPT: óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.



Figura 10: Aparelho *Rota rod*

Fonte: Sales, VS., 2014

4.2.3.3. Avaliação da Atividade Anticonvulsivante

Convulsões induzidas por Pentilenotetrazol

Neste experimento os animais foram pré-tratados com, veículo, OEPT (100 e 200 e 400 mg/kg. i.p.) e diazepam 2 mg/kg, i.p. (droga padrão para efeito anticonvulsivante). Meia hora após a administração das drogas, cada animal recebeu uma injeção de pentilenotetrazol (80 mg/kg, i.p.) para indução das convulsões. Como parâmetros de avaliação, foi registrada a latência (em segundos) para o aparecimento da primeira convulsão (tônico-clônica generalizada) e a latência da morte (também em segundos). O tempo total de observação (*cut off time*) foi de 30 minutos (Lowson et al., 1990).

Para verificar o envolvimento do sistema GABAérgico nas convulsões induzidas por pentilenotetrazol foi utilizado neste experimento um antagonista do receptor GABA_A flumazenil. Os animais foram divididos e pré-tratados via i.p. com Flu 5 mg/kg, e após 15 minutos tratados com DZP 2 mg/kg e OEPT 200 mg/kg. Decorridos 30 minutos, cada animal recebeu uma dose de Pentilenotetrazol (80 mg/kg, i.p.) e logo em seguida foi registrada a latência para a 1ª convulsão e a latência para a morte.

Tabela 5 – Grupos experimentais para avaliação da atividade anticonvulsivante e o mecanismo de ação do óleo essencial da *Piper tuberculatum* Jacq. no teste de convulsões induzidas por Pentilenotetrazol.

Grupo	Tratamentos/via
CONT + PTZ	1 e 80 mg/kg/i.p.
DZP + PTZ	1 e 80 mg/kg/i.p.
OEPT + PTZ	100 e 80 mg/kg/i.p.
OEPT + PTZ	200 e 80 mg/kg/i.p.
OEPT + PTZ	400 e 80 mg/kg/i.p.
FLU + DZP + PTZ	5 + 2 + 80 mg/kg/i.p.
FLU + OEPT + PTZ	5 + 200 + 80 mg/kg/i.p.

Legenda:

CONT: controle

DZP: diazepam

OEPT: óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.

FLU: flumazenil

4.2.3.4. Avaliação da atividade hipnótico-Sedativa

Potencialização do tempo de sono induzido por barbitúrico

Neste teste, os animais foram pré-tratados com veículo, OEPT (100 mg/kg, 200 mg/kg 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, i.p. – 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).

Para verificar o envolvimento do sistema GABAérgico no efeito hipnótico foi utilizado o flumazenil. Os animais foram divididos e pré-tratados com flumazenil 5 mg/kg, e após 15 minutos tratados com DZP 2 mg/kg e OEPT 400 mg/kg. Com 30 minutos, cada animal recebeu uma dose de Pentobarbital 40 mg/kg, i.p. e logo em seguida foram registradas a latência e duração do sono.

Tabela 6 – Grupos experimentais para avaliação da atividade sedativo-hipnótica e o mecanismo de ação do óleo essencial da *Piper tuberculatum* Jacq., no teste de potencialização do tempo de sono induzido por pentobarbital.

Grupo	Tratamentos/via
CONT + PTB	1 + 40 mg/kg/i.p.
DZP + PTB	2 + 40 mg/kg/i.p.
OEPT + PTB	100 + 40 mg/kg, i.p.
OEPT + PTB	200 + 40 mg/kg/i.p.
OEPT + PTB	400 + 40 mg/kg/i.p.
FLU + DZP + PTB	5 + 2 + 40 mg/kg/i.p.
FLU + OEPT + PTB	5 + 400 + 40 mg/kg, i.p.

Leganda:

CONT: controle

DZP: diazepam

OEPT: óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.

FLU: flumazenil



Figura 11: Telha para avaliar a atividade hipnótico-sedativa

Fonte: Sales, VS., 2014.

Potencialização do tempo de sono induzido por Éter etílico

Este teste foi utilizado para avaliar a atividade sedativo/hipnótica do OEPT. Os animais foram pré-tratados com, veículo, OEPT (100 mg/kg, 200 mg/kg e 400 mg/kg) e diazepam 2 mg/kg. Decorridos 30 minutos, os animais foram colocados individualmente em uma câmara de vidro transparente (30 x 20 cm) saturada com éter etílico. Para saturação do ambiente, foi utilizada uma bola algodão pesando 6 gramas a qual foi embebida em éter etílico, sendo suspensa a 20 cm de altura em relação a base da câmara. O sistema fechado durante 5 minutos. Neste teste, os seguintes parâmetros foram registrados: latência para a perda do reflexo postural e tempo total de duração do sono (em segundos). O início do sono foi considerado a partir da perda do reflexo postural, terminando com a recuperação deste reflexo. Após a perda do reflexo, esperou-se 1 min. para retirada de cada animal da câmara e, em seguida, cada animal foi colocado em decúbito dorsal para registro do tempo total de sono.

Tabela 7 – Grupos experimentais para avaliação da atividade sedativo-hipnótica do óleo essencial da *Piper tuberculatum* Jacq. no teste de sono induzido com Éter etílico.

Grupo	Tratamentos/via
DZP	2 mg/kg/i.p.
CONT	1 mg/kg/i.p.
OEPT	100 mg/kg/i.p.
OEPT	200 mg/kg/i.p.
OEPT	400 mg/kg/i.p.

Legenda:

CONT: controle

DZP: diazepam

OEPT: óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.

4.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados que obedeceram a uma distribuição paramétrica foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) seguido pelo teste de Student Newman Keuls (*post hoc*). Para os dados não paramétricos foi utilizado o teste T. Em todas as análises estatísticas, os valores foram representados pela Média \pm Erro Padrão da Média (EPM), sendo considerado o nível crítico para rejeição da hipótese de nulidade menor que 0,05 ($p < 0,05$). Para determinação da DL_{50} , foi adotada a metodologia da OECD (2008), onde a análise foi realizada seguindo o software PROBITOS.

Todas as comparações estatísticas foram efetuadas utilizando-se o programa estatístico *Graph-Pad Prism 5.00.288*®.

5. RESULTADOS

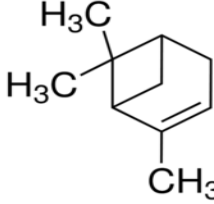
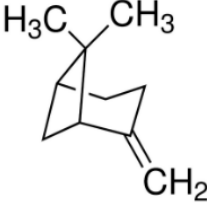
5.1. Análise da composição química do OEPT

O OEPT obtido por hidrodestilação apresentou rendimento de 0,34 %, e com a análise da composição química foi possível a identificação de 98,97% dos constituintes, sendo os seguintes compostos majoritários: β -pineno (27,74%) e o α -pineno (26,54%), como pode ser verificado na tabela abaixo.

Tabela 8 – Composição química do óleo essencial da *Piper tuberculatum*

Componentes	(%)	TR (min)
α-pineno	26,54	12,54
Sabineno	2,65	14,67
β - pineno	27,74	14,94
mirceno	1,55	15,53
limoneno	3,02	17,86
1,8-cineol	1,41	18,05
β - ocimeno	12,45	18,92
α -terpineol	0,81	27,70
α -copaeno	1,29	38,55
β -cariofileno	14,38	41,13
α -humuleno	1,26	43,22
germacreno D	1,09	45,10
nerolidol	0,94	47,37
espatulenol	1,02	47,86
oxido cariofileno	2,82	47,97
TOTAL	98,97	

Quadro 3 – Estrutura molecular do α – pineno e do β – pineno.

Constituintes	Estrutura
α - pineno	
β - pineno	

5.2. Efeitos do OEPT na triagem farmacológica comportamental e DL50

Os animais tratados com as doses do OEPT (10, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000 e 5000 mg/kg) via intraperitoneal, apresentaram algumas alterações comportamentais que indicaram efeito depressor no sistema nervoso central, como, ambulação reduzida e sedação. A piloereção também foi verificada, no entanto só a partir da dose de 500 mg/kg. O quadro 1 apresenta as principais alterações comportamentais.

Em relação a DL₅₀, o OEPT nas doses de 10, 50, 100, 200, 500, e 200 mg/kg, i.p. não provocou a morte de nenhum animal, em todo o período de observação. Houve mortes apenas com as doses de 1000 mg/kg com 25% de mortalidade e na dose de 5000 mg/kg, com mortalidade de 50%.

Para a determinação da DL₅₀, foi utilizado o software Probit. Após a aplicação deste método a DL₅₀ foi de aproximadamente 5000 mg/kg, i.p., conforme o **APÊNDICE 1**.

Tabela 9 : Alterações observadas no teste hipocrático

Dose, mg/kg, i.p.	Tempo (min.)	Efeitos observados
10	10	Ausência de alterações comportamentais
	30	Ausência de alterações comportamentais
	60	Ausência de alterações comportamentais
	120	Ambulação reduzida (++)
	180	Ambulação reduzida (++)
	240	Ambulação reduzida (++)
50	10	Ausência de alterações comportamentais
	30	Ambulação reduzida (++) , sedação (++)
	60	Ambulação reduzida (++) , sedação (++)
	120	Ambulação reduzida (++) , sedação (++)
	180	Ambulação reduzida (++) , sedação (++)
	240	Ambulação reduzida (++) , sedação (++)
100	10	Ausência de alterações comportamentais
	30	Ambulação reduzida (+++) , sedação (++)
	60	Ambulação reduzida (+++) , sedação (++)
	120	Ambulação reduzida (+++) , sedação (+++)
	180	Ambulação reduzida (+++) , sedação (+++)
	240	Ambulação reduzida (+++) , sedação (+++)
200	10	Ausência de alterações comportamentais
	30	Ambulação reduzida (++)
	60	Ambulação reduzida (+++)
	120	Ambulação reduzida (+)
	180	Ambulação reduzida (+)
	240	Ausência de alterações comportamentais
500	10	Ambulação reduzida (+++) , Piloereção (++)
	30	Ambulação reduzida (+++) , Piloereção (+++)
	60	Ambulação reduzida (+++) , Piloereção (+++)
	120	Ambulação reduzida (+++) , Piloereção (+++)
	180	Piloereção (++)
	240	Ambulação reduzida (++) , piloereção (++)
1000	10	Piloereção (+++)
	30	Ambulação reduzida (+++) , piloereção (+++)
	60	Ambulação reduzida (++) , piloereção (+++)
	120	Ambulação reduzida (+++) , piloereção (+++)
	180	Ambulação reduzida (++) , piloereção (+++)
	240	Ambulação reduzida (+) , piloereção (+++)
2000	10	Ambulação reduzida (++) , piloereção (+++)
	30	Ambulação reduzida (++) , piloereção (+++)
	60	Ambulação reduzida (+++) , piloereção (+++)
	120	Ambulação reduzida (++) , piloereção (+++)
	180	Piloereção (+++)
	240	Ambulação reduzida (+++) , piloereção (++)
5000	10	Ambulação reduzida (+++) , piloereção (+++)
	30	Ambulação reduzida (+++) , piloereção (+++)
	60	Ambulação reduzida (+++) , piloereção (+++)
	120	Ambulação reduzida (+++) , piloereção (+++)
	180	Ambulação reduzida (++) , piloereção (+++)
	240	Ambulação reduzida (++) , piloereção (++)

5.3. TESTES COMPORTAMENTAIS

5.3.1. Campo aberto

Após o tratamento com o OEPT, é verificado que no CA houve redução significativa do número de cruzamentos (NC) nas doses: 50 mg/kg ($60,8 \pm 2,4$); 100 mg/kg ($55,6 \pm 1,2$); 200 mg/kg ($56,6 \pm 1,8$) e 400 mg/kg ($47,8 \pm 1,9$) em relação ao grupo controle ($78,2 \pm 3,3$), respectivamente em 22,3%; 29 %, 27,6 % e 38, 8%. OEPT de 25 mg/kg ($75,0 \pm 3,8$), entretanto, não apresentou diferença significativa quando comparado ao grupo controle. O diazepam 1 mg/kg ($63,0 \pm 3,1$), reduziu o NC em 19,4%, comparado ao grupo controle, (figura 12).

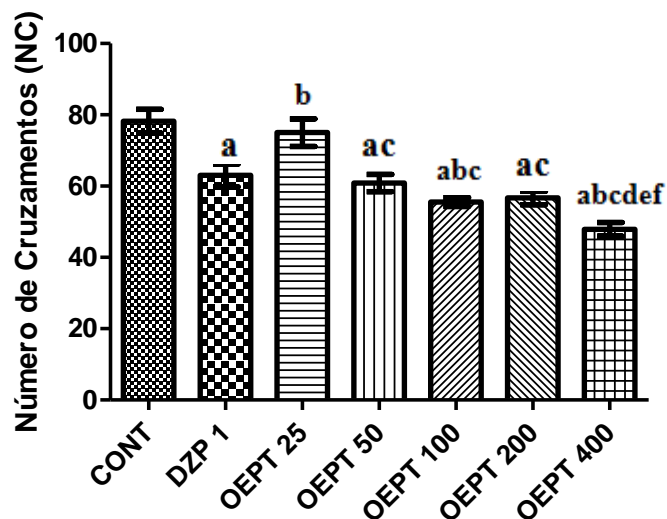


Figura 12: Efeito do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) nas doses de (25, 50, 100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre o número de cruzamentos (NC) dos camundongos submetidos ao campo aberto. As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls (teste *post hoc*); com valores significativos: a, b, c, d, f versus CONT, DZP 1, OEPT 25, OEPT 50, OEPT 100, OEPT 200 respectivamente quando $p < 0,05$. (a) CONT = salina 0,9% - 1mg/kg, (b) DZP 1 = Diazepam 1mg/kg, i.p., (c) OEPT 25 = OEPT 25mg/kg, i.p., (d) OEPT 50 = OEPT 50 mg/kg, i.p., (e) OEPT 100 = OEPT 100 mg/kg, i.p., (f) OEPT 200 = OEPT 200 mg/kg, i.p.

Com relação ao número de *grooming* (NG), o OEPT também promoveu redução significativa desta atividade nos grupos tratados com as doses: 25 mg/kg ($2,8 \pm 0,3$); 50 mg/kg ($2,6 \pm 0,2$); 100 mg/kg ($2,0 \pm 0,2$); 200 mg/kg ($2,0 \pm 0,2$) e 400 mg/kg ($1,4 \pm 0,1$), em relação ao grupo controle ($4,4 \pm 0,5$), respectivamente em 36,3%; 40,9%; 54,5%; 54,5% e 68,1%. O diazepam 1 mg/kg ($1,7 \pm 0,2$), reduziu em 61,3% comparado ao grupo controle, (figura 13).

Da mesma forma, o número de *rearing* (NR) foi reduzido nos grupos tratados com OEPT nas doses: 50 mg/kg ($2,4 \pm 0,7$); 100 mg/kg ($2,5 \pm 0,3$); 200 mg/kg ($2,6 \pm 0,4$) e 400 mg/kg ($1,2 \pm 0,3$) em relação ao grupo controle ($4,4 \pm 0,4$), respectivamente em, 45,4%; 43,1%; 40,1% e 72,7%. O diazepam 1 mg/kg ($1,0 \pm 0,2$), reduziu em 77,2% comparado ao grupo controle, (figura 13).

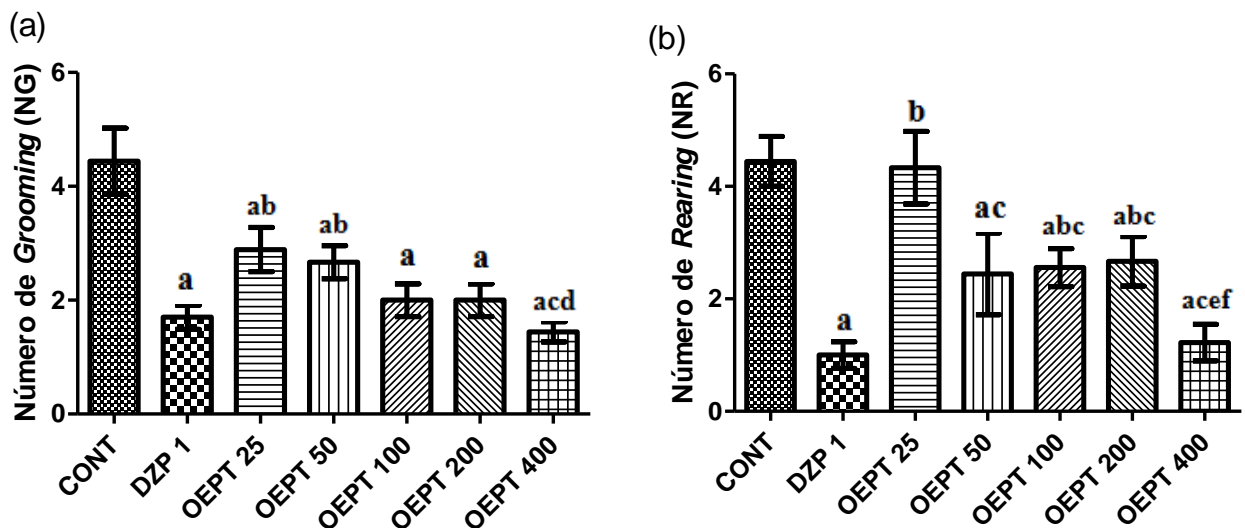


Figura 13: **A:** Efeito do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) nas doses de (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de *grooming* (NG) dos camundongos submetidos ao campo aberto. **B:** Efeito do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) nas doses de (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de *rearing* (NR) dos camundongos submetidos ao campo aberto. As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA, seguido de Student-Newman-Keuls (teste *post hoc*); com valores significativos: a, b, c, d, f versus CONT, DZP 1, OEPT 25, OEPT 50, OEPT 100, OEPT 200 respectivamente quando $p < 0,05$. (a) CONT = salina 0,9% - 1mg/Kg, (b) DZP 1 = Diazepam 1mg/kg, i.p., (c) OEPT 25 = OEPT 25mg/kg, i.p., (d) OEPT 50 = OEPT 50 mg/kg, i.p., (e) OEPT 100 = OEPT 100 mg/kg, i.p., (f) OEPT 200 = OEPT 200 mg/Kg, i.p.

Para investigar a participação dos receptores GABA_A no efeito observado, foi escolhida a dose de 100 mg/kg, por ser a dose mais efetiva em todos os parâmetros estudados. Nesta etapa, OEPT e diazepam, foram associados ao flumazenil, antagonista dos receptores GABA_A.

Após o tratamento dos animais foi observado que tanto o OEPT 50 mg/kg ($58,5 \pm 5,3$) e o DZP 1mg/kg ($62,0 \pm 3,0$) alteraram o número de cruzamentos, reduzindo respectivamente em 38,7 % e 35,7 %, comparando ao grupo controle ($95,5 \pm 6,9$). E quando feita a associação do flumazenil ao OPET 50 mg/kg ($77,4 \pm 2,8$), houve reversão parcial do efeito, com aumento do NC em 32,3 % , quando comparado ao OEPT 50 mg/kg isolado. Ainda neste parâmetro, o flumazenil associado ao DZP 1 mg/kg ($102,0 \pm 8,6$), também aumentou o NC em 64,5 %, havendo reversão total, em comparação ao DZP 1 mg/kg isolado, (figura 14).

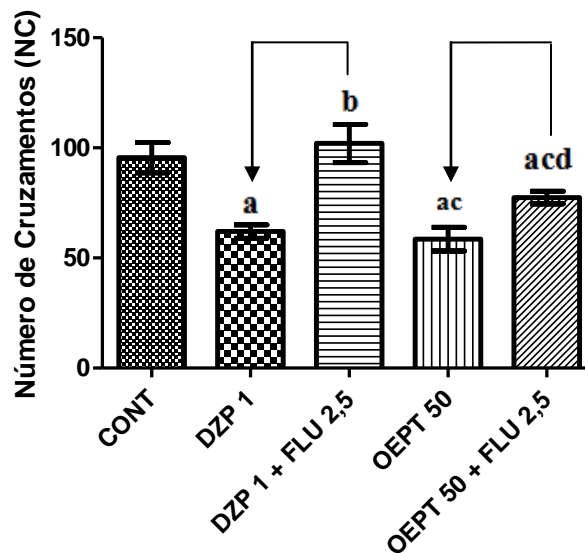


Figura 14: Investigação do mecanismo de ação do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.), com a dose de 50 mg/kg, sobre no número de cruzamentos (NC) dos camundongos submetidos ao campo aberto. As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls (teste *post hoc*); com valores significativos: a, b, c, d, versus CONT, DZP 1, DZP 1 + FLU 2,5, OEPT 50, respectivamente quando $p < 0,05$. (a) CONT = salina 0,9% - 1mg/kg, (b) DZP 1 = Diazepam 1mg/kg, i.p., (c) DZP 1+ FLU 2,5: Diazepam 1mg/kg + Flumazenil 2,5 mg/kg, i.p., (d) OEPT 50: OEPT 50 mg/kg, i.p.

Quanto ao número de *grooming*, o OEPT 50 mg/kg ($1,8 \pm 0,3$) e o DZP 1 mg/kg ($1,6 \pm 0,2$), reduziram esta atividade em 41,9 % e 48,3 %, respectivamente, quando comparados ao controle ($3,1 \pm 0,4$). Quando o flumazenil foi associado ao OEPT 50 mg/kg ($3,4 \pm 0,2$), houve aumento do NG em 88,8 %, revertendo parcialmente o efeito, quando comparado ao OEPT 50 mg/kg isolado. Resultado semelhante foi verificado no grupo flumazenil associado ao DZP 1 mg/kg ($4,7 \pm 0,4$), onde o antagonista reverteu também em caráter total o NG, ao aumentar

este parâmetro em 193,7 % , quando comparado com o grupo DZP 1 mg/kg isolado, (figura 15).

Logo após a análise do número de *rearing*, observou-se que o OEPT 50 mg/kg ($2,0 \pm 0,5$) e o DZP 1 mg/kg ($1,1 \pm 0,2$), promoveram redução do NG, respectivamente em 51, 2 % e 73, 1 %, comparados ao controle ($4,1 \pm 0,4$). De forma semelhante aos resultados anteriores, a associação do flumazenil ao OEPT 50 mg/kg ($4,5 \pm 0,8$) reverteu a atividade em 125%, assim como o flumazenil associação ao DZP 1 mg/kg ($4,0 \pm 0,5$), que aumentou o NG em 263 % quando comparado ao DZP 1 ($1,1 \pm 0,2$) isoladamente, havendo reversão total do efeito (figura 15).

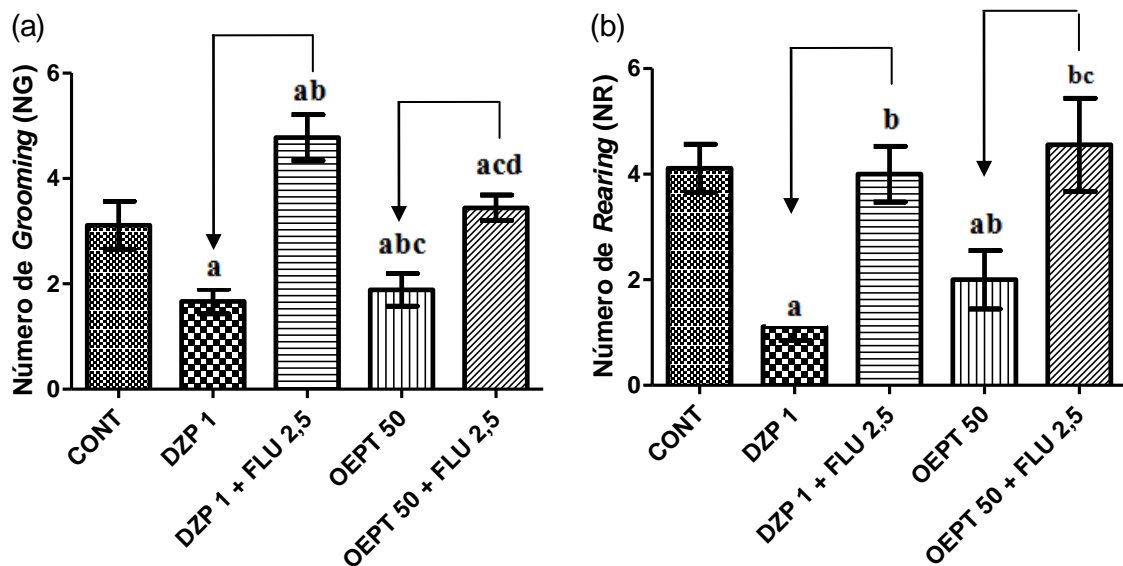


Figura 15: A: Investigação do mecanismo de ação do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.), com a dose de 50 mg/kg, sobre no número de *grooming* (NG) dos camundongos submetidos ao campo aberto. **B:** Investigação do mecanismo de ação do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.), com a dose de 50 mg/kg, sobre no número de *grooming* (NG) dos camundongos submetidos ao campo aberto. As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls (teste *post hoc*); com valores significativos: a, b, c, d, versus CONT, DZP 1, DZP 1 + FLU 2,5, OEPT 50, respectivamente quando $p < 0,05$. (a) CONT = salina 0,9% - 1mg/kg, (b) DZP 1 = Diazepam 1mg/kg, i.p., (c) DZP 1+ FLU 2,5: Diazepam 1mg/kg + Flumazenil 2,5 mg/kg, i.p., (d) OEPT 50: OEPT 50 mg/kg, i.p.

5.3.2. Labirinto em Cruz Elevado

Na investigação do efeito tipo ansiolítico, foi observado no labirinto em cruz elevado aumento no número de entrada nos braços abertos (NEBA), com os animais tratados com OEPT nas doses de: 25 mg/kg ($4,6 \pm 0,4$); 50 mg/kg ($4,6 \pm 0,2$); 100 mg/kg ($4,2 \pm 0,4$); 200 mg/kg ($5,1 \pm 0,2$) e 400 mg/kg ($5,1 \pm 0,5$) em relação ao grupo controle ($2,6 \pm 0,3$) respectivamente em, 76,9%; 76,9%; 61,5%; 96,1%; 96,1%. O grupo tratado com diazepam 1 mg/kg ($12,4 \pm 1,1$), aumentou o NEBA em 376,9%, comparado ao controle (figura 16).

Em relação ao número de entradas nos braços fechados (NEBF), foi observada redução desse parâmetro nos grupos tratados com o OEPT nas doses de: 25 mg/kg ($9,8 \pm 0,5$), 50 mg/kg ($9,4 \pm 0,3$), 100 mg/kg ($9,2 \pm 0,2$), 200 mg/kg ($9,3 \pm 0,5$) e 400 mg/kg ($9,1 \pm 0,2$), em relação ao grupo controle ($13,2 \pm 0,5$), respectivamente em, 25,7%; 28,7%; 30,3%; 29,5% e 31%. Além disso, o grupo tratado com diazepam 1 mg/kg ($8,6 \pm 1,3$), reduziu o NEBF em 34,8% em relação ao controle, (figura 16).

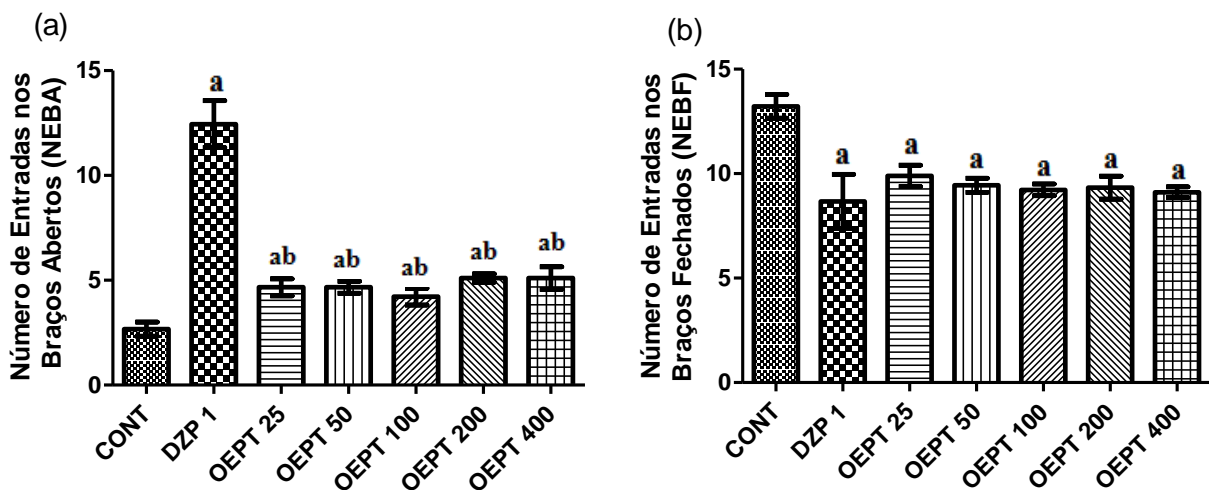


Figura 16: **A:** Efeito do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) nas doses de (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de entradas dos camundongos nos braços abertos (NEBA) no labirinto em cruz elevado. **B:** Efeito do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) nas doses de (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de entradas dos camundongos nos braços fechados (NEBF) no labirinto em cruz elevado. As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls (teste *post hoc*); com valores significativos: a, b, c, d, f. versus CONT, DZP 1, OEPT 25, OEPT 50, OEPT 100, OEPT 200, respectivamente quando $p < 0,05$. (a) CONT = salina 0,9% - 1mg/Kg, (b) DZP 1 = Diazepam 1mg/kg, i.p., (c) OEPT 25 = OEPT 25mg/kg, i.p., (d) OEPT 50 = OEPT 50 mg/kg, i.p., (e) OEPT 100 = OEPT 100 mg/kg, i.p., (f) OEPT 200 = OEPT 200 mg/Kg, i.p.

Com relação ao tempo de permanência nos braços abertos, foi observado aumento deste parâmetro nos animais tratados com as doses do OEPT de: 25 mg/kg ($59,7 \pm 11,8$); 50 mg/kg ($61,2 \pm 6,6$); 100 mg/kg ($67 \pm 6,9$); 200 mg/kg ($72 \pm 6,4$) e 400 mg/kg ($64,7 \pm 6,9$) em relação ao grupo controle ($28,5 \pm 2,5$), respectivamente em, 109,4%; 114,7%; 135,0%; 152,6% e 127%. O grupo tratado com diazepam 1 mg/kg ($179,2 \pm 15,6$) aumentou o TPBA em 528,7%, em relação ao controle, (figura 17).

Referente ao tempo de permanência nos braços fechados (TPBF) foi observada redução desse parâmetro nos grupos tratados com o OEPT nas doses de: 25 mg/kg ($166,9 \pm 6,0$), 50 mg/kg ($166,1 \pm 8,4$), 100 mg/kg ($166,7 \pm 3,5$), 200 mg/kg ($156,3 \pm 9,3$) e 400 mg/kg ($156,3 \pm 9,0$) quando comparado ao grupo controle ($200,1 \pm 5,2$), respectivamente em, 16,5%; 16,9%; 16,6%; 21,8% e 21,8%. Com o grupo tratado com diazepam 1 mg/kg ($82,7 \pm 11,6$), houve redução do TPBF em 58,6% em relação ao controle (figura 17).

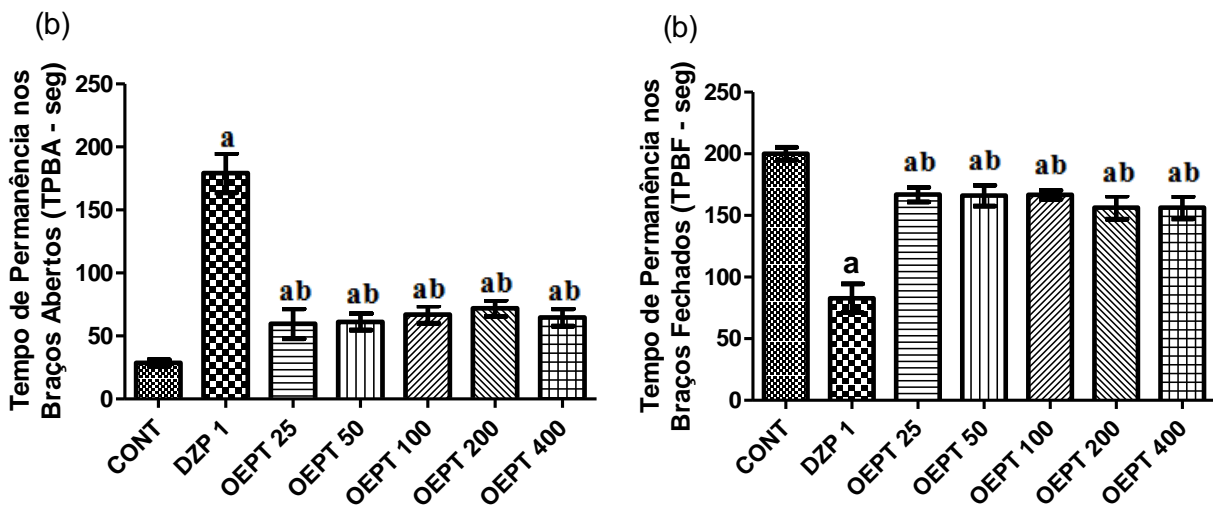


Figura 17: **A:** Efeito do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) nas doses de (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o tempo de permanência dos camundongos nos braços abertos (TPBA) no labirinto em cruz elevado. **B:** Efeito do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) nas doses de (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o tempo de permanência dos camundongos nos braços fechados (TPBF) no labirinto em cruz elevado. As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls (teste *post hoc*); com valores significativos: a, b, c, d, f versus CONT, DZP 1, OEPT 25, OEPT 50, OEPT 100, OEPT 200, respectivamente quando $p < 0,05$. (a)CONT = salina 0,9% - 1mg/Kg, (b) DZP 1 = Diazepam 1mg/kg, i.p., (c) OEPT 25 = OEPT 25mg/kg, i.p., (d) OEPT 50 = OEPT 50 mg/kg, i.p., (e) OEPT 100 = OEPT 100 mg/kg, i.p., (f) OEPT 200 = OEPT 200 mg/Kg, i.p.

Do mesmo modo que no campo aberto, foi investigada a participação dos receptores GABA_A no efeito observado com o OEPT no teste do labirinto em cruz elevado.

Após o tratamento dos animais, foi observado que o OEPT 50 mg/kg ($4,8 \pm 0,4$) e o DZP 1 mg/kg ($12,2 \pm 1,1$), aumentaram mais o NEBA quando comparado ao controle ($2,4 \pm 0,2$), respectivamente em, 100% e 408%. Quando feita a associação do flumazenil ao OEPT 50 mg/kg ($2,3 \pm 0,4$), houve reversão total do efeito, com redução do NEBA em 52%, comparado ao grupo OEPT 50 mg/kg isolado. Desse mesmo modo, o flumazenil associado ao DZP 1 mg/kg ($7,0 \pm 1,3$) reduziu em 42,6 % o NEBA, revertendo parcialmente o efeito quando comparado ao grupo DZP 1 mg/kg isolado, (figura 18).

No NEBF o OEPT 50 mg/kg ($8,4 \pm 0,5$) e o DZP 1 mg/kg ($8,4 \pm 0,5$) reduziram o parâmetro em 46, 4% e 43,9 %, quando comparados ao controle ($15,7 \pm 1,2$). Com relação ao antagonismo, o flumazenil reverteu totalmente o efeito do OEPT 50 mg/kg ($12,2 \pm 1,1$), ao aumentar o NEBF em 45,2 %, quando comparado ao grupo OEPT 50 mg/kg isolado. Como já era esperado, o flumazenil reverteu totalmente o efeito do DZP 1 mg/kg ($16,4 \pm 1,0$), aumentando o NEBF em 86,3 %, em comparação ao grupo DZP 1 mg/kg isolado, como pode ser verificado na figura 18.

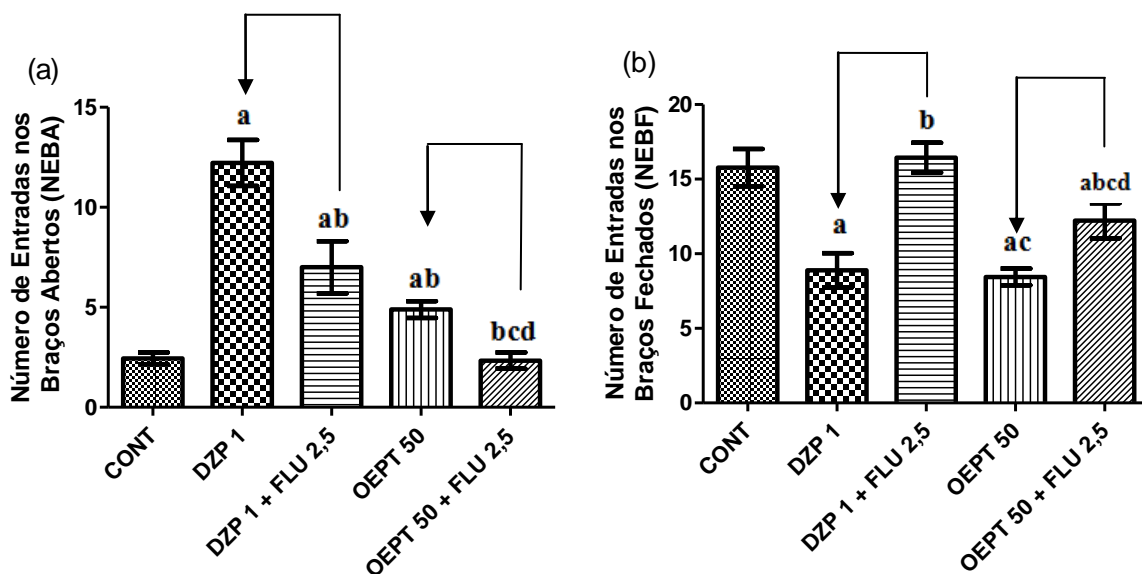


Figura 18: **A:** Investigação do mecanismo de ação do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.), com a dose de 50 mg/kg, sobre o número de entradas dos camundongos nos braços abertos (NEBA) no labirinto em cruz elevado. **B:** Investigação do mecanismo de ação do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.), com a dose de 50 mg/kg, sobre o número de entradas dos camundongos nos braços fechados (NEBF) no labirinto em cruz elevado. As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls (teste *post hoc*); com valores significativos: a, b, c, d versus CONT, DZP 1, DZP 1 + FLU 2,5, OEPT 50, respectivamente quando $p < 0,05$. (a) CONT = salina 0,9% - 1mg/kg, (b) DZP 1 = Diazepam 1mg/kg, i.p., (c) DZP 1+ FLU 2,5: Diazepam 1mg/kg + Flumazenil 2,5 mg/kg, i.p., (d) OEPT 50: OEPT 50 mg/kg, i.p.

Quando observado o TPBA, tanto o OEPT 50 ($59,0 \pm 4,4$) quanto o DZP 1 ($226,0 \pm 18,3$), aumentaram o parâmetro comparado ao controle ($28,2 \pm 2,5$), respectivamente em 109,

2% e 243, 2 %. No entanto, o flumazenil associado ao OEPT 50 mg/kg ($24,4 \pm 3,6$) reduziu o parâmetro em 58, 6 %, em comparação ao OEPT 50 mg/kg isolado, havendo reversão total do efeito. O mesmo ocorreu quando o flumazenil associado ao DZP 1 mg/kg ($44,3 \pm 7,2$), ao reduzir em 80,3 % o TPBA quando comparado ao grupo DZP 1 mg/kg isolado, (figura 19).

Com relação ao TPBF, o OEPT 50 ($156,8 \pm 10,2$) e o DZP 1 ($81,2 \pm 11,9$) reduziram o parâmetro respectivamente em 28,9% e 63,1%, quando comparados ao controle ($220,6 \pm 6,7$). Diferente dos resultados anteriores, o flumazenil associado ao OEPT 50 mg/kg ($156,0 \pm 10,3$), não promoveu quaisquer alterações sobre o TPBF, em comparação com o grupo OEPT 50 mg/kg isolado. O flumazenil associado ao DZP 1 mg/kg ($155,8 \pm 12,6$) também não promoveu quaisquer alterações sobre o parâmetro em questão (figura 19).

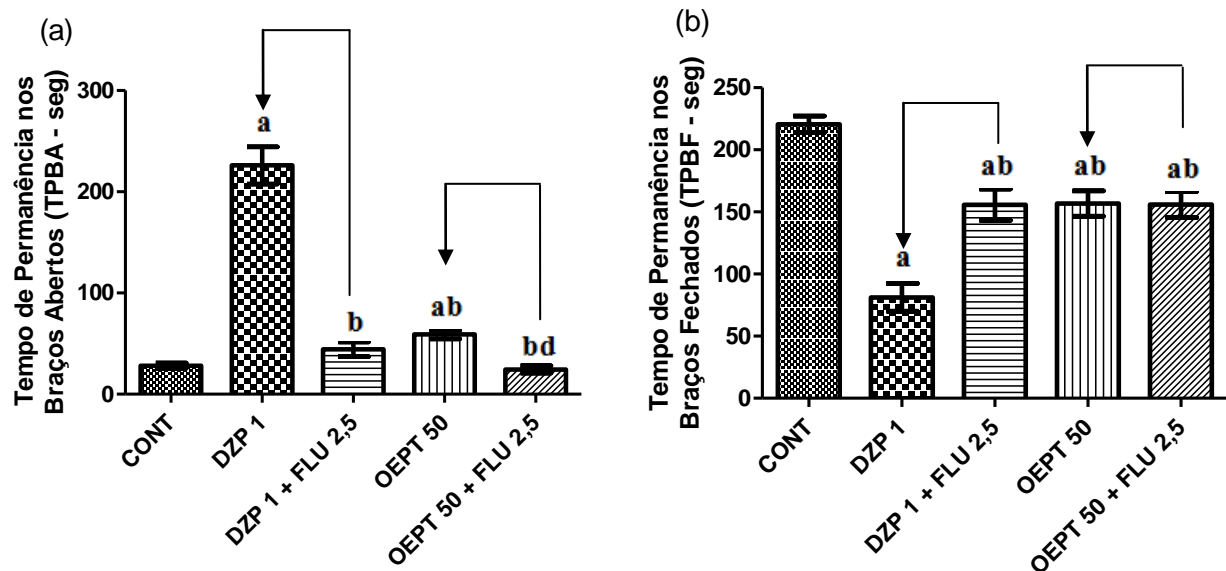


Figura 19: **A:** Investigação do mecanismo de ação do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.), com a dose de 50 mg/kg, sobre o tempo de permanência dos camundongos nos braços abertos (TPBA) no labirinto em cruz elevado. **B:** Investigação do mecanismo de ação do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.), com a dose de 50 mg/kg, sobre o tempo de permanência dos camundongos nos braços fechados (TPBF) no labirinto em cruz elevado. As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls (teste *post hoc*); com valores significativos: a, b, c, d, versus CONT, DZP 1, DZP 1 + FLU 2,5, OEPT 50, respectivamente quando $p < 0,05$. (a) CONT = salina 0,9% - 1mg/kg, (b) DZP 1 = Diazepam 1mg/kg, i.p., (c) DZP 1+ FLU 2,5: Diazepam 1mg/kg + Flumazenil 2,5 mg/kg, i.p., (d) OEPT 50: OEPT 50 mg/kg, i.p.

5.3.3. Rota rod

No teste do *rota rod*, o OEPT não apresentou efeito sobre a coordenação motora (tempo de permanência sobre a barra giratória e número de quedas) dos camundongos submetidos ao experimento. O diazepam 5 mg/kg ($52,0 \pm 2,4$), reduziu significativamente em 12,7%, o tempo de permanência dos animais na barra giratória em relação ao controle ($59,6 \pm 0,3$), enquanto que no número de quedas, o diazepam 5 mg/kg ($1,5 \pm 0,3$) aumentou em 1400% o em relação ao grupo controle ($0,1 \pm 0,1$).

Tabela 10: Efeito do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) nas doses de (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o tempo de permanência e número de quedas dos camundongos na barra giratória. Os resultados foram analisados através da ANOVA, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls (teste *post hoc*); com valores significativos: a, versus CONT, respectivamente quando $p < 0,05$. (a) CONT = salina 0,9% - 1mg/Kg,

Grupos	Número de quedas	Tempo de permanência (segundos)
CONT	$0,1 \pm 0,1$	$59,6 \pm 0,3$
DZP 5	$1,5 \pm 0,3^a$	$52,0 \pm 2,4^a$
OEPT 25	0	60
OEPT 50	0	60
OEPT 100	0	60
OEPT 200	0	60
OEPT 400	$0,1 \pm 0,1$	$59,7 \pm 0,2$

5.3.4. Convulsões induzidas por Pentilenotetrazol

No teste das convulsões induzidas com Pentilenotetrazol, cujo objetivo foi investigar o efeito anticonvulsivante e neuroprotetor do OEPT, foi observado aumento significativo para a latência da primeira convulsão apenas com a dose do OEPT de 200 mg/kg ($269,9 \pm 58,0$) em 94,0%, comparado ao grupo controle ($139,1 \pm 10,6$). O OEPT nas doses de 100 mg/kg ($170,6 \pm 17,5$) e 400 mg/kg ($197,7 \pm 109,7$) não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle. O diazepam 2 mg/kg ($1800 \pm 0,00$) também aumentou de forma significativa a latência para primeira convulsão em 1194,0%, em relação ao grupo controle, como está indicado na figura 20.

Em se tratando do tempo de morte, foi observado aumento desse parâmetro em todas as doses testadas: OEPT 100 mg/kg ($840,3 \pm 132,9$); OEPT 200 mg/kg ($1369 \pm 215,5$) e OEPT 400 mg/kg ($1505 \pm 179,5$) respectivamente em, 80,2%; 193,7% e 222,8%, quando comparados ao grupo controle ($466,1 \pm 97,9$). O diazepam 2 mg/Kg ($1800 \pm 0,00$) aumentou de forma significativa a latência para primeira convulsão em 286,1 %, em relação ao grupo controle. Na figura 20, são representados os dois parâmetros.

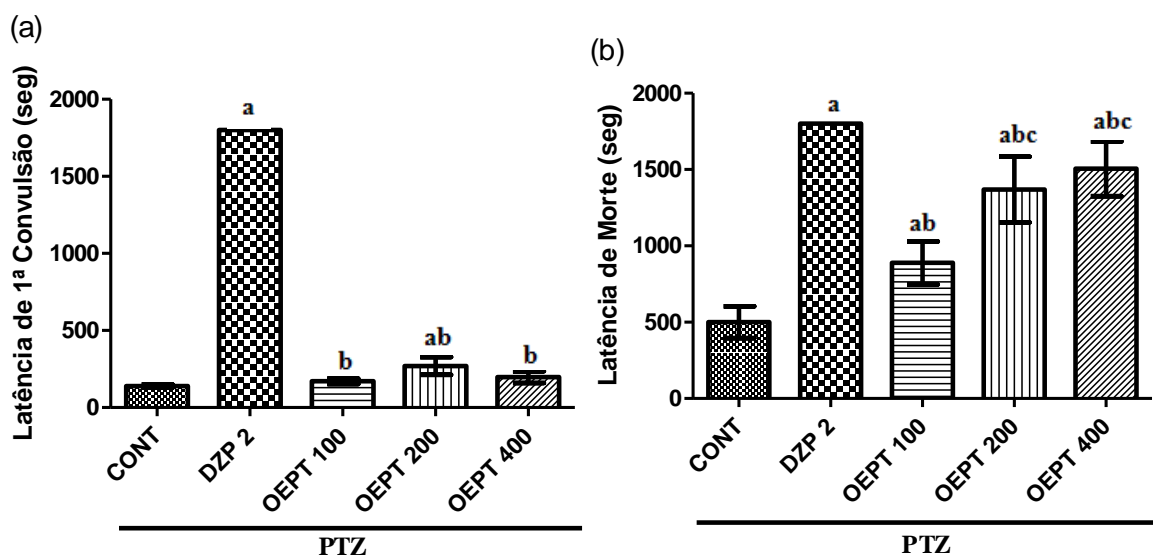


Figura 20: **A:** Efeito do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) nas doses de (100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre a latência da primeira convulsão induzida com pentilenotetrazol (PTZ). **B:** Efeito do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) nas doses de (100 e 200 mg/Kg, i.p.) sobre a latência da morte em convulsões induzidas com pentilenotetrazol (PTZ). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido pelo teste de Student Newman Keuls (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c, versus CONT, DZP 1, OEPT 100, respectivamente quando $p < 0,05$. (a) CONT = salina 0,9% - 1mg/Kg, (b) DZP 1 = Diazepam 1mg/kg, i.p., (c) OEPT 100 = OEPT 100mg/kg, i.p.

Quando investigado o mecanismo de ação no teste de convulsões induzidas por PTZ, o OEPT 200 mg/kg ($261,4 \pm 56,9$) aumentou a latência para 1ª convulsão em 96,2%, e o DZP 1 mg/kg ($1800 \pm 0,0$) aumento em 1245%, quando ambos comparados ao grupo controle ($133,8 \pm 9,5$). O flumazenil quando associado ao OEPT 200 mg/kg ($111,7 \pm 27,1$), reduziu parcialmente a latência de primeira convulsão em 57,4%, em relação ao grupo OEPT 200 mg/kg isolado. O flumazenil também reverteu parcialmente o efeito do DZP 2 mg/kg ($642,8 \pm$

147,5), ao reduzir o parâmetro em 64, 2 %, quando comparado ao grupo DZP 2 mg/kg isolado, (figura 21).

Na latência para a morte, o OEPT 200 mg/kg ($1374 \pm 206,5$) e o DZP 2 mg/kg ($1800 \pm 0,0$), aumentaram a latência para a morte, respectivamente em 221, 7% e 320 %, quando comparados ao grupo controle ($427,8 \pm 30,1$). O flumazenil associado ao OEPT 200 ($802,7 \pm 68,1$) reverteu parcialmente o efeito, ao reduzir em 41, 6% a latência, quando comparado ao grupo tratado isoladamente com OEPT 200 mg/kg. Do mesmo modo, o flumazenil reverteu o efeito do DZP 2 mg/kg ($858,1 \pm 138,2$), em 52,3 %, quando comparado ao grupo tratado com DZP 2 mg/kg ($1800 \pm 0,0$) sozinho, como pode ser verificado na figura 21.

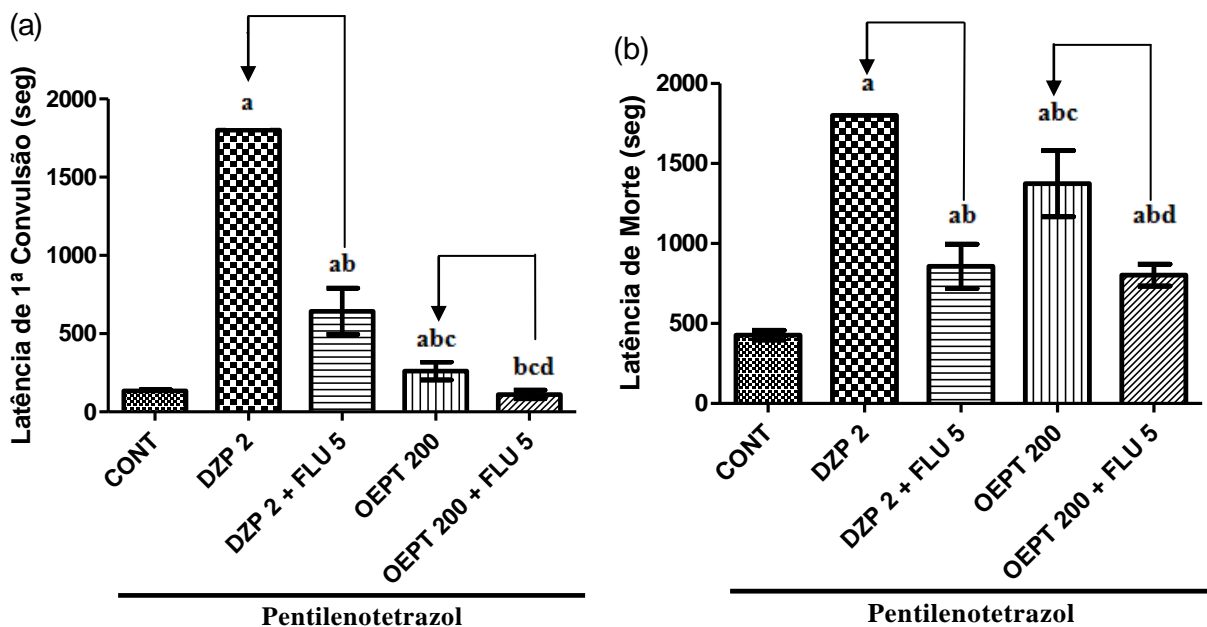


Figura 21: **A:** Investigação do mecanismo de ação do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) na dose de 400 mg/kg, i.p.) sobre a latência da primeira convulsão induzida com pentilenotetrazol (PTZ). **B:** Investigação do mecanismo de ação do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) na dose de 400 mg/kg, i.p.) sobre a latência para a morte no teste de convulsões induzidas com pentilenotetrazol (PTZ). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls (teste *post hoc*); com valores significativos: a, b, c, d, versus CONT, DZP 1, DZP 1 + FLU 2,5, OEPT 200, respectivamente quando $p < 0,05$. (a) CONT = salina 0,9% - 1mg/kg, (b) DZP 1 = Diazepam 1mg/kg, i.p., (c) DZP 1+ FLU 5: Diazepam 1mg/kg + Flumazenil 5 mg/kg, i.p., (d) OEPT 200: OEPT 200 mg/kg, i.p.

5.3.5. Tempo de sono induzido com Pentobarbital

Quanto ao efeito sedativo-hipnótico do OEPT, todas as doses testadas apresentaram redução da latência para o sono, conforme os resultados obtidos: OEPT 100 mg/kg ($252,0 \pm 19,1$), OEPT 200 mg/kg ($259,9 \pm 35,6$) e OEPT 400 mg/kg ($176,0 \pm 10,4$), respectivamente em 34,3%; 32,2% e 54,1%, comparados ao grupo controle ($383,6 \pm 25,7$). O diazepam 2 mg/kg ($160,0 \pm 29,9$) também reduziu a latência em 58,2%, em relação ao controle, (figura 22).

Na duração do sono, apenas OEPT 400 mg/kg ($4428 \pm 208,5$) aumentou a duração do sono quando comparado ao grupo controle ($3005 \pm 209,6$), em 47,3%. OEPT nas doses de 100 mg/kg ($2821 \pm 173,4$) e 200 mg/kg ($2977 \pm 178,8$) não apresentaram alterações significativas quando comparadas ao grupo controle. O diazepam 2 mg/kg ($5614 \pm 381,9$), aumentou significativamente a duração do sono em 86,8 % em relação ao controle. Na figura 22, podem ser verificados ambos os parâmetros.

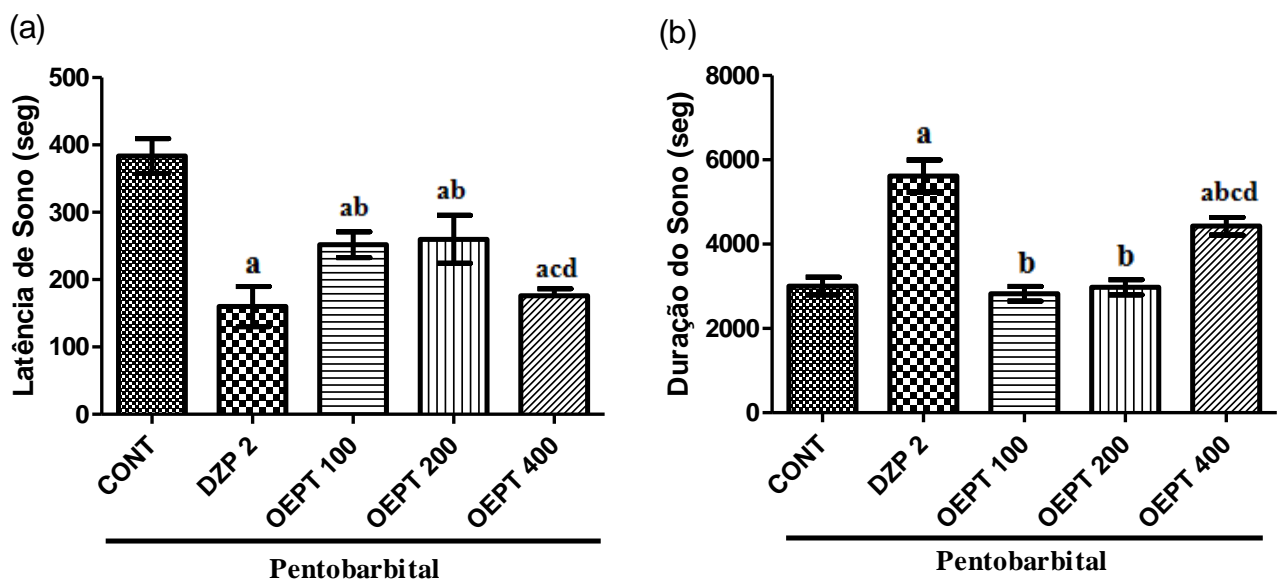


Figura 22: **A:** Efeito do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) nas doses de (100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre a latência do sono em camundongos tratados com Pentobarbital (PTB). **B:** Efeito do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) nas doses de (100, 200 e 400mg/kg, i.p.) sobre a duração do sono em camundongos tratados com Pentobarbital (PTB). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido pelo teste de Student Newman Keuls (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c, e d, versus CONT, DZP 1, OEPT 100, OEPT 200 respectivamente quando $p < 0,05$. (a) CONT = salina 0,9% - 1mg/Kg, (b) DZP 1 = Diazepam 1mg/kg, i.p., (c) OEPT 100 = OEPT 100 mg/kg, i.p., (d) OEPT 200 = OEPT 200 mg/Kg, i.p.

Durante a investigação do mecanismo de ação neste teste, observa-se que o OEPT 400 mg/kg ($144,3 \pm 10,3$) e o DZP 2 mg/kg ($103,1 \pm 6,8$), reduziram a latência para o sono respectivamente em 61,6 % e 72,6 %, em comparação ao grupo controle ($376,7 \pm 14,2$). O flumazenil associado ao OEPT 400 mg/kg ($262,1 \pm 29,3$) aumentou a latência em 81,3 %, comparado ao grupo OEPT 400 mg/kg sozinho, revertendo a atividade parcialmente. Do mesmo modo houve reversão parcial do efeito quando o flumazenil foi associado ao grupo DZP 2 mg/kg ($259,3 \pm 18,3$), com aumento da latência em 151,5 %, comparado ao grupo DZP 2 mg/kg isolado, (figura 23).

Quanto à duração do sono, o OEPT 400 mg/kg ($4789 \pm 291,4$) e o DZP 2 mg/kg ($8123 \pm 643,6$), aumentaram este parâmetro, respectivamente em 217,7 % e 439 %, comparados ao controle ($1507 \pm 125,8$). No entanto, houve reversão parcial do efeito quando o flumazenil foi associado ao OEPT 400 ($1767 \pm 187,2$), em 63, 1 %, comparado ao grupo OEPT 400 mg/kg isolado. Como já era esperado o flumazenil associado ao DZP 2 mg/kg ($3034 \pm 346,7$) reduziu a duração do sono em 62,6 %, quando comparado ao grupo DZP 2 mg/kg isolado, havendo também reversão parcial do efeito (figura 23).

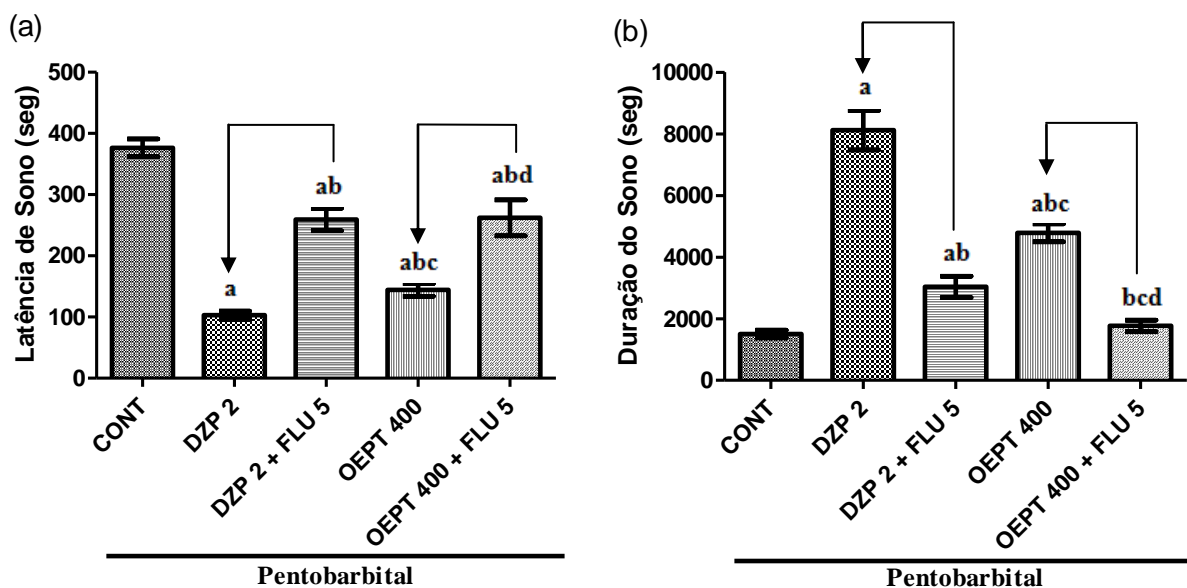


Figura 23: A: Investigação do mecanismo de ação do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) na dose de 400 mg/kg, i.p.), sobre a latência do sono em camundongos tratados com Pentobarbital (PTB). **B:** Investigação do mecanismo de ação do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) na dose de 400 mg/kg, i.p.), sobre a duração do sono em camundongos tratados com Pentobarbital (PTB). As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls (teste *post hoc*); com valores significativos: a, b, c, d, versus CONT, DZP 1, DZP 1 + FLU 2,5, OEPT 400, respectivamente quando $p < 0,05$. (a) CONT = salina 0,9% - 1mg/kg, (b) DZP 1 = Diazepam 1mg/kg, i.p., (c) DZP 1+ FLU 5: Diazepam 1mg/kg + Flumazenil 5 mg/kg, i.p., (d) OEPT 400: OEPT 400 mg/kg, i.p.

5.3.6. Tempo de sono com éter etílico

Neste experimento foi avaliado o efeito sedativo-hipnótico do OEPT no sono induzido por éter etílico observando-se dois parâmetros, a latência para perda do reflexo postural e duração do sono. Através da análise da latência para perda do reflexo postural, foi observado aumento desse parâmetro nos animais tratados com as doses do OEPT de 100 mg/kg ($24,8 \pm 1,4$); 200 mg/kg ($25,4 \pm 1,0$) e 400 mg/kg ($35,7 \pm 1,8$), em relação ao controle ($18,2 \pm 0,8$), respectivamente em, 37,7%, 41,1% e 96,15 %. Por sua vez, o diazepam 2 mg/kg ($25,5 \pm 1,8$), aumentou a latência para o sono em 41,6%, quando comparado com o controle, (figura 24).

Com relação ao segundo parâmetro de observação, foi observado aumento na duração do sono dos animais tratados com OEPT nas doses: 100 mg/kg ($195,2 \pm 10,6$), 200 mg/kg ($175,4 \pm 8,7$) e 400 mg/kg ($266,9 \pm 9,2$), respectivamente em 163 %; 136,3% e 259 %, quando comparado ao controle ($74,2 \pm 4,4$). Quanto ao diazepam 2 mg/kg ($316,3 \pm 20,1$), houve também aumento significativo em 326,2 %, em relação ao controle, (figura 24).

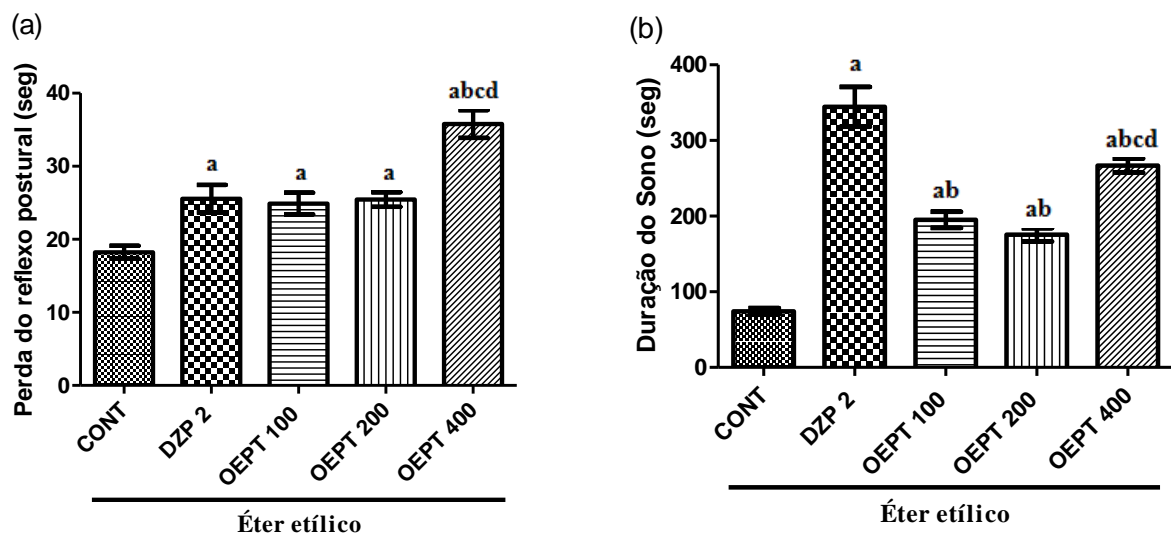


Figura 24: A: Efeito do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) nas doses de (100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre a latência da perda do reflexo postural no sono induzido por éter etílico. B: Efeito do OEPT (Óleo essencial de *Piper tuberculatum* Jacq.) nas doses de (100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre a duração do sono induzido por éter etílico. As colunas representam média \pm erro padrão da média (EPM), analisados através da ANOVA seguido pelo teste de Student Newman Keuls (*post hoc*). Valores significativos: a, b, c, e d, versus CONT, DZP 1, OEPT 100 e OEPT 200 respectivamente quando $p < 0,05$. (a)CONT = salina 0,9% - 1mg/Kg, (b) DZP 1 = Diazepam 2 mg/kg, i.p., (c) OEPT 100 = OEPT 100 mg/kg, i.p., (d) OEPT 200 = OEPT 200 mg/Kg, i.p.

6. DISCUSSÃO

A psicofarmacologia tem ganhado destaque nesses últimos anos com a exploração de plantas com potencial psicoterapêutico, representando um avanço na melhoria do tratamento dos distúrbios do sistema nervoso central. Muitos compostos de origem natural já em uso. São eles: a cafeína, efedrina, canabinóides, opioídes e a reserpina, que tem a capacidade de alterar a consciência e as modalidades sensoriais (Carlini, 2003). Dessa forma, a descoberta de novas substâncias que possam ser utilizadas na farmacoterapia, tendo o mecanismo de ação investigado em ensaios neuroquímicos e tornando-se candidatas para futuras avaliações clínicas tem sido fomentada (Sousa et al., 2008). Um exemplo disso foram as espécies de *Piper* investigadas que exibiram algumas propriedades, tais como ação antidepressiva de *Piper laetispicum* (Pan et al., 2005), de *Piper laetispicum* (Yao et al., 2009), de *Piper longum* (Lee et al., 2005) e atividade ansiolítica da piperartina, amida extraída das raízes da *Piper tuberculatum* (Felipe et al., 2007); a literatura também cita o efeito neuroprotetor de *Piper aduncum* (Zaa et al., 2012) e efeito estimulante com *Piper solmsianum* (Moreira et al., 2001).

Os Grupos de metabólitos secundários denominados de terpenos também já apresentaram uma diversidade de efeitos centrais, caracterizados pelas atividades sedativa, ansiolítica, antinociceptiva, anticonvulsivante, pró-convulsivante e alucinógena (Passos et al., 2009). Os terpenóides como assim também podem ser chamados, consistem basicamente em substâncias químicas de origem biossintética a partir de unidades de isopreno, que por sua vez origina-se do ácido mevalônico (Simões & Spitzer, 2007). Os monoterpenos são os terpenos encontrados com maior frequência nos óleos voláteis, seguidos dos sesquiterpenos. Os diterpenos apesar de estarem em menor número, também se fazem presentes (Steinegger & Hansel, 1992).

Embora sejam utilizados pelas indústrias, como componentes de fragrâncias, cosméticos, produtos de limpeza, desinfetantes e aditivos alimentares, os terpenos servem como remédios e apresentam atividades biológicas como a atividade antiinflamatória (Las Heras et al., 2003; Riella et al., 2012), analgésica (Guimarães et al., 2013), antioxidante (Costa et al., 2012), antimicrobiana (Turina et al., 2006; Modello et al., 2006), gastroprotetora (Takayama et al., 2011) e efeitos centrais (Passos et al., 2009).

Os terpenos citados na literatura tem sido alvo de estudos com o intento de definir seu perfil de ação no sistema nervoso central. O linalol (Silva Brum et al., 2001) e os valepotriatos (Ortiz et al., 1999), por exemplo, são capazes de agir como anticonvulsivantes em modelos

animais. O α -tujeno pode levar a alucinações, sonolência, tremores e convulsões (Deiml et al., 2004). O efeito sedativo-hipnótico foi demonstrado com a CIS-jasmona e metil-jasmonato (Hossain et al., 2004). Os isômeros da R-(-) e S-(+) da carvona mostraram efeito depressor do SNC (Pergentino de Souza et al., 2007). Estudos eletrofisiológicos *in vitro* com o (+)-Borneol mostrou a sua atividade no alívio da insônia, cansaço e da ansiedade, devido a sua ação moduladora do receptor GABA. (Granger et al., 2005) A administração de altas doses de artemisinina promove efeito sedativo ao reduzir atividades de estereotipia induzida por apomorfina e hiperatividade induzida por bromocriptina (Amos et al., 2003).

Dentre as substâncias químicas já identificadas em espécies de *Piper*, vários terpenos já foram descritos na literatura (Reigada, 2007). Na análise química de óleos essenciais da *Piper aduncum*, *Piper amalago*, *Piper arboreum*, *Piper cernuum*, *Piper hispidum*, *Piper regnelii*, *Piper submarginalum*, *Piper vicosanum* e *Pothomorphe umbellata*, os principais monoterpenos encontrados foram, α -pineno, β -pineno, espatulenol, E-cariofileno, óxido de cariofileno, germacreno D e limoneno (Mesquita et al, 2005).

Uma característica importante dos óleos essenciais é quanto a sua composição química, consistindo em uma mistura de compostos com variação entre 20 a 60 componentes, distribuídos em diferentes concentrações. Geralmente, dois ou mais desses constituintes se destacam, tendo concentração em torno de 20 a 70 %. São os chamados compostos majoritários comumente responsáveis pelas atividades biológicas (Bakkali et al., 2008).

Quando foi feita a análise da composição química do OEPT foram identificados vários monoterpenos, dentre eles, o α -pineno (26,54%) e o β -pineno (27,74%), os constituintes majoritários do óleo. Além desses, também foi detectado o β -cariofileno (14,38%) e o β -ocimeno (12,45), em menores quantidades que os constituintes principais. Os monoterpenos são caracterizados por possuir uma cadeia com 10 carbonos e classificados com relação a forma de sua cadeia, podendo ser, acíclico, cíclico e monocíclico (Breitmaier, 1999). Em um levantamento realizado foi observado que o β -pineno geralmente vem acompanhado do α -pineno (Setzer et al, 1999). Alguns estudos corroboraram com tal afirmação; ao se investigar a composição química de óleos essenciais das folhas, caules e frutos de algumas espécies de *Piper*, estes estudos mostraram a presença desses dois compostos, foi o caso da *Piper hispidum* (Potzernheim et al., 2006; Bottia et al., 2007); *Piper aduncum* L. (Oliveira et al., 2013), *Piper crassinervium* (Cysne et al., 2005), *Piper lanceaefolium* Kunth (Benitez et al., 2009), *Piper malacophyllum*, *Piper guineense* (Olonisakin et al., 2006) *Piper officinarum* (Salleh et al., 2012) e *Piper nigrum* (Jirovetz et al., 2002).

Com relação a algumas características dos compostos majoritários, ambos são isômeros estruturais (Solomons, 2009), podendo diferenciar na toxicidade e nos tipos de atividades (Tabanca et al., 2007). Possuem odores agradáveis, e relevantes propriedades biológicas (Jucá, 2007). É válido mencionar que o β -pineno é um monoterpene álcool cíclico, comumente encontrado em plantas aromáticas, e ainda recebe o nome químico de 6,6-dimetil-2-metilenobícíclico heptano (Letizia et al., 2003). Quanto às funções já descritas na literatura, o β -pineno apresenta propriedades antiespasmódica, antiinflamatória (Almeida et al., 2003), hipotensora (Menezes et al., 2010), antimicrobiana (Silva et al., 2012) e antidepressiva (Guzmán-Gutiérrez et al., 2012). Quanto ao α -pineno, um derivado de duas unidades isoprênicas, estudos indicaram que este composto possui propriedades antiespasmódica intestinal (Camara et al., 2003), antimicrobiana (Leite et al., 2007), antiviral (Yang et al., 2011), e afeta o metabolismo oxidativo das mitocôndrias de células vegetais (Abraham et al., 2003).

Considerando a importância do óleo essencial na investigação de atividades farmacológicas, há relatos com mais de 2000 anos a. C., que os Ayurvedas faziam obtenção de produtos destilados de uma variedade de espécies vegetais, encontrando mais de 700 substâncias aromáticas. No antigo Egito esses compostos eram utilizados em massagens, na proteção da pele e no embalsamento dos mortos. Atualmente, dentre as diversas utilizações medicinais, estão aquelas decorrentes dos seus efeitos no sistema nervoso central, tais como; estimulante, sedativo-hipnótica, ansiolítica e antidepressiva (De La Cruz, 2002).

No entanto, é imprescindível enfatizar que apenas o conhecimento popular não garante a validade do uso das plantas medicinais de forma segura. É indispensável que antes de ser empregada como uma terapia, tanto a sua ação quanto o nível de toxicidade devem ser avaliados, a fim de comprovar a sua eficácia e segurança (Simões et al., 2004), pois muitos produtos naturais podem ocasionar riscos para a saúde, embora sejam apresentados como um benefício seguro, pelo fato de ser de origem natural, muitas delas não tiveram as propriedades farmacológicas criteriosamente avaliadas em testes pré-clínicos e clínicos (Veiga Júnior, 2005).

Diante de tais colocações, realizou-se a princípio uma triagem farmacológica com o OEPT, baseada em alterações comportamentais e sinais de toxicidade, um teste útil para escolha das doses utilizadas nos ensaios farmacológicos (Mattei & França, 2006), enfatizando o perfil geral de toxicidade, o estado de consciência, a disposição geral, alterações na atividade motora, nos reflexos e sobre os efeitos gerais no sistema nervoso central e no sistema nervoso autônomo (Malone & Robichaud, 1983).

As alterações observadas nesta etapa do trabalho sugerem que a administração intraperitoneal do OEPT promoveu um efeito depressor do SNC, com base na redução da ambulação e sedação. No caso da sedação, esta é compreendida como sendo um grau de depressão do SNC, caracterizado por sonolência e diminuição da atividade motora (Almeida, 2006). Além disso, foi possível determinar a DL₅₀ do OEPT por via i.p., caracterizando a sua toxicidade moderada, sendo a DL₅₀ de aproximadamente 5000 mg/kg, i.p. Esta informação serviu de referência para a escolha das doses, optando-se por valores inferiores a 10% da DL₅₀, para garantir que as doses utilizadas seriam isentas de toxicidade.

A investigação do perfil toxicológico também foi realizada levando em consideração que os óleos essenciais podem apresentar toxicidade tanto aguda quanto crônica, com possível interação com outros óleos e/ou fármacos, que irá depender em grande parte da dose que for utilizada (De La Cruz, 2002), pois mesmo que o produto seja considerado natural, não se pode afirmar que ele não provoque algum efeito nocivo.

Após o *screening* hipocrático e a determinação da DL₅₀, os animais foram submetidos a testes comportamentais, como o campo aberto, labirinto em cruz elevado, teste da barra giratória (*rota rod*), convulsões induzidas por Pentilenotetrazol, potencialização de tempo de sono induzido por Pentobarbital e Éter etílico. Estes testes são específicos para avaliar atividades sedativa, ansiolítica, anticonvulsivante e sedativo-hipnótica. Para Graeff & Zangrosi (2002), os modelos animais de comportamento são ferramentas úteis para investigação de substâncias com potencial terapêutico e para delineamento de mecanismo de ação.

Na primeira avaliação comportamental utilizou-se o campo aberto, com finalidade de investigar a influência óleo sobre o nível de excitabilidade no SNC (Mansur et al., 1971), caracterizando como depressor ou estimulante (Marques et al., 2013). Este modelo é o mais antigo para triagem de drogas com efeito ansiolítico, descrito por Archer (1973). Nele, são observadas as atividades locomotora, exploratória e ainda a emocionalidade (Okoli et al., 2010), decorrentes da exposição do animal a um novo ambiente que provoque tensão, conflito e desperte tendência em explorar aquilo que é desconhecido.

Para consolidar a observação no campo aberto, foram padronizados três parâmetros (número de cruzamentos, de *grooming* e de *rearing*) a fim de caracterizar melhor a atividade do OEPT quanto ao caráter (ansiolítico, ansiogênico ou sedativo) (Keeley & Storch, 2009). Na presença de compostos depressores (benzodiazepínicos e neurolépticos), as atividades são reduzidas, e na presença de drogas estimulantes (anfetaminas, cocaína), ocorre aumento dos parâmetros avaliados (Prut & Belzung, 2003). No trabalho de Ya'u et al (2011) é definido que

quando os animais são tratados com alguma substância ansiolítica, as atividades são reduzidas por meio da inibição do estresse. Dessa forma a redução dos parâmetros, NC, NG e NR, refletem, em parte, sobre a natureza ansiolítica do produto natural em estudo.

No primeiro parâmetro abordado, o OEPT promoveu redução do número de cruzamentos, indicando possível efeito tipo sedativo/ansiolítico. A redução da atividade locomotora foi observada em animais tratados com drogas utilizadas para o tratamento de distúrbios mentais (Argal et al., 2006), assim como com óleos essenciais que contenham compostos derivados dos terpenos (Marques et al., 2013). De forma semelhante, o número de cruzamentos também pode ser alterado por drogas que promovam o relaxamento muscular periférico (Archer, 1973). O comportamento depressor caracterizado neste teste serviu para confirmar o que já tinha sido verificado quando feito o teste hipocrático.

Além do NC, houve redução tanto do número de *grooming* quanto de *rearing* com o tratamento do OEPT, assim como nos animais tratados com o diazepam. Alguns autores defendem que o aumento no número de *grooming* e *rearing*, podem ser explicados tanto pelo estresse quanto pela ansiedade que os animais estão submetidos (Lister et al., 1987), e a administração de drogas ansiolíticas pode reduzir o *rearing*, parâmetro ligado com o nível de excitabilidade central (Cunha & Masur, 1978). Quanto ao *grooming*, este comportamento é comumente exibido por roedores que estão apreensivos, numa situação que provoque conflito e medo, mas que quando tratados com drogas ansiolíticas também reduzem este comportamento (Barros et al., 1994; Moody et al., 1988).

De acordo com Serafim & Felício (2001), o aumento do *grooming* pode estar relacionado com a neurotransmissão dopaminérgica no corpo estriado e no núcleo accumbens. Neste caso, o OEPT pode estar reduzindo a concentração da dopamina ou bloqueando os receptores dopaminérgicos nos animais tratados, precisamente no corpo estriado, justificando o resultado. Para isso, seria necessária a realização de outros experimentos com antagonistas dopaminérgicos específicos ou ensaios de CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência).

Foi investigado se o mecanismo de ação do OEPT seria dependente do sistema GABAérgico, visto que as doses do OEPT agiram de forma semelhante ao diazepam. Para isso utilizou-se o flumazenil, um antagonista competitivo do receptor benzodiazepínico (Pereira & Carvalhes, 1991). A utilização do antagonista possibilitou relacionar o efeito do OEPT com interação com o sistema GABAérgico, pelo fato da ocorrência de reversão parcial do efeito do óleo. De acordo com Kolawole et al (2007), o efeito observado pode ser decorrente de uma potenciação da neurotransmissão GABAérgica,.

Para Olson (2002), muitas das drogas utilizadas como ansiolíticas e com ação anticonvulsivante agem modulando de forma alostérica os receptores GABA_A. O GABA (ácido γ -aminobutírico) é considerado o neurotransmissor inibitório com maior predominância no sistema nervoso central. Este importante neurotransmissor é formado a partir do glutamato com a participação da enzima ácido glutâmico descarboxilase (Rang & Dale, 2011).

Além dos receptores GABA_A, existem os receptores GABA_B. O GABA_A é um canal regulado por ligante, tendo uma grande sensibilidade para o cloro, enquanto que os receptores GABA_B são acoplados à proteína G, a qual regula a abertura dos canais de K⁺. Os benzodiazepínicos tem ação no sistema no sistema GABAérgico, promovendo um aumento da afinidade do neurotransmissor com o seu receptor, formando um potente sistema de inibição do SNC (Korpi, et al., 2002; Kralic et al., 2002). Neste caso, quando os benzodiazepínicos se ligam aos receptores, há um aumento da frequência de abertura dos canais de cloro com consequente hiperpolarização (Andreatini, 2004).

Na literatura há relatos de que o extrato da *Piper longum*, pertencente ao mesmo gênero da *Piper tuberculatum*, promoveu redução no número de cruzamentos no campo aberto, estando o sistema GABAérgico possivelmente envolvido nesse mecanismo. Essa ação pode ser decorrente dos compostos encontrados na planta como alcaloides e flavonoides (Mamun et al., 2011).

Ao considerar os compostos presentes no OEPT e sua relação no efeito observado, o β -pineno, composto majoritário, pode ser um dos responsáveis pelos resultados obtidos no campo aberto. A utilização do óleo essencial dos frutos da *Piper guineense*, também rico em β -pineno, promoveu efeitos sedativo e ansiolítico, respectivamente nos teste do campo aberto e da transição claro/escuro (Tankam & Ito, 2013), corroborando com os achados apreSENTADOS neste trabalho. Mesmo assim, apesar dos numerosos estudos com os monoterpenos com atividades no sistema nervoso central, não se sabe com real certeza se o efeito é decorrente apenas de um composto isolado ou se há um sinergismo. Para isso é necessário que investigações com outros componentes do óleo essencial sejam realizadas.

De acordo com Guzmán-Gutierrez et al (2012), o β -pineno, quando administrado nas doses de 54,8 mg/kg; 100 mg/kg e 173,2 mg/kg em camundongos, promoveu redução no número de cruzamentos no teste do campo aberto. Esta ação parece estar relacionada à potencialização do sistema GABAérgico (Aoshima et al., 1999) pelo composto em questão.

Assim como β -pineno, o α -pineno também apresentou efeito sedativo no teste do campo aberto nas doses de 54,8 mg/kg; 100 mg/kg e 173,2 mg/kg (Guzmán-Gutierrez et al

2012). Com base nesses resultados é possível que o comportamento observado com o OEPT tenha o envolvimento do α pineno, por meio de uma interação sinérgica com o β pineno, ou com outros monoterpenos presentes.

Uma vez definido o nível de excitabilidade no SNC e a triagem para efeito tipo ansiolítico no campo aberto, realizou-se o teste do labirinto em cruz elevado, que investiga de maneira mais específica a ação ansiolítica tipo benzodiazepínica do OEPT. Este modelo quando executado corretamente permite detectar se o produto em estudo tem alguma relação com o complexo GABA_A/Benzodiazepínico, servindo de base para triagem de drogas utilizadas no estudo da neurobiologia da ansiedade e do comportamento de defesa (Rodgers et al., 1997), indicando se uma substância tem efeito ansiolítico ou ansiogênico (Fernandes & File, 1996).

Este modelo é baseado em duas características principais dos roedores. A primeira é em relação à aversão que os animais têm em explorar os espaços abertos. O outro aspecto envolvido diz respeito ao comportamento exploratório dos animais por ambientes desconhecidos, caracterizados como novidades (Fernandes & File, 1996).

Quando o animal é submetido a uma situação estressante e desconhecida, os mesmos optam por lugares fechados e protegidos. Este comportamento é comparado de forma análoga com a ansiedade em humanos (Gray, 1988). Para avaliação no LCE, foram adotados alguns parâmetros de observação como o tempo de permanência nos braços abertos e fechados, e o número de entrada nos braços abertos e fechados. A exploração dos animais é baseada no medo inato que normalmente os leva a não explorar espaços desprotegidos (Lister, 1990); os braços abertos são considerados, portanto, conflitantes, levando a alterações comportamentais como, imobilidade, congelamento e aumento da defecação (Pellow & Chopin et al, 1985).

Em razão da escassez de métodos que sejam fidedignos, eficientes e com boa reprodutibilidade, o labirinto em cruz elevado é o mais adequado para pesquisa na área experimental envolvendo doenças do sistema nervoso central (Pinto et al., 2012), com algumas vantagens que garantem a sua viabilidade, como simplicidade na execução, uma vez que não é necessário treinamento do pesquisador, e não submeter os animais aos estímulos nocivos, como a privação de alimentos (Walf & Frye, 2007).

Com a administração do OEPT, houve um aumento significativo no NEBA e no TPBA, assim como no grupo tratado com diazepam 1 mg/kg. Para Treit et al (1993), os animais tratados e submetidos ao aparelho, que passarem mais tempo nos braços abertos e entrarem mais vezes nestes, são considerados menos ansiosos. Esse comportamento foi comprovado com a utilização de drogas ansiolíticas como o diazepam, clonazepam,

bromazepam e alprazolam. Esses dados fornecem evidências de que o OEPT tenha provável ação ansiolítica tipo benzodiazepínica, visto que a associação do OEPT ao flumazenil reverteu parcialmente os dois parâmetros supracitados, sugerindo que o efeito do OEPT esteja relacionado com um mecanismo GABAérgico, semelhantemente ao diazepam.

O α -pineno, um dos compostos majoritários do OEPT pode estar envolvido no efeito observado. No estudo de Raza et al (2006), este composto foi testado isoladamente em dois modelos de ansiedade, o labirinto em Y e a placa perfurada, utilizando a dose de 345 mg/kg. No labirinto em Y, o α -pineno promoveu efeito ansiolítico e, quando associado ao flumazenil, o efeito obtido anteriormente foi revertido, indicando o possível envolvimento com o sistema GABAérgico, semelhante ao lorazepam, droga padrão utilizada no trabalho.

Além de promover efeito ansiolítico, os benzodiazepínicos promovem o relaxamento muscular, comprometendo a coordenação motora. Esta ação acontece por meio dos efeitos inibitórios sobre os reflexos polissinápticos e sobre a transmissão internuncial. Quando utilizado em doses mais elevadas, os benzodiazepínicos podem deprimir a transmissão na junção neuromuscular esquelética (Katzung, 2014). A perda da coordenação motora reflete na força do equilíbrio, na marcha e na competência sensorial; prejudicando os ensaios comportamentais de memória, motivação e exploração (Boehm et al., 2000).

Para detectar a influência na coordenação motora dos camundongos e excluir a possibilidade que o óleo esteja promovendo déficit motor, o que poderia prejudicar a avaliação comportamental (Bogo et al., 1981), os animais foram tratados com OEPT e avaliados na barra giratória do *rota rod*. Nesse experimento, quanto maior o número de quedas e menor tempo de permanência na barra giratória, mais intenso é o efeito da incoordenação motora (Mattei & França, 2006). Drogas depressoras como barbitúricos, benzodiazepínicos, etanol e outras, promovem efeito locomotor bifásico, como estimulação em baixas doses e sedação em doses mais elevadas (Rustay et al., 2003).

Um dos fatores que determinam a neurotoxicidade é a perda da coordenação motora (Massaquoi et al., 1998). A incoordenação motora é um dos efeitos facilmente observados em casos de intoxicação e um dos sinais comumente observados em algumas desordens neurológicas. Os resultados do teste da coordenação motora mostraram que o OEPT nas doses administradas é desprovido desta ação, não provocando qualquer alteração na coordenação motora dos animais, quando avaliados no *rota rod*, como foi observado com o diazepam, excluindo a possibilidade do efeito locomotor bifásico.

Outra propriedade exibida pelas drogas ansiolíticas (benzodiazepínicos) é a capacidade de inibir o desenvolvimento das convulsões e a sua propagação no SNC (White et

al., 2007). Esse distúrbio tem impulsionado à procura por novas fontes de tratamento com plantas aromáticas usadas na medicina popular, acreditando na obtenção de substâncias anticonvulsivantes com boa eficácia (Almeida et al., 2011), que sejam capazes de prevenir ou retardar o início da convulsão (White et al., 2007). Seguindo esta linha de raciocínio, pelo fato do OEPT ter apresentado efeito ansiolítico possivelmente mediado pelo GABA, essa fase do trabalho investigou a atividade anticonvulsivante e neuroprotetora do óleo, no teste de convulsões induzidas com o pentilenotetrazol.

As convulsões são desencadeadas por descargas neuronais excessivas e sincrônicas, resultantes, dentre outros fatores de estímulos excitatórios, como aquele observado com o glutamato, um neurotransmissor excitatório (Yacubiam, 2008) ou por meio da inibição da neurotransmissão GABAérgica (Kang et al., 2008). Tomadas em conjunto, essas alterações levam a um desequilíbrio entre os aminoácidos excitatórios e inibitórios do SNC (Godman & Gilman, 2012), que medeiam a estabilidade e eficiência das conexões sinápticas (Kaul et al., 2011).

Atualmente, os mecanismos de ação os fármacos anticonvulsivantes envolvem a redução dos disparos neuronais repetitivos, aumentando os efeitos inibitórios do GABA ou podem também promover redução dos efeitos dos aminoácidos excitatórios (glutamato e aspartato), e bloquear os canais iônicos, alterando o movimento dos íons sódio e cálcio pelas membranas dos neurônios (Panus et al., 2011) levando a uma supressão das convulsões e o bloqueio. Os principais fármacos utilizados são a fenitoína, diazepam, carbamazepina, valproato, os barbitúricos, lamotrigina, topiramato, gabapentina, levetiracetam, entre outros (White et al., 2007).

Procurando por um modelo ideal para se chegar a novas substâncias com ação anticonvulsivante, o Instituto Nacional de Saúde (NHI)/Sociedade Americana de Epilepsia realizou em 2002 um encontro para discutir este assunto. Como resultados desse evento foram considerados alguns fatores essenciais para um modelo adequado, como refletir a fisiopatologia e fenomenologia de forma semelhante à epilepsia humana. Além disso, é primordial que o modelo animal apresente um perfil farmacológico que resista a pelo menos duas drogas anticonvulsivantes (Stables et al., 2003).

Neste trabalho foi adotado o teste de convulsões induzidas por Pentilenotetrazol, modelo desenvolvido por Swinyard et al (1952), empregado para investigar ação anticonvulsivante de compostos benzodiazepínicos (Tallman et al., 1980). Durante a execução do teste é verificado que drogas com ação anticonvulsivante bloqueiam o desenvolvimento

das convulsões, aumentam a latência do para o início, como também podem reduzir a duração e/ou letalidade da mesma (Lapa et al., 2008).

O pentilenotetrazol, droga pró-convulsivante, é um bloqueador seletivo do canal de cloreto acoplado ao receptor GABA, que ao ser administrado promove uma supressão da neurotransmissão inibitória do sistema GABAérgico. Como consequência, ocorre um excesso na atividade elétrica (Abbasi et al., 2012), desencadeando assim as convulsões, caracterizadas em dois tipos: convulsões mioclônicas e as tônico-clônicas (Fisher, 1989; Loscher & Schmidt, 2002). Com isso afirma-se que este teste permite a identificação de substâncias que atuem nos receptores GABA_A (Kupferberg & Schmutz, 1997).

No teste das convulsões induzidas por pentilenotetrazol, foi observado que o OEPT apresentaram efeito anticonvulsivante, ao aumentar a latência para a 1ª convulsão, assim como o diazepam, embora em menor grau que o fármaco de referência. Este efeito parece decorrer de uma possível interação do OEPT com o sistema GABAérgico. Esta hipótese foi reforçada quando feita a associação do OEPT com o flumazenil, observando-se reversão parcial do efeito do óleo sobre a latência para a 1ª convulsão e a latência de morte.

Estudos abordam que estas substâncias podem atuar como moduladores dos receptores GABA_A (Almeida et al., 2008). Um exemplo disso são os análogos do α -pineno, que demonstraram efeito anticonvulsivante quando testado em ratos (Consroe et al., 1981). O α -pineno isolado, administrado na dose de 440 mg/kg, foi testado no modelos de convulsões induzidas por PTZ, comprovando sua atividade neuroprotetora (Raza et al., 2008). Dessa forma, é sugerido que o efeito anticonvulsivante do OEPT seja decorrente da ação de monoterpenos presentes no óleo, visto que estes compostos parecem estar envolvidos neste tipo de atividade (Dallmeier & Carlini, 1981). Além disso, alguns pesquisadores relataram que o SL-1, um monoterpeno sintético, homólogo do GABA, apresenta ação anticonvulsivante, nos testes de convulsões induzidas por PTZ (Librowski et al., 2000).

Muitos terpenos apresentam baixa toxicidade, viabilizando a utilização em testes posteriores (Tolstikova et al., 2008). No trabalho de Chang et al (2007), o α - e o β -pineno tiveram sua ação neuroprotetora contra neuroblastoma humano SH-SY5Y, em modelo celular *in vitro*. Quanto aos mecanismos de ação da atividade anticonvulsivante dos monoterpenos, é sugerido que possa exercer por dois mecanismos: a via glutamatérgica ou a gabaérgica (Silva Brum et al., 2001).

Considerando o efeito depressor já relatado, foi realizado o teste do tempo de sono com o pentobarbital com o propósito de verificar se o OEPT possui efeito sedativo-hipnótico, por meio da potencialização do sono com barbitúrico. Esse experimento é baseado no fato de

que, quando duas drogas possuem a mesma ação, os efeitos se somam (Riley et al., 1958), levando em consideração dois parâmetros: a latência e a duração do sono (Willianson et al., 1996).

O sono consiste em uma atividade cerebral natural, baseado em alterações no estado de consciência, com predomínio da redução da sensibilidade aos estímulos ambientais (Gomes et al., 2010). Para Winson (2005), é definido como um comportamento reversível de desprendimento e inconsciência. Para regular o ciclo sono vigília, três áreas hipotalâmicas estão envolvidas: o hipotálamo anterior (núcleos GABAérgicos e núcleos supraquiasmáticos), o hipotálamo posterior (núcleo túbero-mamilar histaminérgico) e o hipotálamo lateral (sistema hipocretinas). O início e manutenção do sono NREM, o ritmo circadiano do ciclo sono vigília e a promoção da vigília são as ações promovidas por estas estruturas (Aloé et al., 2005).

A sonolência, o início e a manutenção do sono podem ser estimulados por drogas chamadas de hipnóticas (Katzung, 2014). Os benzodiazepínicos são um exemplo clássico de drogas com efeito sedativo-hipnótico. No entanto, a rápida tolerância e a capacidade de aumentar os efeitos depressores têm os tornado um problema aos usuários (Lapa et al., 2008). É recomendado, portanto, que antes que o paciente faça uso de alguma medicação benzodiazepínica, o uso de fitoterápico deve ser levado em consideração (Veloso et al., 2008).

As drogas utilizadas nos estudos de fisiologia do sono, como os benzodiazepínicos, hidrato de cloral, etanol, barbitúricos e gases anestésicos, tem ação hipnótica promovida por diversos mecanismos de ação, como por exemplo, a inibição das células histaminérgicas no núcleo tuberomamilar (Lu & Greco, 2006). O teste do tempo de sono em camundongos induzido por Pentobarbital (Montenegro et al., 2010) é muito utilizado para descobrir novas substâncias com efeito sedativo-hipnótico (ação depressora no sistema nervos central). O pentobarbital, droga indutora do sono, exerce seu efeito ao ligar-se ao sítio de ligação para os barbitúricos, que está localizado nas subunidades $\alpha 1 \beta 1$, compondo o canal de cloreto do complexo receptor GABA_A (Muroi et al., 2006).

Neste trabalho os resultados obtidos mostraram que todas as doses influenciaram na latência para o sono, provocando redução desse parâmetro. Entretanto, apenas a dose de 400 mg/kg do OEPT aumentou a duração do sono. Esses dados evidenciam ainda mais a ação depressora previamente observada e indica um efeito hipnótico similar ao diazepam, que pode ser atribuído a uma possível interação de um ou mais componentes do OEPT com os

receptores GABAérgicos, uma vez que o flumazenil reverteu parcialmente a latência e duração do sono induzidas pelo óleo.

Acredita-se também que os compostos majoritários estejam envolvidos nesta ação, visto que o α -pineno (Guzmán-Gutierrez et al., 2012) e o β -pineno (Aoshima et al., 1999), apresentaram efeito depressor e sedativo, com base na literatura. Além disso, o *Pneumus boldus Molina* (boldo do Chile, rico em α - e β - pineno), provoca efeito hipnótico decorrente da presença desses compostos (Newall et al., 2002).

Apesar disso é preciso considerar que este teste não é específico, pois algumas drogas podem estar interferindo com a biotransformação do pentobarbital pelo complexo enzimático do citocromo P-450, podendo apresentar os mesmos efeitos que as drogas depressoras do SNC (Golubkova et al., 1998; Blumenthal, 2000). Com base nisto, a possibilidade de que o aumento da duração do sono induzido pelo pentobarbital, pode não ser do efeito hipnosedativo, e sim da inibição do sistema enzimático hepático pelo OEPT.

Descartar a hipótese de que o OEPT possa alterar a biotransformação do pentobarbital, foi utilizado o teste do tempo de sono com éter etílico (Lapa et al., 2008); este teste tem como base o fato de que o éter etílico não possui metabolismo hepático (Vieira, 2001). Dessa forma, todas as doses do óleo aumentaram a duração do sono, confirmando o efeito hipnótico do material e excluindo a possibilidade de que o mesmo possa interferir no metabolismo do pentobarbital, aumentando a biodisponibilidade do mesmo.

Além do efeito observado, é possível verificar que todas as doses do OEPT e do diazepam associados ao éter etílico, aumentaram a latência de sono. Este achado pode ser explicado baseado no fato de que os anestésicos inalatórios podem produzir um efeito excitatório, ao potencializar a resposta do receptor 5-HT₃ (Suzuki et al., 2002).

Fazendo uma abordagem geral dos dados anteriormente mencionados e discutidos, é verificado que o OEPT apresentou efeito sedativo, ansiolítico, anticonvulsivante e hipnótico, e que provavelmente os compostos majoritários sejam os responsáveis por essas atividades observadas, visto que os terpenos já apresentaram alguns desses efeitos em outros estudos descritos na literatura. Além disso, na investigação do mecanismo de ação, sugere-se que os constituintes químicos estejam interagindo com o sistema GABAérgico, uma vez que a associação do óleo ao flumazenil, um antagonista dos receptores GABA_A, reverteu os efeitos descritos anteriormente. Dessa forma, este trabalho contribuiu para corroborar com os dados já existentes sobre a potencialidade dessa espécie e de outras do mesmo gênero quanto a sua capacidade de promover ações farmacológicas direcionadas para o sistema nervoso central.

7. CONCLUSÕES

Por meio da análise dos resultados apresentados sobre as ações do OEPT no SNC, tem-se que:

- Foram coletadas 3.852 g de frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e a exsicata preparada foi depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima – HCDAL da Universidade Regional do Cariri.
- O OEPT apresentou como componentes majoritários o α - e o β -pineno;
- No teste hipocrático, o OEPT apresentou efeito depressor central, sendo dotado de toxicidade moderada. Sua DL_{50} , foi de aproximadamente 5000 mg/kg, quando administrado por via, i.p.;
- Nos testes comportamentais, o OEPT foi destituído de efeito miorelaxante, porém dotado de efeito sedativo, ansiolítico do tipo benzodiazepínico, anticonvulsivante e hipnótico. Tais efeitos foram parcialmente revertidos pelo flumazenil, um antagonista benzodiazepínico.
- As ações farmacológicas do OEPT são decorrentes, portanto, da interação de um ou mais de seus componentes com o sistema GABAérgico.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Tomados em conjuntos pode-se concluir que os efeitos observados com a administração aguda do OEPT em camundongos, parece ser decorrente da possível interação de seu componente majoritário com o sistema GABAérgico. No entanto, outros testes são necessários para melhor caracterizar o mecanismo de ação do OEPT e seus componentes majoritários, tais como:

- Avaliar os efeitos da administração aguda do α - e β -pineno em camundongos, submetidos aos testes do campo aberto, labirinto em cruz elevado, *rota rod*, convulsões induzidas por pentilenotetrazol, e potencialização do sono com pentobarbital e éter etílico;
- Realizar *binding* GABAérgico em hipocampo de camundongos tratados com OEPT e seus componentes majoritários;
- Realizar a dosagem de GABA e glutamato através da técnica de CLAE, em hipocampo de camundongos tratados com OEPT e seus componentes majoritários.

9. REFERÊNCIAS

ABBASI, M.; NASSIRI-ASL, M.; SHAFEEI, M.; SHEIKHI, M. Neuroprotective Effects of Vitexin, a Flavonoid, on Pentylentetrazole-Induced Seizure in Rats. **Chemical Biology and Drug Design**, vol. 80, p. 274–278, 2012.

ABRAHIM, D.; FRANCISCHINI, A.C.; PERGO, E. M.; KELMER-BRACHT, A. M.; ISHIIWAMOTO, E. L. Effects of α -pinene on the mitochondrial respiration of maize seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 41, n. 11-12, p. 985-991, 2003.

ADAMS, R. P. Quadrupole mass spectra of compounds listed in order of their retention time on DB-5. Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. **Allured Publishing Corporation, Carol. Stream, IL, USA**, 456 p, 2001.

AGBOR, G. A.; VINSON, J. A.; JOHNSON, R. Antioxidant and anti-atherogenic activities of three species on atherogenic diet fed hamsters, **Experimental and Toxicologic Pathology**, vol.64, n.4, p. 387-39, 2012.

AL-BAGHDADI, O. B.; PRATER, N. I.; DER SCHYF, C. J. V.; GELDENUYS, W. J. Inhibition of monoamine oxidase by derivatives of piperine, an alkaloid from the pepper plant *Piper nigrum*, for possible use in Parkinson's disease. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, vol. 22 p. 7183–7188, 2012.

ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A. Kovats indices as a preselection routine in mass spectra library search of volatiles. **Journal of Natural Products**, v. 47, n. 5, p. 890-892, 1984.

ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L. Kovats indices simulation in essential oils analysis. **Química Nova**, v. 13, n. 4, p. 282-284, 1990.

ALMEIDA, R. N.; MOTTA, S. C.; LEITE, J. R. Óleos essenciais com propriedades anticonvulsivantes. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, vol. 2, n. 1, p. 3-6, 2003.

ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia: Fundamentos práticos**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 357 p, 2006.

ALMEIDA, R. N.; DE SOUSA, D. P.; NÓBREGA, F. F. F.; CLAUDINO, F. S.; ARAÚJO, D. A. M.; LEITE, J. R.; MATTE, R. Anticonvulsivant effect of a natural compound α , β – epoxy carvone and its on the nerve excitability. **Neuroscience Letters**, vol. 443, n. 1, p. 51-55, 2008.

ALMEIDA, R. N.; SOUTO-MAIOR F. N.; SOUSA, D. P. Essential Oils and their constituents: Anticonvulsant Acitivity. **Molecules**, vol. 16, n. 3, p. 2726 -2742, 2011.

ALÓE, F.; AZEVEDO, A. P.; HASAN, R. Sleep-wake cycle mechanisms. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, vol. 27, n. 1, p.33-39, 2005.

American Psychiatry Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental disorders - DSM-5. 5th. ed. Washington: American Psychiatric Association, 2013.

AMOS S, VHINDO B. A.; ABBAH, J, VONGTAU, H. O.; EDMOND, I; BINDA, L, AKAH, P.A.; WAMBEBE, C.; GAMANIEL, K. S. Postsynaptic dopamine (D2)-mediated behavioural effects of high acute doses of artemisinin in rodents. **Brain Research Bulletin**, vol. 62, n. 3, p. 255-260, 2003.

AMPOFO, S. A.; ROUSSIS, V.; WIEMER, D. F. New prenylated phenolics from *Piper auritum*. **Phytochemistry**, vol. 26, n. 8, p. 2367-2370, 1987.

AMRAN, A. A.; ZAKARIA, Z.; OTHMAN, F.; DAS, S. AL-MEKHLAFI, M. H.; NORDIN, N-A. M. M. Aqueous extract of *Piper sarmentosum* decreases atherosclerotic lesions in high cholesterolemic experimental rabbits. **Lipids in health and disease**, vol. 9 n. 1. p. 44, 2010.

ANDREATINI, R.; BOERNGEN- LACERDA, R.; ZORZETTO FILHO, D. Pharmacological treatment of generalized anxiety disorder: future perspectives. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, vol. 23, n.4, p. 233-42, 2001.

AOSHIMA, H.; HAMAMOTO, K. Potentiation of GABA_A receptores expressed in xenopus Oocytes by perfume and Phytoncid. **Biosci Biotechnol Biochem**, vol. 63, n. 4, p. 743-748, 1999.

ARAÚJO-JÚNIOR, J. X.; CHAVES, M .C. O.; CUNHA, E. V. L., GRAY, A. I. Cepharanone B from *Piper tuberculatum*. **Biochemical Systematics and Ecology**, vol. 27, n. 3, p. 325-327,1999.

ARAÚJO-JÚNIOR, J. X., CUNHA, V. L.; EMIDIO, CHAVES, M. C. O.; GRAY, A. I. Piperdardina, a piperidine alkaloid from *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, vol.44, n.3, p.559- 561, 1997.

ARCH, J. J.; CRASKE, M. G. First-line treatment: a critical appraisal of cognitive behavioral therapy developments and alternatives. **Psychiatric Clinics of North America**, vol. 32, n. 3, p. 525-547, 2009.

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Animal Behaviour**, vol. 21, n. 2, p. 205-35, 1973.

ARGAL, A.; PATHAK, A. K. CNS activity of *Calo- tropis gigantea* roots. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 106, n. 1, p. 142-145, 2006.

ARROYO, J.; ALMORA, Y.; QUINO, M.; RAEZ, E.; MARTÍNEZ, J. BUENDÍA, J.; BACA, D.; HAÑARI, R. Efecto protector en cirrosis hepática inducida en ratas del extracto etanólico de las hojas de *Piper aduncum* comparado con silimarina. **Anales de la Facultad de Medicina**, vol. 73, n. 2, p. 85-91, 2012.

ARROYO, J.; HAÑARI, R.; TINCO, A.; BACA, D.; DOMÍNGUEZ, L.; BUENDÍA, J. Efecto antihipertensivo del extracto de *Piper aduncum* ‘matico’ sobre la hipertensión inducida por L-NAME em ratones. **Anales de la Facultad de Medicina**, vol. 73, n. 4, p. 275-80, 2012.

BAKALLI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, vol. 46, p. 446-475, 2008.

BALDWIN, D.; WOODS, R.; TAYLOR, D. Efficacy of drug treatments for generalized anxiety disorder: systematic review and meta-analysis. **British Medical Journal**, vol. 324, p. 1-11, 2011.

BALESTRIERI, M.; ISOLA, M.; QUARTAROLI, M.; RONCOLATO, M.; Bellantuono, C. Assessing mixed anxiety-depressive disorder. A national primary care survey. **Psychiatry Research**, v. 176, n. 2010, p. 197–201.2008.

BARROS, H.M; TANNHAUSER, S. L.; TANNHAUSER, A. L. The effects of GABAergic drugs on grooming behavior in the open field. **Pharmacology Toxicology**, v.74, 339-344, 1994.

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.

BENÍTEZ, N. P.; MELENDEZ, E.; STASHENKO, E. E. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de hojas de *Piper lanceaefolium*, planta usada tradicionalmente en Colombia. **Boletín Latino americano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, vol. 8, n. 4, p. 301-304, 2009.

BEZERRA, D. P.; CASTRO, F. O.; ALVES, A. P. N. N.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S.; ELMIRO, F. J. M.; COSTA-LOTUFO, L. V. *In vivo* growth-inhibition of Sarcoma 180 by piplartine and piperine, two alkaloid amides from *Piper*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, vol.39, n. 6, p.801-807, 2006.

BEZERRA, D. P.; MILITÃO, G. C. G.; CASTRO, F. O.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S.; ELMIRO, F. J. M.; COSTA-LOTUFO, L. V. Piplartine induces inhibition of leukemia cell proliferation triggering both apoptosis and necrosis pathways. **Toxicology in Vitro**, vol.21, n. 1, p.1-8, 2007.

BEZERRA, D. P.; MOURA, D. J.; ROSA, R. M.; VASCONCELLOS, M. C.; SILVA, A. C. R.; MORAES, M. O.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S. HENRIQUES, J. A. P.; COSTA-LOTUFO, L. V.; SAFFI, J. Evaluation of the genotoxicity of piplartine, an alkalamide of *Piper tuberculatum*, in yeast and mammalian V79 cells. **Mutation Research**, v.652, n. 2, p.164 – 174, 2008.

BEZERRA, D. P.; PESSOA, C.; MORAES, M.O.; ALENCAR, N.M.; MESQUITA, R.O.; LIMA, M.W.; ALVES, A.P. PESSOA, O.D.; CHAVES, J.H.; SILVEIRA, E.R.; COSTA-LOTUFO, L.V. *In vivo* growth inhibition of sarcoma 180 by piperlonguminine, an alkaloid amide from the *Piper* species. **Journal of Applied Toxicology**, vol. 28, n. 5, p. 599-607, 2008.

BIZERRIL, M. X. A.; RAW, A. Feeding behaviour of bats and the dispersal of *Piper arboreum* seeds in Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, vol. 14, n. 1, p. 109-114, 1998.

BLUMENTHAL, M. Interactions between herbs and conventional drugs: introductory considerations. **HerbalGram**, n. 49: 52-63, 2000.

BOEHM II, S. L.; SCHAFER, G. L.; PHILLIPS, T. J.; BROWMAN, K. E.; CRABBE, J. C. Sensitivity to ethanol-induced motor incoordination in 5-HT (1B) receptor null mutant mice is task-dependent: implications for behavioral assessment of genetically altered mice. **Behavioral Neuroscience**, vol. 114, n. 2, p. 401–409, 2000.

BOGO, V.; HILL, T. A.; YOUNG, R. W. Comparison of accelerod and rota rod sensitivity, in detecting ethanol and acrylamine-induced performance decrement of rotating rod systems. **Neurotoxicology**, vol. 2, n. 4, p. 765-87, 1981.

BOTTIA, E. J.; DÍAZ F, O. L.; MENDIVELSO, D. L.; MARTINEZ, J. R.; STASHENKO, E. E. Comparación de la composición química de los metabolitos secundarios volátiles de cuatro plantas de la familia Piperaceae obtenidos por destilación–extracción simultánea. **Scientia et Technica**, vol. 23, n. 33, p. 193-195, 2007.

BRANDAO, M. L.. **As bases biológicas do comportamento: Introdução à Neurociência** (E-livro), 244p. 2008.

BRANDÃO, M. L.; VIANNA, D. M.; MASSON, S.; SANTOS, J. Neural organization of different types of fear: implications for the understanding of anxiety. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, vol. 25, n. 2, p. 36-41, 2003.

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

BRAZ-FILHO, R.; SOUZA, M. P.; MATTOS, M. E. O. Piplartine-dimer A, a new alkaloid from *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, vol. 20, n. 2, p. 345-6, 1981.

BREITMAIER, E. TERPENE. STUTTGART: TEUBNER, 227 p., 1999,.

BYSTRITSKY, A. Treatment-resistant anxiety disorders. **Molecular Psychiatry**, v. 11, p. 805–814, 2006.

CAMARA, C. C.; NASCIMENTO, N. R.; MACEDO-FILHO, C. L.; ALMEIDA, F. B.; FONTELES, M. C. Antiespasmotic effect of the *Plectranthus barbatus* and some major constituents on the guinea-pig ileum. **Planta Medica**, vol. 69, n. 12, p. 1080-1085, 2003.

CAPRON, M. A.; WIEMER, D. F. Piplaroxide, an ant-Repellent piperidine epoxide from *Piper tuberculatum*. **Journal of Natural Products**, vol. 59, n. 8, p. 794-795, 1996.

CARDOSO, T. A. O. Considerações sobre a biossegurança em arquitetura de biotérios. **Boletim Centro Pan-Americano de Febre Aftosa**, vol. 64-67, 1998-2001.

CARLINI, E. A. Plants and the central nervous system. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, vol. 75, n. 3, p. 501-512, 2003.

CARLINI, E. A.; BURGOS, V. *Screening* farmacológico de ansiolíticos: metodologia laboratorial e comparação entre o diazepam e o clorobenzapam. **Revista da Associação Brasileira de Psiquiatria**, vol. 1, p. 25-31, 1979.

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 animals. **Journal of Ethnopharmacol**, v.17, n. 1, p.37-64, 1986.

CARLINI, E. A.; MENDES, F. R. Modelos animais para o estudo de drogas ansiolíticas. In: _____ **Protocolos em Psicofarmacologia Comportamental**. 1ª Ed. São Paulo: Editora Fap-Unifesp, 2011.

CHANG, H. J.; KIM, H. J.; CHUN, H. S. Quantitative structure–activity relationship (QSAR) for neuroprotective activity of terpenoids. **Life Sciences**, vol. 80, n. 9, p. 835-841, 2007.

CHAURET, D. C.; BERNARD, C. B.; ARNASON, J. T.; DURST, T. Insecticidal Neolignans from *Piper decurrens*. **Journal of Natural Products**, vol. 59, n. 2, p. 152-155, 1996.

CHAVES, M. C. O.; JÚNIOR, A. G. D. F.; SANTOS, B. V. O. Amides from *Piper tuberculatum* fruits. **Fitoterapia**, vol. 74, n. 1, p. 181-183, 2003.

CHAVES, M. C. O.; OLIVEIRA, A. H.; SANTOS, B. V. O. Aristolactams from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, vol. 34, n. 1, p. 75-77, 2006.

CONSROE, P.; MARTIN, A.; SINGH, V. Antiepileptic potential of cannabinoids analogs. *Journal of Clinical Pharmacology*, vol. 21, p.428-436, 1981.

COOK, D. J.; MULROW, C. D.; HAYNES, B. Systematic reviews: synthesis of the best evidence for clinical decisions. *Annals of Internal Medicine*, vol.126, n. 5, p.376-380, 1997.

COSTA, D. A.; OLIVEIRA, G. A. L.; SOUSA, D. P.; FREITAS, R. M. Avaliação do potencial antioxidante *in vitro* do composto ciano-carvona. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 4, p. 567-575, 2012.

COSTA, J. P.; OLIVEIRA, G. A. L.; ALMEIDA, A. A. C.; ISLAM, M. T.; SOUSA, D. P.; FREITAS, R. M. Anxiolytic-like effects of phytol: Possible involvement of GABAergic transmission **Brain Research**, vol. 1547, p. 34-42, 2014.

COURVOISIER, H; MOISAN, M.P; SARRIEAU, A; HENDLEY, E.D; MORMÈDE, P. Behavioral and neuroendocrine reactivity to stress in the WKHA/WKY inbred rat strains: a multifactorial and genetic analysis. **Brain Research**, vol. 743, n. 1-2, p. 77-85, 1996.

CROMWELL, H. C.; BERRIDGE, K. C. Implementation of action sequences by a neostriatal site: a lesion mapping study of grooming syntax. **Journal of Neuroscience**, v.16, n. 10, p.3444 – 3458, 1996.

CUNHA, J. M.; MASUR, J. Evaluation of Psychotropic Drugs with a Modified Open Field Test. **Pharmacology**, vol. 16, n. 5, p. 259-267, 1978.

CYSNE, J. B.; CANUTO, K. M.; PESSOA, O. D. L.; NUNES, E. P.; SILVEIRA, E. R. Leaf essential oils of four *Piper* species from the State of Ceará-Northeast of Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, vol. 16, n. 6, p. 1378-1381, 2005.

DALLMEIER, K.; CARLINI, E. A. Anesthetic, hypothermic, myorelaxant and anticonvulsant effects of synthetic eugenol derivatives and natural analogues. **Pharmacology**, vol. 22, n. 2, p. 113-127, 1981.

DATTA, A.; GHOSHDASTIDAR, S.; SINGH, M. Antimicrobial property of piper betel Leaf against clinical isolates of bacteria. **International Journal of Pharma Sciences and Research**, vol. 2, n.3, p. 104-109, 2011.

DE GELDER B, SNYDER J, GREVE D, GERARD G, HADJIKHANI N. Fear fosters fight: a mechanism for fear contagion when perceiving emotion expressed by a whole body. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, vol.101, n.47, p. 16701-16706, 2004.

DE LA CRUZ, M. G. F. O uso de óleos essenciais na terapêutica. Disponível em: <<http://laszlo.ind.br/admin/artigos/arquivos/oleosnaterapeutica.pdf>>. Acesso em: 27 de novembro de 2014.

DEIML, T.; HASENEDER, R.; ZIEGLGÄNSBERGER, W.; RAMMES, G.; EISENSAMER, B.; RUPPRECHT, R.; HAPFELMEIER, G. α -Thujone reduces 5-HT₃ receptor activity by an effect on the agonist-induced desensitization. **Neuropharmacology**, vol. 46, n. 2, p.192-201, 2004.

DE-LA-TORRE-UGARTE-GUANILO, M. C.; TAKAHASHI, R. F.; BERTOLOZZI, M. R. Revisão sistemática: noções gerais. **Revista da Escola de Enfermagem USP**, São Paulo, v. 45, n. 5, p. 1260 - 1266, out. 2011. doi: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0080-62342011000500033>>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0080-62342011000500033&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 29 de outubro de 2014.

DESHWAL, V. K. Antimicrobial investigation of *Piper nigrum* L. Against *Salmonella typhi*. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, vol. 3, n.3, p. 100-103, 2013.

DINAN, T. Therapeutic options: Addressing the current dilemm. **European Neuropsychopharmacology**, vol.16, p. S119–S127, 2006.

DUNHAM, N. W.; MIYA, T. S. A Note on a single apparatus for detecting neurological déficits in rats and mice. **Journal of the American Pharmacists Association**, vol. 46, n. 3, p. 208-209, 1957.

DYER, L. A, Palmer, A. D. N. *Piper*: A Model Genus for Studies of Pytochemistry, Ecology, and Evolution. **Kluwer Academic Publisher/New York**, 2004.

ERNST, E. Herbal remedies for anxiety – a systematic review of controlled clinical trials. **Phytomedicine**, vol, 13, n. 3, p. 205–208, 2006.

ERNST, E. Kava update: a European perspective. **Journal of the New Zealand Medical Association**, v. 117, p. 1205, 2004.

FAUSTINO, T. T.; ALMEIDA, R. B.; ANDREATINI, R. Plantas medicinais no tratamento do transtorno de ansiedade generalizada: uma revisão dos estudos clínicos controlados, **Revista Brasileira de Psiquiatria**, vol. 32, n. 4, p. 429-436, 2010.

FELIPE, C.; SOUSA-FILHO, T.; SOUZA, L. E. O.; SILVEIRA, A. J.; UCHOA, E. A.; SILVEIRA, R. E.; PESSOA, D. L. O.; BARROS, G. S. V. Piplartine, an amide alkaloid from

Piper tuberculatum, presents anxiolytic and antidepressant effects in mice. **Phytomedicine**, vol. 14, n. 9, p. 605-612, 2007.

FELTENSTEIN M. W, LAMBDIN L. C, GANZERA M, DHARMARATNE H. R. W, NANAYAKKARA N. P D, KHAN I. A, SUFKA K. J. Anxiolytic Properties of *Piper methysticum* Extract Samples and Fractions in the Chick Social–Separation–Stress Procedure. **Phytotherapy Research**, vol. 17, p. 210–216, 2003.

FERNANDES, C.; FILE, S. E.; The Influence of Open Arm Ledges and Maze Experience in the Elevated Plus-Maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, vol. 54, n. 1, p. 31-40, 1996.

FIGUEIREDO, R. A.; SAZIMA, M. Pollination Biology of Piperaceae Species in Southeastern Brazil. **Annals of Botany**, vol. 85, n. 4, p.455-460, 2000.

FISHER, R. S. Animal models of the epilepsies. **Brain Research Reviews**, vol.14, p.245-278, 1989.

FONTENELE, J. B.; LEAL, L. K. A. M.; SILVEIRA, E. R.; FELIX, F. H.; FELIPE, C. F. B.; VIANA, G. S. B. Antiplatelet effects of pipartine, na alkamide isolated from *Piper tuberculatum*: possible involvement of cyclooxygenase blockade and antioxidant activity. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.61, n. 4, p.511- 515, 2009.

FU, M.; SUN, Z.; ZUO, H. Neuroprotective Effect of Piperine on Primarily Cultured Hippocampal Neurons. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, vol. 33, n. 4, p. 598—603, 2010.

GARRETT K. M, BASMADJIAN G, KHAN I. A, SCHANEBERG T, SEALE T. W. Extracts of kava (*Piper methysticum*) induce acute anxiolytic-like behavioral changes in mice. **Psychopharmacology**, vol. 170, n. 1, p.33–41, 2003

GASTPAR M, KLIMM H. D. Treatment of anxiety, tension and restlessness states with Kava special extract WS® 1490 in general practice: A randomized placebo-controlled double-blind multicenter Trial. **Phytomedicine**, vol. 10, n. 8, p. 631–639, 2003.

GEIER F. P.; KONSTANTINOWICZ T. Kava Treatment in Patients with Anxiety. **Phytotherapy Research**, vol. 18, n. 4, p. 297–300, 2004.

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

GOMES, M. M.; QUINHONES, M. S.; ENGELHARDT, E. Neurophysiology of sleep and pharmacotherapeutic aspects of their disorders. **Revista Brasileira de Neurologia**, vol.46, n.1, p.5-15, 2010.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. As bases farmacológicas da terapêutica. 11ª ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill, 2012.

GORENSTEIN, C; SCAVONE C. Avanços em psicofarmacologia - mecanismos de ação de psicofármacos. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 21, n. 1, p. 64-73,1999.

GRAEFF, F. G., & HETEM, L. A. B. Neurobiologia. In L. A. B. Hetem, F. G. Graeff (Eds.). **Transtornos de Ansiedade**. São Paulo: Ed. Atheneu, p. 107-132, 2004.

GRAEFF, F. G.; ZANGROSSI, H. - ANIMAL MODELS OF ANXIETY DISORDERS. IN: D'HAENEN, H.; DEN BOER, J. A.; WESTENBERG, H.; WILLNER, P. (eds.). Textbook of biological psychiatry. John Wiley & Sons, London, pp. 879-893, 2002.

GRAHAM, R.; DEVINSKY, O.; LABAR, K. S. Quantifying deficits in the perception of fear and anger in morphed facial expressions after bilateral amygdala damage. **Neuropsychology**, vol. 45, n. 1, p. 42–54, 2006.

GRANGER, R. E.; CAMPBELL, E. L.; JOHNSTON, G. A. R. (+)- And (-)-borneol: efficacious positive modulators of GABA action at human recombinant $\alpha 1 \beta 2 \gamma 2 L$ GABAA receptors. **Biochem Pharmacol**, vol. 69, n. 7, p. 1101-1111, 2005.

GUIMARÃES, A. G.; QUINTANS, J. S. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Monoterpenes with Analgesic Activity-A Systematic Review. **Phytotherapy Research**, vol. 27, n. 1, p. 1-15, 2013.

GUIMARÃES, E. F.; GIORDANO, L. C. S. Piperaceae do nordeste brasileiro I: estado do Ceará. **Rodriguésia, Rio de Janeiro**, vol. 55, n. 84, p. 21-46, 2004.

GUTIERREZ, R. M. P.; COTERA, L. B. F.; GONZALEZ, A. M. N. Evaluation of the Antioxidant and Anti-glycation Effects of the Hexane Extract from *Piper auritum* Leaves in Vitro and Beneficial Activity on Oxidative Stress and Advanced Glycation End-Product-Mediated Renal Injury in Streptozotocin-Treated Diabetic Rats. **Molecules**, vol. 17, n. 10, p. 11897-11919, 2012.

GUZMÁN-GUTIÁRREZ, S. L.; GÓMEZ-CANSINO, R.; GARCÍA-ZEBADÚA, J. C.; JIMÉNEZ-PÉREZ, N. C.; REYES-CHILPA, R. Antidepressant activity of *Litsea glaucescens* essential oil : Identification of b-pinene and linalool as active principles. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 143, p. 673–679, 2012.

HEWAGEEGANA, H. G. S. P.; ARAWWAWALA, L. D. A. M.; ARAMBEWELA, L. S. R.; ARIYAWANSA, H. S. *Piper betle* Linn: As a remedy for diabetes mellitus. **International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy**, vol. 2, n. 5, 1601-1603, 2011.

HÖISTAD, M.; BARBAS, H. Sequence of information processing for emotions through pathways linking temporal and insular cortices with the amygdala. **Neuroimage**, vol. 40, n. 3, p.1016-1033, 2008.

HOSSAIN, S. J.; AOSHIMA, H.; KODA, H.; KISO, Y. Fragrances in Oolong tea that enhance the response of GABAA receptors. **Biosci Biotechnol Biochem**, vol. 68, n. 9, p. 1842-1848, 2004.

HUTCHINSON, J. **The families of flowering plants**. 3th ed., London, Clarendon Press. 1973

JARAMILLO, M. A.; MANOS, P. S. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *piper* (piperaceae). **American Journal of Botany**, vol. 88, n.4, p. 706–716, 2001.

JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; NGASSOUM, M. B.; GEISSLER, M. Aroma compound analysis of *Piper nigrum* and *Piper guineense* essential oils from Cameroon using solid-phase microextraction–gas chromatography, solid-phase microextraction–gas chromatography–

Cmass spectrometry and olfactometry. **Journal of Chromatography**, vol. 8, n. 1-2, p. 265–275, 2002.

JUCÁ, D. M. Propriedades farmacológicas dos monoterpenos α e β pineno no músculo liso gastrointestinal de ratos: efeito miorelaxante e pró-cinético. 2007. 87 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

JUNIOR, V. B. S.; BERMUDEZ, G. M.M.; GUIMARÃES, E. F. Diversidade de Piperaceae em um remanescente de Floresta Atlântica na região serrana do Espírito Santo, Brasil. **Biotemas**, vol. 27, n. 1, p.49-57, 2014.

JUSTO, S. C.; SILVA, C. M. Piper methysticum G. Forster (Kava-Kava): Uma abordagem geral. **Revista Eletrônica de Farmácia**. vol. 5, n.1, p.73-82, 2008.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSEL, T. M. Principles of neural science.4 ed. New York: McGraw- Hill, 2000. 1414p.

KANG, T.; KANG, J. H.; KIM, H. T.; LEE, S. J.; CHOI, U.; KIM, J.; KWAK, S.; KIM, D., CHOI, S.; KWON, O. Anticonvulsivant characteristics of pyridoxil- γ -aminobutyrate, PL GABA. **Neuropharmacology**, vol. 54, n. 6, p. 954-964, 2008.

KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B. **Farmacologia Básica & Clínica**. 12ª edição. Editora Mcgraw-hill interamericana. 2014

KAUL, S.; FAIMAN, M. D.; LUNTE, C. E. Determination of GABA, glutamate and carbamathione in brain microdialysis sample by capillary electrophoresis with fluorescence detection. **Electrophoresis**, vol. 32, n. 2, p. 284-291, 2011.

KEELEY, M. L.; STORCH, E. A. Anxiety disorders in youth. **Journal of Pediatric Nursing**, v. 24, p. 26-40, 2009.

KHOM, S.; STROMMER, B.; SCHOFFMANN, A.; HINTERSTEINER, J.; BABURIN, I.; ERKER, T.; SCHWARZ, T.; SCHWARZER, C.; ZAUGG, J.; HAMBURGER, M.; HERING, S. GABAA receptor modulation by piperine and a non-TRPV1 activating derivative. **Biochemical Pharmacology**, vol. 85, p. 1827–1836, 2013.

KLOHS, M. W, KELLER, F, WILLIAR'IS, R. E, TOEKES, M. I, CRONHEIM, G. E. **A Chemical and Pharmacological Investigation of Piper Methysticum Forst.** Joiurnal of Medicinal and Pharmaceutical Chemistry, vol. 1, n. 1, p. 95-103, 1959.

KOLAWOLE, O. T.; MAKINDE, J. M.; OLAJIDE, O. A. Central nervous system depressant activity of russelia equisetiformis. **Nigerian Journal of Physiological Sciences**, vol. 22, n.1-2: 59-63. 2007.

KORPI, E. R.; GRUNDER, G.; HARTMULT, L. Drug interactionat GABAA receptors. **Progress in Neurobiology**, v.67, p.113-159 2002.

KRALIC, J. E.; O'BUCKLEY, T. K.; KHISTI, R. T.; HODGE, C. W.; HOMANICS, G. E.; MORROW, A. L. GABAA receptor α -1 subunit deletion alters subtype assembly, pharmacological and behavioral responses to benzodiazepines and zolpidem. **Neuropharmacology**, vol. 43, p.685 – 694, 2002.

KUBO M, ISHII R, ISHINO, Y, HARADA, K.; MATSUI, N.; AKAGI, M.; KATO, E.; HOSODA, S.; FUKUYAMA, Y. Evaluation of Constituents of *Piper retrofractum* Fruits on Neurotrophic Activity. *Journal of Natural Products*, vol. 76, n. 4, p.769–773, 2013.

KUMAR, S.; ARYA, P.; MUKHERJEE, C.; SINGH, B. K.; SINGH, N.; PARMAR, V. S.; PRASAD, A. K.; GHOSH, B. Novel aromatic ester from *Piper longum* and its analogues inhibit expression of cell adhesion molecules on endothelial cells. *Biochemistry*, v. 44, n. 48, p. 15944-15952, 2005.

KUPFERBERG, H. J.; SCHMUTZ, M. Screenig of new compounds and the role of the pharmaceutical industry. In. ENGEL, J.; PEDLEY, T. (ed.). *Epilepsy: a comprehensive textbook*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, p. 1417-1434, 1997.

LANOTTE, M.; LOPIANO, L.; TORRE, E.; BERGAMASCO, B.; COLLOCA, L.; BENEDETTI F. Expectation enhances autonomic responses to stimulation of the human subthalamic limbic region. *Brain Behav Immun*, vol. 19, n. 6, p. 500-9, 2005.

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.

LAPORTE, E.; SARRIS, J.; STOUGH, C.; SCHOLEY, A. Neurocognitive effects of kava (*Piper methysticum*): a systematic review. *Human Psychopharmacology*, vol. 26, n. 2, 102–111, 2011.

LAS HERAS, B.; RODRIGUEZ, B.; BOSCA, L. VILLAR, A. M. Terpenoids: sources, structure elucidation and therapeutic potential in inflammation. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, vol. 3, n. 2, p. 171-185, 2003.

LAVOR, P. L.; SANTIAGO , G. M.; GOIS, R. W.; SOUSA, L. M.; BEZERRA, G. P.; ROMERO, R. N.; ARRIAGA, A.M.; LEMOS, T.L.; ALVES, P. B.; GOMES, P. C. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from northeast Brazil. *Natural product communications*, vol.7, n.10, p. 1391-1392, 2012.

LEE, E.B., SHIN, K.H., WOO, W.S. Pharmacological study on piperine. *Archives of Pharmacol Research*, vol. 7, n. 2, p. 127–132, 1984.

LEE, S. A.; HONG, S. S.; HAN, X. H.; HWANG, J. S.; OH, G. J.; LEE, K. S.; LEE, M. K.; HWANG, B. Y.; RO, J. S. Piperine from the fruits of *Piper longum* with inhibitory effect on monoamine oxidase and antidepressant-like activity. *Chemical & pharmaceutical bulletin*, vol. 53, n. 7, p. 832-835, 2005.

LEITE, A. M.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. .; DINIZ, M. F. F. M.; TRAJANO, V. N.; MEDEIROS , I. A. Propriedades inibitória do eugenol, beta pineno e alfa pineno sobre o crescimento de bactérias gram-positivas potencialmente causadoras de endocardite infecciosa. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, vol. 43, n. 1, p. 121-126, 2007.

LETIZIA, C. S.; COCCHIARA, J.; LALKO, J. Api AM. Fragrance material review on linalool. *Food & Chemical Toxicology*, vol. 41, n. 7, p. 943–964, 2003.

LIBROWSKI, T.; CZARNECKI, R.; MENDYK, A.; JASTRZEBSKA, M. Influence of new monoterpene homologues of GABA on the central nervous system activity in mice. **Polish Journal of Pharmacology**, vol. 52, n. 4, p.317–321, 2000.

LISTER, R. G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 46, n. 3, p. 321-340, 1990.

LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, vol. 92, n. 2, p. 180-185, 1987.

LIU, H.; LUO, R.; CHEN, X.; LIU, J.; BI, Y.; ZHENG, L.; WU, X. Tissue distribution profiles of three antiparkinsonian alkaloids from *Piper longum* L. in rats determined by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, vol. 928, p. 78-82, 2013.

LIU, O.-X.; CHEN, K.; SUN, Q-Y.; YANG, F-M.; HU, G-W.; WANG, Y-H.; LONG, C-L. Nudibaccatumone, a trimer comprising a phenylpropanoid and two sesquiterpene moieties from *Piper nudibaccatum*. **Journal of natural products**, vol. 76, n. 4, p. 732-736, 2013.

LOPES, J. J.; MARX, C.; INGRASSIA, R.; PICADA, J. N.; PEREIRA, P.; FERRAZ ADE, B. Neurobehavioral and toxicological activities of two potentially CNS-acting medicinal plants of *Piper* genus. **Experimental and Toxicologic Pathology**, vol. 64, n. (1-2), p. 9-14, 2012.

LOSCHER, W.; SCHMIDT, D. New horizons in the development of antiepileptic drugs. **Epilepsy Research**, vol. 50, n. 1-2, p.3–16, 2002.

LOWSON, S.; GENT, J. P.; GOODCHILD, C. S. Anticonvulsant properties of propofol and thiopentone: comparison using two tests in laboratory mice. **British Journal Anaesthesia**, v.64, n.1, p.59-63 1990.

LU, J.; GRECO, M. A. Sleep Circuitry and the Hypnotic Mechanism of GABA. **Journal of Clinical Sleep Medicine**, vol. 2, n.2, p. 19-26, 2006.

LUKAS, G.; BRINDLE, S. D.; GREENGARD, P. The route of absorption of intraperitoneally administered compounds. *The journal of Pharmacology and experimental therapeutics*, vol. 178, n. 3, p. 562-566, 1971.

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

MACRAE, W. D. AND TOWERS, G. H. N. Biological activities of lignans. **Phytochemistry**, vol. 23, n. 6, p. 1207-1220, 1984

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

MALONE, M. H.; ROBICHAUD, R. C. The pharmacological evaluation of natura products - General and; pecificapproaches to screening ethnopharmaceuticals. **Journal Ethnopharmacol**, vol. 8, n. 2, p. 127-147, 1983.

MALSCH, U.; KIESER, M. Efficacy of kava-kava in the treatment of non-psychotic anxiety, following pretreatment with benzodiazepines. **Psychopharmacology**, vol. 157, n. 3, p. 277–283, 2001.

MAMUN, A.; M. H. KHATUN. Evaluation of CNS depressant and analgesic activities of the methanol extract of *Piper longum* linn. Leaves. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, vol. 2, n. 11, p. 2874-2879, 2011.

MANSUR, J.; MARTZ, R. M. W.; CARLINI, E. A. Effects of acute and chronic administration of cannabis sativa and (-) 9-trans tetrahydrocannabinol on the behaviour of rats in open field arena. **Psychopharmacology**, v. 19, p. 338-397, 1971.

MAO, Q. Q.; XIAN, Y. F.; IP, S. P.; CHE, C. T. Involvement of serotonergic system in the antidepressant-like effect of piperine. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, vol. 35, n. 4, p. 1144–1147, 2011.

MARGIS, R.; PICON, P.; COSNER, A. F.; SILVEIRA, R. O. Relação entre estressores, estresse e ansiedade. *Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul*, vol. 25, n. 1, p. 65-74, 2003.

MARQUES, A. M.; BARRETO, A. L. S.; CURVELO, J. A. R.; ROMANOS, M. T. V.; SOARES, R. M. A.; KAPLAN, M. A. C. Antileishmanial activity of nerolidol-rich essential oil from *Piper clausenianum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol. 21, n. 5, p. 908-914, 2011.

MARQUES, A. M.; BARRETO, A. L.; BATISTA, E. M.; CURVELO, J. A.; VELOZO, L. S.; MOREIRA DDE, L.; GUIMARÃES, E. F.; SOARES, R. M.; KAPLAN, M. A. Chemistry and biological activity of essential oils from *Piper clausenianum* (Piperaceae). **Natural product communications**, vol. 5, n. 11, p. 1837-1840, 2010.

MARQUES, T. H. C.; MARQUES, M. L. B. G. C. B.; LIMA, D. S.; SIQUEIRA, H. D. S.; NETO, J. D. N.; BRANCO, M. S. B. G. C.; SOUZA, A. A.; SOUSA, D. P.; FREITAS, R. M. Evaluation of the neuropharmacological properties of nerol in mice. **World Journal of Neuroscience**, vol. 3, n. 1, p. 32-38, 2013.

MARTIN, J. L.; SAINZ-PARDO, M.; FURUKAWA, T. A.; MARTIN-SANCHEZ, E.; SEOANE, S.; GALAN, C. Review: benzodiazepines in generalized anxiety disorder: heterogeneity of outcomes based on a systematic review and meta-analysis of clinical trials. **Journal Psychopharmacol**, v. 21, n. 7, p.774-782, 2007.

MASSAQUOI, S. G.; HALLETT, M. Ataxia and other cerebellar syndromes. In: Jankovic J, Tolosa E, editors. **Parkinson's disease and movement disorders**. Baltimore: Williams e Wilkins; 1998.

MATSUDA, H.; NINOMIYA, K.; MORIKAWA, T.; YASUDA, D.; YAMAGUCHI, I.; YOSHIKAWA, M. Hepatoprotective amide constituents from the fruit of *Piper chaba*: Structural requirements, mode of action, and new amides. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, vol. 17, n. 20, p. 7313–7323, 2009.

MATSUI, K. & MUNAKATA, K. Four new neolignans from *Piper futokadzura* **Tetrahedron Letters**, vol. 17, n. 48, p.4371- 4374, 1976.

MATTEI, R.; FRANÇA, C. I. F. Testes gerais para confirmar a ação central: modelos animais em psicofarmacologia. In: Almeida, R. N. **Psicofarmacologia: Fundamentos Práticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 138-142, 2006.

MENEZES, G. B.; FONTENELLE, L. F.; MULULO, S.; VERSIANI, M. Resistência ao tratamento nos transtornos de ansiedade: fobia social, transtorno de ansiedade generalizada e transtorno do pânico. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, vol. 29, n. 2, p. 55-60, 2007.

MENEZES, I. A. C.; MOREIRA, Í. J. A.; DE PAULA, J. W. A.; BLANK, A. F.; ANTONIOLLI, A. R.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; SANTOS, M. R. V. Cardiovascular effects induced by *Cymbopogon winterianus* essential oil in rats: involvement of calcium channels and vagal pathway. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, vol. 62, n. 2, p. 215-221, 2010.

MESQUITA1, J. M. O; CAVALEIRO, C; CUNHA, A. P.; LOMBARD, J. A.; OLIVEIRA, A. B. Estudo comparativo dos óleos voláteis de algumas espécies de Piperaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol. 15, n. 1, p. 6-12, 2005.

MOCAIBER, I.; OLIVEIRA, L.; PEREIRA, M. G.; MACHADO-PINHEIRO, W.; VENTURA, P. R.; FIGUEIRA, I. V.; VOLCHAN, E. Neurobiologia da regulação emocional: implicações para a terapia cognitivo-comportamental. **Psicologia em Estudo**, Maringá, vol. 13, n. 3, p. 531-538. 2008.

MODELLO, F.; DE BERNARDIS, F.; GIROLAMO, A.; CASSONE, A.; SALVATORES, G. In vivo activity of terpinen-4-ol, the main bioactive component of *Melaleuca alternofilia* Cheel (tea tree) oil against azole-susceptible and resistant human pathogenic *Candida* species. **BMC Infectious Diseases**, vol. 6, 158, 2006.

MONTANHA, F. P.; AZEVEDO, M. G. P. Drug administration: advantages and disadvantages of different ways. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, n. 20, 2013. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/aKogti4uNzM2EtQ_2013-6-21-16-16-23.pdf> Acesso em 25 de outubro de 2014.

MONTENEGRO, F. C.; M. C. P.; FILHO, J. M. B.; ALMEIDA, R. N. Evidência de uma ação central exercida pela fração total de alcalóides de *Chondrodendron platyphyllum* camundongos. Evidence of a central activity exerted by total alkaloid fraction of *Chondrodendron Platyphyllum* in mice. **Revista brasileira ciências da Saúde**, vol. 14, n. 2, 2010.

MOODY, T. W.; MERALI, Z., CRAWLEY, J. N. The effects of anxiolytics and other agents on rat grooming behavior. **Annals of the New York Academy of Sciences**, vol. 525, n. 1 p. 281-290, 1988.

MOREIRA, D. L.; SOUZA P. O.; KAPLAN, M. A.; PEREIRA, N. A.; CARDOSO, G.L. GUIMARÃES, E. F. Effect of leaf essential oil from *Piper solmsianum* C. DC. in mice behaviour. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, vol.73 n. 1, p. 33-37, 2001.

MULLER, E. D. Análise do potencial antimicrobiano, citotóxico e mutagênico de extrato e substâncias obtidas de diferentes espécies de *Piper*. 2011. Dissertação (Programa de Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas) Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2011.

MUROI, Y.; CZAJKOWSKI, C.; JACKSON, M. B. Local and global ligand-induced changes in the structure of the GABAA receptor. **Biochemistry**, vol. 45, n. 23, p. 7013-7022, 2006.

NAHAK, G.; SAHU, R. K. Phytochemical Evaluation and Antioxidant activity of Piper cubeba and Piper nigrum). **Journal of Applied Scienses**, vol. 1, n. 8, p. 153-157, 2011.

NAKAMURA, C. V.; SANTOS, A. O.; VENDRAMETTO, M. C.; LUIZE, P. S.; DIAS FILHO, B. P.; CORTEZ, D. A. G.; UEDA-NAKAMURA, T. Atividade antileishmania do extrato hidroalcoólico e de frações obtidas de folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol.16, n. 1, p. 61-66, 2006.

NARDI, A. E. Some notes on a historical perspective of panic disorder. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, vol. 55, n. 2, p. 154-160, 2006.

NAVICKIENE, H. M. D.; BOLZANI, V. S.; KATO, M. J.; PEREIRA, M. S.; BERTONI, B. W.; FRANÇA, S. C.; FURLAN, M. Quantitative determination of anti-fungal and insecticide amides in adult plants, plantlets and callus from *Piper tuberculatum* by reverse-phase high-performance liquid chromatography. **Phytochemical Analysis**, v. 14, n. 5, p. 281-284, 2003.

NAVICKIENE, H. M.; ALÉCIO, A. C.; KATO, M. J. BOLZANI, V. S.; YOUNG, M. C. M.; CAVALHEIRO, A. J.; FURLAN, M. Antifungal amides from de *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 621-626, 2000.

NEWALL, C.A; ANDERSON L. A. PHILLIPSON, J. D. **Plantas Mediciniais – Guia para profissional de saúde**. Editora Premier, 2002.

NICOLINI, H.; BAKISH, D.; DUENAS, H.; SPANN, M.; ERICKSON, J.; HALLBERG, C.; BALL, S.; SAGMAN, D.; RUSSELL, M. Improvement of psychic and somatic symptoms in adult patients with generalized anxiety disorder: examination from a duloxetine, venlafaxine extended-release and placebo controlled trial. **Psychological Medicine**, vol. 39, n. 2, p. 267-276, 2009.

OCHSNER, K. N., BUNGE, S. A., GROSS, J. J.; GABRIELI, J. D. Rethinking feelings: An FMRI study of the cognitive regulation of emotion. **Journal of Cognitive Neuroscience**, vol. 14, n. 8, p.1215-1229, 2002.

OECD - Organization for Economic Co-operation and Development, Guideline 425: **Acute Oral Toxicity: Modified Up-and-Down Procedure**. 2008.

OKOLI, C. O.; ONYETO, C. A.; AKPA, B. P.; EZIKE, A. C.; AKAH, P. A.; OKOYE, T. C. Neuropharmacological evaluation of *Annona senegalensis* leaves. **African Journal of Biotechnology**, vol. 9, n. 49, p. 8435-8444, 2010.

OLIVEIRA, A. O.; MESQUITA, J. T.; TEMPONE, A. G.; LAGO, J. H. G.; GUIMARÃES, E. F.; KATO, M. J. Leishmanicidal activity of an alkenylphenol from *Piper malacophyllum* is related to plasma membrane disruption. **Experimental Parasitology**, vol. 132, n. 2012, p. 383–387, 2012.

OLIVEIRA, E. D. Mecanismo de ação vasorrelaxante da pipartina, uma alcalamida isolada das raízes e do caule de *Piper tuberculatum* Jacq. (piperaceae), em aorta de rato. **Dissertação de**

mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Universidade Federal da Paraíba – UFPB, 2000.

OLIVEIRA, G. L.; CARDOSO, S. K.; JUNIOR-LARA, C. R.; GUIMARÃES, E. F.; FIGUEIREDO, L. S.; MARTINS, E. R.; MOREIRA, D. L.; KAPLAN, M. A. Chemical study and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Piper aduncum* L. (Piperaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, vol. 85, n. 4, p. 1227-1234, 2013.

OLONISAKIN, A.; OLADIMEJI, M. O.; LAJIDE, L. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Steam Distilled Oil of Ashanti Pepper (*Piper guineense*) Fruits (Berries). **Journal of Applied Sciences**, vol. 6, n. 11, p. 2520-2522, 2006.

OLSON, R. GABA. In: Davis K, Charney D, Coyle J, Nemeroff C, editors. Neuropsychopharmacology: **The fifth generation of progress**. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins 2002.

ORJALA, J., WRIGHT, A. D., ERDELMEIER, C. A. J., STICHER, O.; RALI, T. New from *Piper aduncum*. **Helvetica Chimica Acta**, vol. 76, p.1481-1494, 1993.

ORTIZ, J. G.; NIEVES-NATAL, J.; CHAVEZ, P. Effects of Valeriana officinalis extracts on [3 H] flunitrazepam binding, synaptosomal [3 H]GABA uptake, and hippocampal [3 H]GABA release. **Neurochemical Research**, vol. 24, n. 11, p. 1373-1378, 1999.

PAES-GONÇALVES, H.; FACUNDO, V. A.; SANTOS, D. M. F.; SILVA, A. G. C.; BALLICO, L. J.; LIMA, D. K. S.; STÁBELI, R. G.; SILVA- JARDIM, I. The leishmanicidal activity of acyclopentenedione derivative isolated from the roots of a native Amazonian pepper (*Piper caribaeum*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol. 22, n. 5, p. 1018-1023, 2012.

PALACIOS, G. Z. F.; DELGADO G. E.; MORENO, M. C.; KATO, M. J.; ROJAS, C. In vitro antifungal activity of crude extracts of *Piper tuberculatum*. **Revista Peruana de biologia**, vol. 16, n. 2, p. 209-214, 2009.

PAN, S. L.; XIE, J.; QIAN, F. G.; WANG, J.; SHAO, Y. C. Antidepressant amides from *Piper laetispicum* C. DC. **Yao xue xue Bao**, vol. 40, n. 4, p. 355-357, 2005.

PANUS, C. P.; JOBST, E. E.; TINSLEY, L. S. **Farmacologia para Fisioterapeutas**. Artmed, Porto Alegre, 2011.

PARMAR, V. S. et al. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry**, Elmsford, v. 46, n. 4, p. 597-673, 1997.

PASQUINI, M.; BERARDELLI, I. Anxiety levels and related pharmacological drug treatment: a memorandum for the third millennium. **AnnIst Super Sanita**, vol. 45, n. 2, p.193–204, 2009.

PASSOS, C. S.; ARBO, M. D.; RATES, S. M. K.; VON POSER, G. Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n.1, p.140-149, 2009.

PATTANAIK, S.; HOTA, D.; PRABHAKAR S.; Effect of Piperine on the Steady-state Pharmacokinetics of Phenytoin in Patients with Epilepsy. **Phytotherapy Research**, vol. 20, n. 8, p. 683–686, 2006.

PATTANAIAK, S.; HOTA, D.; PRABHAKAR S.; Pharmacokinetic Interaction of Single Dose of Piperine with Steady-state Carbamazepine in Epilepsy Patients. **Phytotherapy Research**, vol. 23, n. 9, p.1281–1286, 2009.

PEDERSEN, M. E.; METZLER, B.; STAFFORD, G. I.; STADEN, J. V.; JAGER, A. K.; RASMUSSEN, H. B. Amides from *Piper capense* with CNS activity–A Preliminary SAR analysis. **Molecules**, vol.14, n. 9, p. 3833-3843, 2009.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; S. E.; BRILEY, M. Validation of open" closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, vol.14, n. 3, p.149-167, 1985.

PERGENTINO DE SOUZA D, FARIAS NÓBREGA FF, ALMEIDA RN. Influence of the chirality of (R)-(-)- and (S)-(+)- carvone in the central nervous system: a comparative tudy. **Chirality**, vol. 19, p. 264-268, 2007.

PEREIRA, P. M. P.; CARVALHES, T. C. L. Ação antagonista do flumazenil sobre o midazolan. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, vol. 46, n. 6, p. 369-375, 1991.

PEUNGVICHA, P.; THIRAWARAPAN, S.S.; TEMSIRIRIRKKUL, R.; WATANABE, H.; PRASAIN, J. K.; KADOTA, S. Hypoglycemic effect of the water extract of *Piper sarmentosum* in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.60, n. 1, p.27 – 32, 1998.

PHAN, K. L.; WAGER, T.; TAYLOR, S. F.; LIBERZON, I. Functional neuroanatomy of emotion: a meta-analysis of emotion activation studies in PET anf fMRI. *Neuroimage*, vol. 16, n. 2, p. 331-348, 2002.

PINTO, W. B. V. R.; KO, G. M.; VALERO-LAPCHIK, V. B.; ARIZA, C. B.; PORCIONATTO, M. Teste de labirinto em cruz elevado: aplicações e contribuições no estudo de doenças neuropsiquiátricas em modelos animais. **ResbcaL**, vol.1, n.1, p. 102-120, 2012.

POHLIT, A. M.; QUINARD, E. L. J.; NUNOMURA, S. M.; TADEI, W. P.; HIDALGO, A. F.; PINTO, A. C. S.; SANTOS, E. V. M.; MORAIS, S. K. R.; SARAIVA, R. C. G.; MING, L. C.; ALECRIM, A. M.; FERRAZ, A. B.; PEDROSO, A. C. S.; DINIZ, E. V.; FINNEY, E. K.; GOMES, E. O.; DIAS, H. B.; SOUZA, K. S.; OLIVEIRA, L. C. P.; DON, L. C.; QUEIROZ, M. M. A.; HENRIQUE, M. C.; SANTOS, M.; JUNIOR, O. S. L.; PINTO, P. S.; SILVA, S. G.; GRAÇA, Y. R.; Screening of plants found in the State of Amazonas, Brazil for activity against *Aedes aegypti* larvae. **Acta amazônica**, vol. 34, n. 1, p. 97-105, 2004.

POTZERNHEIM, M. C. L.; BIZZO, H. R.; VIEIRA, R. F. Análise dos óleos essenciais de três espécies de *Piper* coletadas na região do Distrito Federal (Cerrado) e comparação com óleos de plantas procedentes da região de Paraty, RJ (Mata Atlântica). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol. 16, n. 2, p. 246-251, 2006.

PRUT, L. BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects o drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**, vol. 463, n. 1-3, p. 3-33, 2003.

QUIJANO-ABRIL, M. A. R.; CALLEJAS-POSADA, D. R.; MIRANDA-ESQUIVEL. Areas of endemism and distribution patterns for Neotropical *Piper* species (Piperaceae). **Journal of Biogeography**, vol. 33, n. 7, p. 1266–1278, 2006.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; MOORE, P. K. **Farmacologia**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

RAZA, M.; ALGHASHAM, A. A.; ALORAINY, M. S.; EL-HADIYAH, T. M. Potentiation of Valproate-induced Anticonvulsant Response by *Nigella sativa* Seed Constituents: The Role of GABA Receptors. **International Journal of Health Sciences (Qassim)**, vol 2, n. 1, p. 15–25, 2008.

RAZA, M.; EL-HADIYAH, T. M.; AL-SHABANAH, O. A. Nigella sativa Seed Constituents and Anxiety Relief in Experimental Models. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, vol. 12, n. 1-2, p. 153-164, 2006.

REDDY, S. P.; JAMIL. K.; MADHUSUDHAN, P. ANJANI, G.; DAS, B. Antibacterial activity of isolates from *Piper longum* and *Taxus baccata*. **Pharmaceutical Biology**, vol. 39, n. 3, p. 236-238, 2001.

REIGADA, J. B. Chemical constituents from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae) – antifungal activities and kinetic resolution of (RS)- marginatumol by *Candida antarctica* lipase (Novozym 435). **Tetrahedron: Asymmetry**, v.18, n. 9, p.1054-1058, 2007.

RIDTITID, W.; RATTANAPROM, W.; THAINA, P.; CHITTRAKARN, S.; SUNBHANICH, M. Neuromuscular blocking activity of methanolic extract of *Piper sarmentosum* leaves in the rat phrenic nervehemidiaphragm preparation. **Journal of Ethnopharmacology**, v.61, n. 2, p.135 -142, 1998.

RIELLA, K. R.; MARINHO, R. R.; SANTOS, J. S.; PEREIRA-FILHO, R. N.; CARDOSO, J. C.; ALBUQUERQUE-JUNIOR, R. L. C.; THOMAZZI, S. M. Anti-inflammatory and cicatrizing activities of thymol, a monoterpene of the essential oil from *Lippia gracilis*, in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, n. 2, p. 656-663, 2012.

RILEY, H.; SPINKS, A. A biological assessment of tranquilizers. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.10, p.657 – 671, 1958.

RODGERS R. J.; DALVI A. Anxiety, defence and the elevated plus maze. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v.21, n. 6, p.801 – 810, 1997.

RODRIGUES, R. V. Estudo fitoquímico dos frutos de piper tuberculatum (Jacq.) e avaliação da atividade antinociceptiva dos extratos e constituintes isolados. Porto Velho. Curso de pós-graduação em biologia experimental. Tese de Doutorado, 2009.

ROGERO, S. O, LUGÃO, A. B, IKEDA, T. I, CRUZ, A. S. Teste in vitro de Citotoxicidade: Estudo Comparativo entre duas Metodologia. **Materials Research**, vol. 6, n. 3, p. 317-320, 2003.

ROSEN, J. B.; SCHULKIN, J. From normal fear to pathological anxiety. **Psychological Review**, vol. 105, n. 2, p.325–350, 1998.

RUSTAY, N.R; WAHLSTEN, D.; CRABBE, J. C. Influence of task parameters on rota rod performance and sensitivity to ethanol in mice. **Behavioural Brain Research**, v.141, n. 2, p. 237-249, 2003.

SALLEH, W. M.; AHMAD, F.; YEN, K. H.; SIRAT, H. M. Chemical compositions, antioxidant and antimicrobial activity of the essential oils of *Piper officinarum* (Piperaceae). **Natural product communications**, vol. 7, n. 12, p. 1659-1662, 2012..

SANTOS, P. R. D.; MOREIRA, D. L.; GUIMARÃES, E. F.; KAPLAN, M. A. C. Essential oil of 10 Piperaceae species from the Brazilian Atlantic forest. **Phytochemistry**, vol. 58, n. 4, p. 547-551, 2001.

SANTOS, R. A.; RAMOS, C. S.; YOUNG, M. C. M.; PINHEIRO, T. G.; AMORIM, A. M.; KATO, M. J.; BATISTA, R. Antifungal Constituents from the Roots of *Piper dilatatum* Rich. **Journal of Chemistry**, vol. 2013, p. 160-165, 2013.

SARRIS J, SCHOLEY A, SCHWEITZER I, BOUSMAN C, LAPORTE E, NG C, MURRAY G, STOUGH C. The acute effects of kava and oxazepam on anxiety, mood, neurocognition; and genetic correlates: a randomized, placebo controlled, double-blind study. **Human Psychopharmacology Clinical and Experimental**, vol. 27, n. 3, p. 262–269, 2012.

SCOTT, I. M.; JENSEN, H.; NICOL, R.; LESAGE, L.; BRADBURY, R.; SANCHEZ-VINDAS, P.; POVEDA, L.; AMASON, J. T.; PHILOGÉNE, B. J. Efficacy of Piper (Piperaceae) extracts for control of common home and garden insect pests. **Journal of economic entomology**, vol. 97, n. 4, p. 1390-1403, 2004.

SERAFIM, A.P.; FELÍCIO, L. F. Dopaminergic modulation of grooming behavior in virgin and pregnant rats. **Brazilian Journal Medical and Biological Research**, vol. 34, n. 11, p. 1465-2001.

SETZER, W. N.; SETZER, M. C.; MORIARITY, D. M.; BATES, R. B.; HABER, W. A. Biological activity of the essential oil of *Myrcianthes* sp. nov. black fruit“ from Monteverde, Costa Rica. **Planta Medica**, vol. 65, n. 5, p. 468–9, 1999.

SILVA, A. C. R.; LOPES, P. M.; AZEVEDO, M. M. B.; COSTA, D. C. M.; ALVIANO, C. S.; ALVIANO, D. S. Biological Activities of α -Pinene and β -Pinene Enantiomers. **Molecules**, vol. 17, n. 6, p. 6305-6316, 2012.

SILVA BRUM, L. F., ELISABETSKY, E., SOUZA, D.: Effects of Linalool on [(3)H]MK801 and [(3)H] muscimol binding in mouse cortical membranes. **Phytotherapy Research**, vol.15, n. 5, p. 422–425, 2001.

SILVA, D.; BARONI, S.; SVIDZINSKI, A. E.; BERSANI-AMADO, C. A.; CORTEZ, D. A. Anti-inflammatory activity of the extract, fractions and amides from the leaves of *Piper ovatum* Vahl (Piperaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 116, n. 3, p. 569–573, 2008.

SIMMONDS, N. W. & R. STEVENS. R. Occurrence of the methylene-dioxy bridge in the phenolic components of plants. London: **Nature**, vol. 178, p. 752-753, 1956.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. G. C.; MENTZ, L. A.; PETROVICK P. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 5ed., Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004. 1096p.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: 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. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/UFSC, 2004.

SINGH, S. K., PRASAD, A. K., OLSEN, C. E., JHA, A., JAIN, S. C., PARMAR, V. S. AND WENGEL, J. Neolignans and alkaloids from *Piper argyrophyllum*. **Phytochemistry**, vol. 43, p. 1355-1360, 1996.

SIREERATAWONG, S.; ITHARAT, A.; LARDYUTHISOPON, N.; PIYABHAN, P.; KHONSUNG, P.; BOONRAENG, S.; JAIJOY, K. Anti-Inflammatory, Analgesic, and Antipyretic Activities of the Ethanol Extract of *Piper interruptum* Opiz. and *Piper chaba* Linn. **International Scholarly Research Notices**, vol. 2012, p. 1-6, 2012.

SUZUKI, T. K. H.; SUGIMOTO, M.; UCHIDA, I.; MASHIMOTO, T. The diverse actions of volatile and gaseous anesthetics on human-cloned 5-hydroxytryptamine₃ receptors expressed in *Xenopus* oocytes. **Anesthesiology**, vol. 96, n. 3, 699-704, 2002.

WHITE, H. S.; SMITH, M.; WILCOX, K. S. Discovery of Antiepileptic Drugs. **Neurotherapeutics**, vol. 14, p. 12-17, 2007.

SMITH, K. K.; DHARMARATNE, H. R. W.; Feltenstein, M. W.; Broom, S. J.; Roach, J. T.; Nanayakkara, N. P. D.; Khan, I. K.; Sufka, K. J. Anxiolytic effects of kava extract and kavalactones in the chick social separation-stress paradigm. **Psychopharmacology**, vol. 155, p. 86-90, 2001.

SOUSA, F. C. F.; MELO, C. T. V.; CITÓ, M. C. O.; FÉLIX, F. H. C.; VASCONCELOS, S. M. M.; FONTELES, M. M. F.; FILHO, J. M. B. F.; VIANA, G. S. B. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 4, p. 642-654, 2008.

SPITZER, C. M. O. S. V. **Óleos voláteis**. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; mentz, L. A.; Petrovick, P. R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6ª ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2007, p. 467-495.

STABLES, J. P.; BERTRAM, E.; DUDEK, F. E. Therapy discovery for pharmaco resistant epilepsy and for disease-modifying therapeutics: summary of the NIH/NINDS/AES models II workshop. **Epilepsia**, vol. 44, n. 12, p. 1472-1478, 2003.

STAHL, S. M. Transtornos ansiosos e ansiolíticos. In: ____ **PSICOFARMACOLOGIA: Bases Neuroquímicas e Aplicações Práticas**. 3a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, Cap. 14. P 481-519, 2010.

STEINEGGER, E.; HANSEL, R. **Pharmakognosie**. 5 ed. Berlin: Springer, 1992.

STENHAGEN, E.; ABRAHAMSON, S.; MCLAFFERTY, F. W. **Registry of Mass Spectra Data Base**. Washington DC: Government Printing Office, 1974.

STEWART, R. E.; CHAMBLESS, D. L. Cognitive-behavioral therapy for adult anxiety disorders in clinical practice: a meta-analysis of effectiveness studies. **Journal of Consulting and Clinical Psychology**, vol. 77, n. 4, p. 595-606, 2009.

STEWART, S. E.; JENIKE, E. A.; HEZEL, D. M.; STACK, D. E.; DODMAN, N. H.; SHUSTER, L.; JENIKE, M. A. A single-blinded case-control study of memantine in severe obsessive compulsive disorder. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, v. 30, n. 1, p. 34-39, 2010.

STOHR, J. R.; XIAO, P. G.; BAUER, R. Constituents of Chinese *Piper* species and their inhibitory activity on prostaglandin and leukotriene biosynthesis in vitro. **Journal of Ethnopharmacology**, v.75, n. 2-3, p.133 – 139, 2001.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**, 9th ed.; LTC: Rio de Janeiro, RJ, Brazil, 2009; pp. 188–190.

SWINYARD, E. A., BROWN, W. C., GOODMAN, L. S. Comparative assay\ of antiepileptic drugs in mice and rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 116, n. 3, p.319-330, 1952.

TABANCA, N.; DEMIRCI, B.; CROCKETT, S. L.; BASER, K. H. C.; WEDGE, D. E. Chemical composition and antifungal activity of *Arnica longifolia*, *Aster hesperius*, and *Chrysothamnus nauseosus* essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 55, n. 21, p. 8430–8435, 2007.

TAKAYAMA, C., DE FARIA, F. M.; DE ALMEIDA, A. C; VALIM-ARAPUJO, DDE. A.; REHEN, C. S.; DUNDER, R. J.; SOCCA, E. A.; MANZO, L. P.; ROZZA, A. L.; SALVADOR, M. J.; PELLIZON, C. H.; HIRUM-LIMA, C. A.; LUIZ-FERREIRA, A.; SOUZA-BRITO, A. R., Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil from *Hyptis spicigera* Lam. (Lamiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 135, n. 1, p.147-155, 2011.

TALLMAN, J. F.; GALLAGER, D. W.; MALLORGA, P.; THOMAS, J. W.; STRITMATTER, W.; HIRATA, F.; AXELROD, J. Studies on benzodiazepine receptors. **Advances Biochemical Psychopharmacology**., v.198, n.21, p.277-283, 1980.

TANKAM, J. M.; ITO, M. Inhalation of the Essential Oil of *Piper guineense* from Cameroon Shows Sedative and Anxiolytic-Like Effects in Mice. **Biological and Pharmaceutical and Bulletin**, vol. 36, n. 10, p. 1608–1614, 2013.

TEBBS, M. C. Revision of *Piper* (Piperaceae) in the New World 1. Review of characters and taxonomy of *Piper* section *Macrostachys*. **Bulletin of the British Museum (Natural History) Botany**, London, v. 19, p. 117-158, 1989

TOLSTIKOVA, T. G.; MOROZOVA, E. A.; PAVLOVA, A. V.; BOLKUNOV, A. V.; DOLGIKH, M. P.; KONEVA, E. A.; VOLCHO, K. P.; SALAKHUTDINOV, N. F.; TOLSTIKOV, G. A. Derivatives of Pinane Amino Acids as New Anticonvulsants. **Doklady Akademii Nauk**, vol. 422, n. 4, p. 490–492, 2008.

TREIT, D.; MENARD, J.; ROYAN, C. Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.44, n. 2, p.463 - 469, 1993.

TURINA, A. Del V.; NOLAN, M. V.; ZYGADIO, J. A.; Natural terpenes: Self-assembly and membrane partitioning. **Biophysical Chemistry**, vol. 122, n. 2, p. 101-113, 2006.

- TYRER, P.; BALDWIN, D. Generalised anxiety disorder. **Lancet**, v. 368, n. 16, p. 2156-2166, 2006.
- VAGHASIYA, Y.; NAIR, R.; CHANDA, S. Investigation of Some Piper Species for Anti-Bacterial and Anti-Inflammatory Property. **International Journal of Pharmacology**, vol. 3, n. 5, p. 400-405, 2007.
- VEDHANAYAKI, G.; SHASTRI, G. V.; KURUVILLA, A. Analgesic activity of Piper longum Linn. Root. **Indian Journal of Experimental Biology**, vol. 41, n. 6, p. 649 – 651, 2003.
- VEIGA JÚNIOR, V. F.; MACIEL, M. A. M.; PINTO, A.C. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, vol. 28, p. 519-528, 2005.
- VELOSO, D. P.; GUIDINI, P.; COMÉRIO, R. M.; SILVA, A. G. Plantas utilizadas em fitomedicamentos para os distúrbios do sono. **Natureza on line**, vol. 6, n. 1, p. 29-35, 2008.
- VIEIRA, R. A. Avaliação da possível atividade central da *Stachytarpheta cayenensis* (gervão-roxo). Florianópolis: Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina. Dissertação de Mestrado. 2001.
- WALF, A. A.; FRYE, C. A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. **Nature Protocols**, vol. 2, n. 2, p. 322-328, 2007.
- WHEATLEY D. Kava and Valerian in the Treatment of Stress-induced Insomnia. **Phytotherapy Research**, vol. 15, n. 6, p. 549–551, 2001.
- WILLIANSO, E.; OKPAKO, D.; EVANS, F. J. **Selection, preparation and pharmacological evaluation of plant material**. Chichester: J. Wiley, 1996.
- WINSON, J. O significados dos sonhos, eles podem ser fundamentais para o processamento na memória nos mamíferos, informações adquiridas durante a vigília podem ser reprocessadas durante o sono. **Scientific American Brasil**, vol. 4, p. 59-65, 2005.
- XIE, H.; YAN, M.; JIN, D.; LIU, J. J.; YU, M.; DONG, D.; CAI, C. C.; PAN, S. L. Studies on antidepressant and antinociceptive effects of ethyl acetate extract from *Piper laetispicum* and structure–activity relationship of itsamide alkaloids. **Fitoterapia**, vol. 82, n. 7, p. 1086–1092, 2011.
- YA’U, J.; ABDULMALIK, U. N.; YARO, A. H.; CHINDO, B. A.; ANUKA, J. A.; HUSSAINI, I. M. Behavioral properties of *Balanites aegyptiaca* in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 135, n. 3, p. 725-729, 2011.
- YACUBIAM, E. M. T. – Epilepsias, e: Nitrite R, Bacheschi L. A – **A Neurologia que todo médico deve saber**. 2ª Ed. São Paulo, Atheneu ; 235 – 256, 2008.
- YAMANAKA, A. R. **Teste hipocrático do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon* sp. Spreng, 1815) e avaliação *in vitro* do efeito larvicida do geraniol e citronelal sobre *Contraecum* sp. Railliet & Henry, 1912 (Nematoda: Anisakidae)**. Dissertação de mestrado (Mestrado em Ciências da Saúde), Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT, 2008.
- YANG, Z.; WU, N.; ZU, Y.; FU, Y. Comparative anti-infectious bronchitis virus (IBV) activity of (-)-pinene: Effect on nucleocapsid (N) protein. **Molecules**, 16, 1044–1054, 2011.

YAO, C. Y.; WANG, J.; DONG, D.; QIAN, F. G.; XIE, J.; PAN, S. L. Laetispicine, an amide alkaloid from *Piper laetispicum* presents antidepressant and antinociceptive effects in mice. **Phytotherapy**, vol. 16, n. 9, p. 823-829, 2009.

YUAN, C. S.; DEY, L.; WANG, A.; MEHENDALE, S.; XIE, J. T.; AUNG, H. H.; AHG-LEE, M. K. Kavalactones and Dihydrokavain Modulate GABAergic Activity in a Rat Gastric-Brainstem Preparation. **Planta Médica**, v. 68, n. 12, p. 1092-1096, 2002.

ZAA, C.; VALDIVIA M.; MARCELO, A. Efecto neuroprotector del extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* matico en un modelo in vitro de neurodegeneración. **Revista Peruana de Biología**, vol. 19, n. 3, p. 235 – 240, 2012.

ZAKARIA, Z. A.; PATAHUDDIN, H.; MOHAMAD, A. S.; ISRAF, D. A.; SULAIMAN, M. R. In vivo anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of the aqueous extract of the leaves of *Piper sarmentosum*. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 128, n. 1, p. 42–48, 2010.

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: 41398-1	Data da Emissão: 04/10/2013 17:40	Data para Revalidação*: 03/11/2014
* 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 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: VALTERLÚCIO DOS SANTOS SALES	CPF: 074.563.194-05
Título do Projeto: Estudo dos efeitos centrais do óleo essencial dos frutos de Piper tuberculatum (pimenta de macaco) em camundongos	
Nome da Instituição: Universidade Regional do Cariri	CNPJ: 06.740.864/0001-26

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coletar frutos da Piper tuberculatum	09/2013	02/2015

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, 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, presente e passada, 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 exige 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 de 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 IBAMA n° 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio n° 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 (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da 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 de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da 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, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen.
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 da unidade.

Outras ressalvas

1	Obter permissão dos proprietários das áreas de realização da pesquisa. Comunicar a APA Araripe o início dos trabalhos de campo. Enviar uma via dos relatórios parciais e final para a APA Araripe.
---	--

Locais onde as atividades de campo serão executadas

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

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de material botânico, fúngico ou microbiológico	Piper tuberculatum

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: 26545279





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: 41398-1	Data da Emissão: 04/10/2013 17:40	Data para Revalidação*: 03/11/2014
* 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 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: VALTERLÚCIO DOS SANTOS SALES	CPF: 074.563.194-05
Título do Projeto: Estudo dos efeitos centrais do óleo essencial dos frutos de Piper tuberculatum (pimenta de macaco) em camundongos	
Nome da Instituição : Universidade Regional do Cariri	CNPJ: 06.740.864/0001-26

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Plantas)	Frutos/estróbilos
2	Método de captura/coleta (Plantas)	Coleta manual

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: 26545279



Página 2/3

ANEXO 2 - NÚMERO DE HERBÁRIO



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

Número de Herbário

Remetente:

Nº 07.2014

HERBÁRIO CARIRIENSE 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

Campus Pimenta

Crato – Ceará - Brasil

CEP: 63.105-100

Destinatário:

Data: 18.02.2014

Laboratório de Farmacologia e Química Molecular

Contato: Valterlúcio dos Santos Sales

Universidade Regional do Cariri (URCA)

Nº Amostras: 1

Tipo de Operação: Número de Herbário

	Nº HERBÁRIO	NOME POPULAR	FAMÍLIA	NOME CIENTÍFICO	RESPONSÁVEL
01	10.631	Pimenta-de-macaco	Piperaceae	<i>Piper tuberculatum</i> L.	Karina Vieira Alves Linhares


Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva
Curadora do HCDAL

Recebido em: 14 de maio de 2014
Valterlúcio dos Santos Sales

ANEXO 3 - DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO DO 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
propp@urca.br - www.urca.br/ceua

**DECLARAÇÃO**

Declaro para os devidos fins que o projeto intitulado “**Estudo dos efeitos centrais da administração do óleo essencial dos frutos de *Piper tuberculatum* (Pimenta de macaco) e do constituinte majoritário em camundongos**”. Processo nº 00211.2013.1, foi **APROVADO** pela Comissão de experimentação e Uso de Animais – CEUA/URCA.

Irwin Rose Alencar de Menezes
Presidente do CEUA/URCA

CRATO-CE
2013

Anestesia							
Exoftalmia							
Catatonía							
Salivação							
Perda do reflexo corneal							
Ptose palpebral							
Resposta diminuída ao toque							
Sedação							
OUTROS SINAIS							
	10'	30'	1h	2h	3h	4h	24h
Cianose							
Agressividade							
Reação de fuga							
Ereção da cauda							
Tremor da cauda							
Amontoados (hipotermia)							
Defecação							
Diarreia							
Coma							
Catalepsia							
Letargia							
Lacrimajamento							
Micção							
Tônus muscular							
Mortes							

APÊNDICE

APÊNDICE I

Determinação da DL₅₀.

```

C:\Users\S0789~1.B-C\Desktop\TSK.exe
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD.  VERSION 1.5

ENTER DATE OF TEST:
15 DE AGOSTO DE 2013
ENTER TEST NUMBER:
1
WHAT IS TO BE ESTIMATED?
<ENTER "L" FOR LC50 AND "E" FOR EC50>
L
ENTER TEST SPECIES NAME:
MUS MUSCULUS
ENTER TOXICANT NAME:
PIPER TUBERCULATUM
ENTER UNITS FOR EXPOSURE CONCENTRATION OF TOXICANT :
8
ENTER THE NUMBER OF INDIVIDUALS IN THE CONTROL:
4
ENTER THE NUMBER OF MORTALITIES IN THE CONTROL:
0
ENTER THE NUMBER OF CONCENTRATIONS
<NOT INCLUDING THE CONTROL; MAX = 10>:
8
ENTER THE 8 EXPOSURE CONCENTRATIONS <IN INCREASING ORDER>:
10 50 100 200 500 1000 2000 5000
ARE THE NUMBER OF INDIVIDUALS AT EACH EXPOSURE CONCENTRATION EQUAL<Y/N>?
Y
ENTER THE NUMBER OF INDIVIDUALS AT EACH EXPOSURE CONCENTRATION:
4
ENTER UNITS FOR DURATION OF EXPERIMENT
<ENTER "H" FOR HOURS, "D" FOR DAYS, ETC.>:
D
ENTER DURATION OF TEST:
14
ENTER THE NUMBER OF MORTALITIES AT EACH EXPOSURE CONCENTRATION:
0 0 0 0 1 0 2
WOULD YOU LIKE THE AUTOMATIC TRIM CALCULATION<Y/N>?
Y

```

```

0 0 0 0 1 0 2
WOULD YOU LIKE THE AUTOMATIC TRIM CALCULATION<Y/N>?
Y

DATE: 15 DE AG      TEST NUMBER: 1      DURATION: 14 D
TOXICANT : PIPER TUBERCULATUM
SPECIES:  MUS MUSCULUS

RAW DATA:  Concentration      Number      Mortalities
--- ----  (8)                Exposed
          .00                  4           0
          10.00                 4           0
          50.00                  4           0
          100.00                 4           0
          200.00                 4           0
          500.00                 4           0
          1000.00                4           1
          2000.00                4           0
          5000.00                4           2

SPEARMAN-KARBER TRIM:          50.00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES:    LC50:      5000.00
                                95% CONFIDENCE LIMITS
                                ARE NOT RELIABLE.

NOTE:  MORTALITY PROPORTIONS WERE NOT MONOTONICALLY INCREASING.
        ADJUSTMENTS WERE MADE PRIOR TO SPEARMAN-KARBER ESTIMATION.

```

APÊNDICE II

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

OEPT-CA.pzf:Col. stats of Data 1 - Wed Dec 17 17:29:36 2014

Col. stats		A	B	C	D	E	F	G
		CONT	DZP 1	OEPT 25	OEPT 50	OEPT 100	OEPT 200	OEPT 400
		Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9	9	9
2								
3	Minimum	62.00	42.00	62.00	52.00	50.00	45.00	40.00
4	25% Percentile	71.00	59.00	65.00	54.00	52.50	54.00	42.50
5	Median	80.00	65.00	74.00	60.00	56.00	57.00	48.00
6	75% Percentile	82.00	70.00	84.50	67.50	58.50	60.50	52.00
7	Maximum	97.00	74.00	94.00	72.00	61.00	64.00	58.00
8								
9	Mean	78.22	63.00	75.00	60.89	55.56	56.67	47.89
10	Std. Deviation	9.960	9.526	11.67	7.305	3.712	5.523	5.819
11	Std. Error	3.320	3.175	3.891	2.435	1.237	1.841	1.940
12								
13	Lower 95% CI of mean	70.57	55.68	66.03	55.27	52.70	52.42	43.42
14	Upper 95% CI of mean	85.88	70.32	83.97	66.50	58.41	60.91	52.36
15								
16	Sum	704.0	567.0	675.0	548.0	500.0	510.0	431.0

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

OEPT-CA.pzf:1way ANOVA of Data 1 - Wed Dec 17 17:30:11 2014

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	16.10			
9	R squared	0.6331			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	13.00			
13	P value	0.0431			
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)	6318	6	1053	
19	Residual (within columns)	3662	56	65.38	
20	Total	9980	62		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	OEPT 400 vs CONT	-30.33	11.25	Yes	***
24	OEPT 400 vs OEPT 25	-27.11	10.06	Yes	***
25	OEPT 400 vs DZP 1	-15.11	5.606	Yes	**
26	OEPT 400 vs OEPT 50	-13.00	4.823	Yes	**
27	OEPT 400 vs OEPT 200	-8.778	3.257	No	ns
28	OEPT 400 vs OEPT 100	-7.667	---	No	ns
29	OEPT 100 vs CONT	-22.67	8.409	Yes	***
30	OEPT 100 vs OEPT 25	-19.44	7.214	Yes	***
31	OEPT 100 vs DZP 1	-7.444	2.762	No	ns
32	OEPT 100 vs OEPT 50	-5.333	---	No	ns
33	OEPT 100 vs OEPT 200	-1.111	---	No	ns
34	OEPT 200 vs CONT	-21.56	7.997	Yes	***
35	OEPT 200 vs OEPT 25	-18.33	6.802	Yes	***
36	OEPT 200 vs DZP 1	-6.333	---	No	ns
37	OEPT 200 vs OEPT 50	-4.222	---	No	ns
38	OEPT 50 vs CONT	-17.33	6.431	Yes	***
39	OEPT 50 vs OEPT 25	-14.11	5.235	Yes	**
40	OEPT 50 vs DZP 1	-2.111	---	No	ns
41	DZP 1 vs CONT	-15.22	5.648	Yes	***
42	DZP 1 vs OEPT 25	-12.00	4.452	Yes	**
43	OEPT 25 vs CONT	-3.222	1.195	No	ns

Análise do Teste “t” entre as doses do OEPT 100 mg/kg e o DZP 1 mg/kg, sobre o número de cruzamentos (NC) em camundongos submetidos ao campo aberto.

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column B	DZP 1
3	vs	vs
4	Column E	OEPT 100
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0442
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=2.184 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column B	63.00 ± 3.175 N=9
15	Mean ± SEM of column E	55.56 ± 1.237 N=9
16	Difference between means	7.444 ± 3.408
17	95% confidence interval	0.2196 to 14.67
18	R squared	0.2297
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	6.587, 8, 8
22	P value	0.0152
23	P value summary	*
24	Are variances significantly different?	Yes

Análise do Teste “t” entre as doses do OEPT 400 mg/kg e OEPT 100 mg/kg, sobre o número de cruzamentos (NC) em camundongos submetidos ao campo aberto.

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column E	OEPT 100
3	vs	vs
4	Column G	OEPT 400
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0042
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=3.332 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column E	55.56 ± 1.237 N=9
15	Mean ± SEM of column G	47.89 ± 1.940 N=9
16	Difference between means	7.667 ± 2.301
17	95% confidence interval	2.789 to 12.54
18	R squared	0.4097
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	2.458, 8, 8
22	P value	0.2250
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Análise do Teste “t” entre as doses do OEPT 400 mg/kg e OEPT 200 mg/kg, sobre o número de cruzamentos (NC) em camundongos submetidos ao campo aberto.

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column F	OEPT 200
3	vs	vs
4	Column G	OEPT 400
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0047
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=3.282 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column F	56.67 ± 1.841 N=9
15	Mean ± SEM of column G	47.89 ± 1.940 N=9
16	Difference between means	8.778 ± 2.674
17	95% confidence interval	3.109 to 14.45
18	R squared	0.4024
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	1.110, 8, 8
22	P value	0.8861
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Análise do Teste “t” entre os grupos: DZP 1 e OEPT 200 mg/kg, sobre o número de cruzamentos (NC) em camundongos submetidos ao campo aberto.

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column B	DZP 1
3	vs	vs
4	Column F	OEPT 200
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.1037
8	P value summary	ns
9	Are means signif. different? (P < 0.05)	No
10	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
11	t, df	t=1.725 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column B	63.00 ± 3.175 N=9
15	Mean ± SEM of column F	56.67 ± 1.841 N=9
16	Difference between means	6.333 ± 3.670
17	95% confidence interval	-1.448 to 14.11
18	R squared	0.1569
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	2.975, 8, 8
22	P value	0.1440
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

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

OEPT-CA.pzf:Col. stats of Data 2 - Wed Dec 17 20:22:36 2014

Col. stats		A	B	C	D	E	F	G
		CONT	DZP 1	OEPT 25	OEPT 50	OEPT 100	OEPT 200	OEPT 400
		Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9	9	9
2								
3	Minimum	3.000	1.000	2.000	1.000	1.000	1.000	1.000
4	25% Percentile	3.000	1.000	2.000	2.000	1.000	1.000	1.000
5	Median	4.000	2.000	2.000	3.000	2.000	2.000	1.000
6	75% Percentile	5.500	2.000	4.000	3.000	3.000	3.000	2.000
7	Maximum	8.000	3.000	5.000	4.000	3.000	3.000	2.000
8								
9	Mean	4.444	1.778	2.889	2.667	2.000	2.000	1.444
10	Std. Deviation	1.740	0.6667	1.167	0.8660	0.8660	0.8660	0.5270
11	Std. Error	0.5800	0.2222	0.3889	0.2887	0.2887	0.2887	0.1757
12								
13	Lower 95% CI of mean	3.107	1.265	1.992	2.001	1.334	1.334	1.039
14	Upper 95% CI of mean	5.782	2.290	3.786	3.332	2.666	2.666	1.850
15								
16	Sum	40.00	16.00	26.00	24.00	18.00	18.00	13.00

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.

OEPT-CA.pzf:1way ANOVA of Data 2 - Wed Dec 17 20:22:59 2014

1way ANOVA					
1	Table Analyzed	Data 2			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	7			
8	F	8.679			
9	R squared	0.4818			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	14.44			
13	P value	0.0251			
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)	54.76	6	9.127	
19	Residual (within columns)	58.89	56	1.052	
20	Total	113.7	62		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	OEPT 400 vs CONT	-3.000	8.776	Yes	***
24	OEPT 400 vs OEPT 25	-1.444	4.226	Yes	*
25	OEPT 400 vs OEPT 50	-1.222	3.576	No	ns
26	OEPT 400 vs OEPT 200	-0.5556	---	No	ns
27	OEPT 400 vs OEPT 100	-0.5556	---	No	ns
28	OEPT 400 vs DZP 1	-0.3333	---	No	ns
29	DZP 1 vs CONT	-2.667	7.801	Yes	***
30	DZP 1 vs OEPT 25	-1.111	3.251	No	ns
31	DZP 1 vs OEPT 50	-0.8889	---	No	ns
32	DZP 1 vs OEPT 200	-0.2222	---	No	ns
33	DZP 1 vs OEPT 100	-0.2222	---	No	ns
34	OEPT 100 vs CONT	-2.444	7.151	Yes	***
35	OEPT 100 vs OEPT 25	-0.8889	---	No	ns
36	OEPT 100 vs OEPT 50	-0.6667	---	No	ns
37	OEPT 100 vs OEPT 200	0.0000	---	No	ns
38	OEPT 200 vs CONT	-2.444	7.151	Yes	***
39	OEPT 200 vs OEPT 25	-0.8889	---	No	ns
40	OEPT 200 vs OEPT 50	-0.6667	---	No	ns
41	OEPT 50 vs CONT	-1.778	5.201	Yes	**
42	OEPT 50 vs OEPT 25	-0.2222	---	No	ns
43	OEPT 25 vs CONT	-1.556	4.551	Yes	**

Análise do teste “t” entre as doses do OEPT 400 mg/kg e OEPT 50 mg/kg, sobre o número de *grooming* (NG) em camundongos submetidos ao campo aberto.

t test		
1	Table Analyzed	Data 2
2	Column D	OEPT 50
3	vs	vs
4	Column G	OEPT 400
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0023
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=3.617 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column D	2.667 ± 0.2887 N=9
15	Mean ± SEM of column G	1.444 ± 0.1757 N=9
16	Difference between means	1.222 ± 0.3379
17	95% confidence interval	0.5058 to 1.939
18	R squared	0.4498
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	2.700, 8, 8
22	P value	0.1816
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

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

OEPT-CA.pzf:Col. stats of Data 3 - Wed Dec 17 17:31:17 2014

Col. stats		A	B	C	D	E	F	G
		CONT	DZP 1	OEPT 25	OEPT 50	OEPT 100	OEPT 200	OEPT 400
		Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9	9	9
2								
3	Minimum	3.000	0.0	2.000	0.0	1.000	1.000	0.0
4	25% Percentile	3.000	0.5000	3.000	0.5000	2.000	1.500	0.5000
5	Median	4.000	1.000	3.000	2.000	2.000	3.000	1.000
6	75% Percentile	6.000	1.500	6.500	3.500	3.500	3.500	2.000
7	Maximum	6.000	2.000	7.000	7.000	4.000	5.000	3.000
8								
9	Mean	4.444	1.000	4.333	2.444	2.556	2.667	1.222
10	Std. Deviation	1.333	0.7071	1.936	2.186	1.014	1.323	0.9718
11	Std. Error	0.4444	0.2357	0.6455	0.7286	0.3379	0.4410	0.3239
12								
13	Lower 95% CI of mean	3.420	0.4565	2.845	0.7643	1.776	1.650	0.4752
14	Upper 95% CI of mean	5.469	1.544	5.822	4.125	3.335	3.684	1.969
15								
16	Sum	40.00	9.000	39.00	22.00	23.00	24.00	11.00

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

OEPT-CA.pzf:1way ANOVA of Data 3 - Wed Dec 17 17:31:33 2014

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	7.852			
9	R squared	0.4569			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	13.85			
13	P value	0.0314			
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)	97.78	6	16.30	
19	Residual (within columns)	116.2	56	2.075	
20	Total	214.0	62		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	DZP 1 vs CONT	-3.444	7.173	Yes	***
24	DZP 1 vs OEPT 25	-3.333	6.941	Yes	***
25	DZP 1 vs OEPT 200	-1.667	3.471	No	ns
26	DZP 1 vs OEPT 100	-1.556	---	No	ns
27	DZP 1 vs OEPT 50	-1.444	---	No	ns
28	DZP 1 vs OEPT 400	-0.2222	---	No	ns
29	OEPT 400 vs CONT	-3.222	6.710	Yes	***
30	OEPT 400 vs OEPT 25	-3.111	6.479	Yes	***
31	OEPT 400 vs OEPT 200	-1.444	---	No	ns
32	OEPT 400 vs OEPT 100	-1.333	---	No	ns
33	OEPT 400 vs OEPT 50	-1.222	---	No	ns
34	OEPT 50 vs CONT	-2.000	4.165	Yes	*
35	OEPT 50 vs OEPT 25	-1.889	3.933	Yes	*
36	OEPT 50 vs OEPT 200	-0.2222	---	No	ns
37	OEPT 50 vs OEPT 100	-0.1111	---	No	ns
38	OEPT 100 vs CONT	-1.889	3.933	Yes	*
39	OEPT 100 vs OEPT 25	-1.778	3.702	Yes	*
40	OEPT 100 vs OEPT 200	-0.1111	---	No	ns
41	OEPT 200 vs CONT	-1.778	3.702	Yes	*
42	OEPT 200 vs OEPT 25	-1.667	3.471	Yes	*
43	OEPT 25 vs CONT	-0.1111	0.2314	No	ns

Análise do teste “t” entre as doses do OEPT 100 mg/kg e DZP 1 mg/kg, sobre o número de *rearing* (NR) em camundongos submetidos ao campo aberto.

t test		
1	Table Analyzed	Data 3
2	Column B	DZP 1
3	vs	vs
4	Column E	OEPT 100
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0017
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=3.776 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column B	1.000 ± 0.2357 N=9
15	Mean ± SEM of column E	2.556 ± 0.3379 N=9
16	Difference between means	-1.556 ± 0.4120
17	95% confidence interval	-2.429 to -0.6821
18	R squared	0.4712
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	2.056, 8, 8
22	P value	0.3282
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Análise do teste “t” entre as doses do OEPT 200 mg/kg e DZP 1 mg/kg, sobre o número de *rearing* (NR) em camundongos submetidos ao campo aberto.

t test		
1	Table Analyzed	Data 3
2	Column B	DZP 1
3	vs	vs
4	Column F	OEPT 200
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0042
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=3.333 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column B	1.000 ± 0.2357 N=9
15	Mean ± SEM of column F	2.667 ± 0.4410 N=9
16	Difference between means	-1.667 ± 0.5000
17	95% confidence interval	-2.727 to -0.6067
18	R squared	0.4098
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	3.500, 8, 8
22	P value	0.0955
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Análise do teste “t” entre as doses do OEPT 400 mg/kg e OEPT 100 mg/kg, sobre o número de *rearing* (NR) em camundongos submetidos ao campo aberto.

t test		
1	Table Analyzed	Data 3
2	Column E	OEPT 100
3	vs	vs
4	Column G	OEPT 400
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0116
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=2.848 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column E	2.556 ± 0.3379 N=9
15	Mean ± SEM of column G	1.222 ± 0.3239 N=9
16	Difference between means	1.333 ± 0.4681
17	95% confidence interval	0.3409 to 2.326
18	R squared	0.3364
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	1.088, 8, 8
22	P value	0.9077
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Análise do teste “t” entre as doses do OEPT 400 mg/kg e OEPT 200 mg/kg, sobre o número de *rearing* (NR) em camundongos submetidos ao campo aberto.

t test		
1	Table Analyzed	Data 3
2	Column F	OEPT 200
3	vs	vs
4	Column G	OEPT 400
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0178
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=2.640 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column F	2.667 ± 0.4410 N=9
15	Mean ± SEM of column G	1.222 ± 0.3239 N=9
16	Difference between means	1.444 ± 0.5472
17	95% confidence interval	0.2845 to 2.604
18	R squared	0.3034
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	1.853, 8, 8
22	P value	0.4014
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Análise do teste “t” entre os grupos: DZP 1 e OEPT 50 mg/kg, sobre o número de *rearing* (NR) em camundongos submetidos ao campo aberto.

t test		
1	Table Analyzed	Data 3
2	Column B	DZP 1
3	vs	vs
4	Column D	OEPT 50
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0775
8	P value summary	ns
9	Are means signif. different? (P < 0.05)	No
10	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
11	t, df	t=1.886 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column B	1.000 ± 0.2357 N=9
15	Mean ± SEM of column D	2.444 ± 0.7286 N=9
16	Difference between means	-1.444 ± 0.7658
17	95% confidence interval	-3.068 to 0.1790
18	R squared	0.1819
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	9.556, 8, 8
22	P value	0.0045
23	P value summary	**
24	Are variances significantly different?	Yes

Coluna Estatística do mecanismo de ação no número de cruzamentos (NC) em camundongos submetidos ao campo aberto.

1way ANOVA Column statistics		A	B	C	D	E
		CONT	DZP 1	DZP 1 + FLU 2,5	OEPT 50	OEPT 50 + FLU 2,5
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9
2						
3	Minimum	77.00	42.00	81.00	39.00	62.00
4	25% Percentile	79.50	58.00	86.50	44.00	71.00
5	Median	82.00	64.00	98.00	55.00	78.00
6	75% Percentile	120.0	69.00	105.0	77.50	84.00
7	Maximum	126.0	73.00	167.0	79.00	89.00
8						
9	Mean	95.56	62.00	102.0	58.56	77.44
10	Std. Deviation	20.79	9.220	25.95	16.09	8.531
11	Std. Error	6.930	3.073	8.651	5.362	2.844
12						
13	Lower 95% CI	79.57	54.91	82.05	46.19	70.89
14	Upper 95% CI	111.5	69.09	121.9	70.92	84.00

Análise ANOVA do efeito do mecanismo de ação do OEPT sobre o número de cruzamentos (NC) em camundongos submetidos ao campo aberto.

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 1			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	5			
8	F	11.18			
9	R squared	0.5278			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	13.14			
13	P value	0.0106			
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)	13610	4	3403	
19	Residual (within columns)	12180	40	304.5	
20	Total	25790	44		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	OEPT 50 vs DZP 1 + FLU 2,5	-43.44	7.469	Yes	***
24	OEPT 50 vs CONT	-37.00	6.361	Yes	***
25	OEPT 50 vs OEPT 50 + FLU 2,5	-18.89	3.248	No	ns
26	OEPT 50 vs DZP 1	-3.444	---	No	ns
27	DZP 1 vs DZP 1 + FLU 2,5	-40.00	6.877	Yes	***
28	DZP 1 vs CONT	-33.56	5.769	Yes	***
29	DZP 1 vs OEPT 50 + FLU 2,5	-15.44	---	No	ns
30	OEPT 50 + FLU 2,5 vs DZP 1 + FLU 2,5	-24.56	4.222	Yes	*
31	OEPT 50 + FLU 2,5 vs CONT	-18.11	3.114	Yes	*
32	CONT vs DZP 1 + FLU 2,5	-6.444	1.108	No	ns

Análise do teste “t” entre os grupos: OEPT 50 mg/kg e OEPT 50 + FLU 2,5 mg/kg, sobre o número de cruzamento (NC) em camundongos submetidos ao campo aberto.

t test		
Tabular results		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column D	OEPT 50
3	vs	vs
4	Column E	OEPT 50 + FLU 2,5
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0067
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=3.112 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column D	58.56 ± 5.362 N=9
15	Mean ± SEM of column E	77.44 ± 2.844 N=9
16	Difference between means	-18.89 ± 6.070
17	95% confidence interval	-31.76 to -6.021
18	R squared	0.3771
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	3.556, 8, 8
22	P value	0.0916
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Coluna Estatística do mecanismo de ação no número de cruzamentos (NG) em camundongos submetidos ao campo aberto.

1way ANOVA Column statistics		A	B	C	D	E
		CONT	DZP 1	DZP 1 + FLU 2,5	OEPT 50	OEPT 50 + FLU 2,5
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9
2						
3	Minimum	1.000	1.000	3.000	1.000	2.000
4	25% Percentile	2.000	1.000	3.500	1.000	3.000
5	Median	3.000	2.000	5.000	2.000	4.000
6	75% Percentile	4.500	2.000	6.000	3.000	4.000
7	Maximum	5.000	3.000	6.000	3.000	4.000
8						
9	Mean	3.111	1.667	4.778	1.889	3.444
10	Std. Deviation	1.364	0.7071	1.302	0.9280	0.7265
11	Std. Error	0.4547	0.2357	0.4339	0.3093	0.2422
12						
13	Lower 95% CI	2.062	1.123	3.777	1.176	2.886
14	Upper 95% CI	4.160	2.210	5.778	2.602	4.003

Análise ANOVA do efeito do mecanismo de ação do OEPT sobre o número de cruzamentos (NG) em camundongos submetidos ao campo aberto.

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 2			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	5			
8	F	13.18			
9	R squared	0.5687			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	5.783			
13	P value	0.2160			
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)	57.42	4	14.36	
19	Residual (within columns)	43.56	40	1.089	
20	Total	101.0	44		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	DZP 1 vs DZP 1 + FLU 2,5	-3.111	8.944	Yes	***
24	DZP 1 vs OEPT 50 + FLU 2,5	-1.778	5.111	Yes	**
25	DZP 1 vs CONT	-1.444	4.153	Yes	*
26	DZP 1 vs OEPT 50	-0.2222	0.6389	No	ns
27	OEPT 50 vs DZP 1 + FLU 2,5	-2.889	8.305	Yes	***
28	OEPT 50 vs OEPT 50 + FLU 2,5	-1.556	4.472	Yes	**
29	OEPT 50 vs CONT	-1.222	3.514	Yes	*
30	CONT vs DZP 1 + FLU 2,5	-1.667	4.792	Yes	**
31	CONT vs OEPT 50 + FLU 2,5	-0.3333	0.9583	No	ns
32	OEPT 50 + FLU 2,5 vs DZP 1 + FLU 2,5	-1.333	3.833	Yes	**

Coluna Estatística do mecanismo de ação no número de cruzamentos (NR) em camundongos submetidos ao campo aberto.

1way ANOVA Column statistics		A	B	C	D	E
		CONT	DZP 1	DZP 1 + FLU 2,5	OEPT 50	OEPT 50 + FLU 2,5
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9
2						
3	Minimum	2.000	0.0	2.000	0.0	1.000
4	25% Percentile	3.000	0.5000	2.500	1.000	2.000
5	Median	4.000	1.000	4.000	1.000	5.000
6	75% Percentile	5.500	2.000	5.500	3.500	7.000
7	Maximum	6.000	2.000	6.000	5.000	8.000
8						
9	Mean	4.111	1.111	4.000	2.000	4.556
10	Std. Deviation	1.364	0.7817	1.581	1.658	2.651
11	Std. Error	0.4547	0.2606	0.5270	0.5528	0.8837
12						
13	Lower 95% CI	3.062	0.5102	2.785	0.7253	2.518
14	Upper 95% CI	5.160	1.712	5.215	3.275	6.593

Análise ANOVA do efeito do mecanismo de ação do OEPT sobre o número de cruzamentos (NR) em camundongos submetidos ao campo aberto.

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 3			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	0.0002			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	5			
8	F	6.942			
9	R squared	0.4097			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	10.69			
13	P value	0.0303			
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)	81.91	4	20.48	
19	Residual (within columns)	118.0	40	2.950	
20	Total	199.9	44		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	DZP 1 vs OEPT 50 + FLU 2,5	-3.444	6.016	Yes	**
24	DZP 1 vs CONT	-3.000	5.240	Yes	**
25	DZP 1 vs DZP 1 + FLU 2,5	-2.889	5.046	Yes	**
26	DZP 1 vs OEPT 50	-0.8889	1.553	No	ns
27	OEPT 50 vs OEPT 50 + FLU 2,5	-2.556	4.464	Yes	*
28	OEPT 50 vs CONT	-2.111	3.687	Yes	*
29	OEPT 50 vs DZP 1 + FLU 2,5	-2.000	3.493	Yes	*
30	DZP 1 + FLU 2,5 vs OEPT 50 + FLU 2,5	-0.5556	0.9704	No	ns
31	DZP 1 + FLU 2,5 vs CONT	-0.1111	---	No	ns
32	CONT vs OEPT 50 + FLU 2,5	-0.4444	---	No	ns

Análise do teste “t” entre os grupos: CONT e OEPT 100, sobre o número de *rearing* (NR) em camundongos submetidos ao campo aberto.

Coluna Estatística do Efeito do OEPT (25, 50, 100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre o número de entradas em braços abertos (NEBA) em camundongos submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado.

OEPT-LCE.pzf:Col. stats of Data 1 - Wed Dec 17 17:32:41 2014

Col. stats		A	B	C	D	E	F	G
		CONT	DZP 1	OEPT 25	OEPT 50	OEPT 100	OEPT 200	OEPT 400
		Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9	9	9
2								
3	Minimum	1.000	10.00	3.000	4.000	3.000	4.000	3.000
4	25% Percentile	2.000	10.50	3.500	4.000	3.000	5.000	4.000
5	Median	3.000	12.00	5.000	4.000	4.000	5.000	5.000
6	75% Percentile	3.500	12.50	6.000	5.500	5.500	5.500	6.500
7	Maximum	4.000	21.00	6.000	6.000	6.000	6.000	8.000
8								
9	Mean	2.667	12.44	4.667	4.667	4.222	5.111	5.111
10	Std. Deviation	1.000	3.358	1.225	0.8660	1.202	0.6009	1.616
11	Std. Error	0.3333	1.119	0.4082	0.2887	0.4006	0.2003	0.5386
12								
13	Lower 95% CI of mean	1.898	9.863	3.725	4.001	3.298	4.649	3.869
14	Upper 95% CI of mean	3.435	15.03	5.608	5.332	5.146	5.573	6.353
15								
16	Sum	24.00	112.0	42.00	42.00	38.00	46.00	46.00

Análise ANOVA do Efeito do OEPT (25, 50, 100, 200 E 400 mg/kg, i.p) sobre o número de entradas em braços abertos (NEBA) em camundongos submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado.

OEPT-LCE.pzf:1way ANOVA of Data 1 - Wed Dec 17 17:33:10 2014

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	33.01			
9	R squared	0.7796			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	31.46			
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)	536.0	6	89.33	
19	Residual (within columns)	151.6	56	2.706	
20	Total	687.6	62		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	CONT vs DZP 1	-9.778	17.83	Yes	***
24	CONT vs OEPT 400	-2.444	4.458	Yes	*
25	CONT vs OEPT 200	-2.444	4.458	Yes	*
26	CONT vs OEPT 50	-2.000	3.647	No	ns
27	CONT vs OEPT 25	-2.000	---	No	ns
28	CONT vs OEPT 100	-1.556	---	No	ns
29	OEPT 100 vs DZP 1	-8.222	14.99	Yes	***
30	OEPT 100 vs OEPT 400	-0.8889	1.621	No	ns
31	OEPT 100 vs OEPT 200	-0.8889	---	No	ns
32	OEPT 100 vs OEPT 50	-0.4444	---	No	ns
33	OEPT 100 vs OEPT 25	-0.4444	---	No	ns
34	OEPT 25 vs DZP 1	-7.778	14.18	Yes	***
35	OEPT 25 vs OEPT 400	-0.4444	---	No	ns
36	OEPT 25 vs OEPT 200	-0.4444	---	No	ns
37	OEPT 25 vs OEPT 50	0.0000	---	No	ns
38	OEPT 50 vs DZP 1	-7.778	14.18	Yes	***
39	OEPT 50 vs OEPT 400	-0.4444	---	No	ns
40	OEPT 50 vs OEPT 200	-0.4444	---	No	ns
41	OEPT 200 vs DZP 1	-7.333	13.37	Yes	***
42	OEPT 200 vs OEPT 400	0.0000	---	No	ns
43	OEPT 400 vs DZP 1	-7.333	13.37	Yes	***

Análise do teste “t” entre os grupos: OEPT 25 e CONT, sobre o número de entradas nos braços abertos (NEBA), em camundongos submetidos ao labirinto em cruz elevado.

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column A	CONT
3	vs	vs
4	Column C	OEPT 25
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0016
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=3.795 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column A	2.667 ± 0.3333 N=9
15	Mean ± SEM of column C	4.667 ± 0.4082 N=9
16	Difference between means	-2.000 ± 0.5270
17	95% confidence interval	-3.117 to -0.8827
18	R squared	0.4737
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	1.500, 8, 8
22	P value	0.5796
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Análise do teste “t” entre os grupos: OEPT 50 mg/kg e Controle, sobre o número de entradas nos braços abertos (NEBA), em camundongos submetidos ao labirinto em cruz elevado.

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column A	CONT
3	vs	vs
4	Column D	OEPT 50
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0003
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=4.536 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column A	2.667 ± 0.3333 N=9
15	Mean ± SEM of column D	4.667 ± 0.2887 N=9
16	Difference between means	-2.000 ± 0.4410
17	95% confidence interval	-2.935 to -1.065
18	R squared	0.5625
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	1.333, 8, 8
22	P value	0.6938
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Análise do teste “t” entre os grupos: OEPT 100 mg/kg e Controle, sobre o número de entradas nos braços abertos (NEBA), em camundongos submetidos ao labirinto em cruz elevado.

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column A	CONT
3	vs	vs
4	Column E	OEPT 100
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0088
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=2.985 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column A	2.667 ± 0.3333 N=9
15	Mean ± SEM of column E	4.222 ± 0.4006 N=9
16	Difference between means	-1.556 ± 0.5212
17	95% confidence interval	-2.660 to -0.4507
18	R squared	0.3577
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	1.444, 8, 8
22	P value	0.6152
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Coluna Estatística do Efeito do OEPT (25, 50, 100, 200 E 400 mg/kg, i.p) sobre o número de entradas em braços fechados (NEBF) em camundongos submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado.

OEPT-LCE.pzf:Col. stats of Data 3 - Wed Dec 17 17:34:27 2014

Col. stats		A	B	C	D	E	F	G
		CONT	DZP 1	OEPT 25	OEPT 50	OEPT 100	OEPT 200	OEPT 400
		Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9	9	9
2								
3	Minimum	11.00	1.000	8.000	8.000	8.000	6.000	8.000
4	25% Percentile	12.00	6.000	8.500	8.500	8.500	8.500	8.500
5	Median	13.00	10.00	10.00	10.00	9.000	9.000	9.000
6	75% Percentile	15.00	11.00	11.50	10.00	10.00	11.00	10.00
7	Maximum	16.00	12.00	12.00	11.00	10.00	11.00	10.00
8								
9	Mean	13.22	8.667	9.889	9.444	9.222	9.333	9.111
10	Std. Deviation	1.716	3.905	1.537	1.014	0.8333	1.658	0.7817
11	Std. Error	0.5720	1.302	0.5122	0.3379	0.2778	0.5528	0.2606
12								
13	Lower 95% CI of mean	11.90	5.665	8.708	8.665	8.582	8.059	8.510
14	Upper 95% CI of mean	14.54	11.67	11.07	10.22	9.863	10.61	9.712
15								
16	Sum	119.0	78.00	89.00	85.00	83.00	84.00	82.00

Análise ANOVA do Efeito do OEPT (25, 50, 100, 200 E 400 mg/kg, i.p) sobre o número de entradas em braços fechados (NEBF) em camundongos submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado

OEPT-LCE.pzf:1way ANOVA of Data 3 - Wed Dec 17 17:34:50 2014

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	5.793			
9	R squared	0.3830			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	32.39			
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)	127.3	6	21.22	
19	Residual (within columns)	205.1	56	3.663	
20	Total	332.4	62		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	DZP 1 vs CONT	-4.556	7.141	Yes	***
24	DZP 1 vs OEPT 25	-1.222	1.916	No	ns
25	DZP 1 vs OEPT 50	-0.7778	---	No	ns
26	DZP 1 vs OEPT 200	-0.6667	---	No	ns
27	DZP 1 vs OEPT 100	-0.5556	---	No	ns
28	DZP 1 vs OEPT 400	-0.4444	---	No	ns
29	OEPT 400 vs CONT	-4.111	6.444	Yes	***
30	OEPT 400 vs OEPT 25	-0.7778	---	No	ns
31	OEPT 400 vs OEPT 50	-0.3333	---	No	ns
32	OEPT 400 vs OEPT 200	-0.2222	---	No	ns
33	OEPT 400 vs OEPT 100	-0.1111	---	No	ns
34	OEPT 100 vs CONT	-4.000	6.270	Yes	***
35	OEPT 100 vs OEPT 25	-0.6667	---	No	ns
36	OEPT 100 vs OEPT 50	-0.2222	---	No	ns
37	OEPT 100 vs OEPT 200	-0.1111	---	No	ns
38	OEPT 200 vs CONT	-3.889	6.096	Yes	***
39	OEPT 200 vs OEPT 25	-0.5556	---	No	ns
40	OEPT 200 vs OEPT 50	-0.1111	---	No	ns
41	OEPT 50 vs CONT	-3.778	5.922	Yes	***
42	OEPT 50 vs OEPT 25	-0.4444	---	No	ns
43	OEPT 25 vs CONT	-3.333	5.225	Yes	***

Coluna Estatística do Efeito do OEPT (25, 50, 100, 200 E 400 mg/Kg, i.p) sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) em camundongos submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado.

OEPT-LCE.pzf:Col. stats of Data 2 - Wed Dec 17 17:33:36 2014

Col. stats		A	B	C	D	E	F	G
		CONT	DZP 1	OEPT 25	OEPT 50	OEPT 100	OEPT 200	OEPT 400
		Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9	9	9
2								
3	Minimum	19.00	132.0	25.00	38.00	40.00	49.00	47.00
4	25% Percentile	21.00	143.5	28.50	42.50	51.50	52.50	48.50
5	Median	29.00	162.0	54.00	59.00	61.00	71.00	59.00
6	75% Percentile	34.50	216.0	91.50	72.50	85.00	92.00	77.50
7	Maximum	41.00	267.0	118.0	100.0	105.0	100.0	107.0
8								
9	Mean	28.56	179.2	59.78	61.22	67.00	72.00	64.67
10	Std. Deviation	7.650	46.82	35.64	19.83	20.81	19.23	20.78
11	Std. Error	2.550	15.61	11.88	6.610	6.936	6.410	6.926
12								
13	Lower 95% CI of mean	22.67	143.2	32.38	45.98	51.01	57.22	48.69
14	Upper 95% CI of mean	34.44	215.2	87.18	76.46	82.99	86.78	80.64
15								
16	Sum	257.0	1613	538.0	551.0	603.0	648.0	582.0

Análise ANOVA do Efeito do OEPT (25, 50, 100, 200 E 400 mg/kg, i.p) sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) em camundongos submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado.

OEPT-LCE.pzf:1way ANOVA of Data 2 - Wed Dec 17 17:33:57 2014

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	27.76			
9	R squared	0.7484			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	24.97			
13	P value	0.0003			
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)	122500	6	20420	
19	Residual (within columns)	41190	56	735.6	
20	Total	163700	62		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	CONT vs DZP 1	-150.7	16.67	Yes	***
24	CONT vs OEPT 200	-43.44	4.806	Yes	*
25	CONT vs OEPT 100	-38.44	4.253	Yes	*
26	CONT vs OEPT 400	-36.11	3.994	Yes	*
27	CONT vs OEPT 50	-32.67	3.613	Yes	*
28	CONT vs OEPT 25	-31.22	3.454	Yes	*
29	OEPT 25 vs DZP 1	-119.4	13.21	Yes	***
30	OEPT 25 vs OEPT 200	-12.22	1.352	No	ns
31	OEPT 25 vs OEPT 100	-7.222	---	No	ns
32	OEPT 25 vs OEPT 400	-4.889	---	No	ns
33	OEPT 25 vs OEPT 50	-1.444	---	No	ns
34	OEPT 50 vs DZP 1	-118.0	13.05	Yes	***
35	OEPT 50 vs OEPT 200	-10.78	---	No	ns
36	OEPT 50 vs OEPT 100	-5.778	---	No	ns
37	OEPT 50 vs OEPT 400	-3.444	---	No	ns
38	OEPT 400 vs DZP 1	-114.6	12.67	Yes	***
39	OEPT 400 vs OEPT 200	-7.333	---	No	ns
40	OEPT 400 vs OEPT 100	-2.333	---	No	ns
41	OEPT 100 vs DZP 1	-112.2	12.41	Yes	***
42	OEPT 100 vs OEPT 200	-5.000	---	No	ns
43	OEPT 200 vs DZP 1	-107.2	11.86	Yes	***

Coluna Estatística do Efeito do OEPT (25, 50, 100, 200 E 400 mg/Kg, i.p) sobre o tempo de permanência nos braços fechados (TPBF) em camundongos submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado.

OEPT-LCE.pzf:Col. stats of Data 4 - Wed Dec 17 17:35:28 2014

Col. stats		A	B	C	D	E	F	G
		CONT	DZP 1	OEPT 25	OEPT 50	OEPT 100	OEPT 200	OEPT 400
		Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9	9	9
2								
3	Minimum	179.0	7.000	138.0	114.0	153.0	118.0	122.0
4	25% Percentile	184.0	63.50	149.5	149.0	155.0	129.0	128.0
5	Median	204.0	95.00	171.0	176.0	167.0	160.0	154.0
6	75% Percentile	212.5	103.5	181.5	186.0	175.5	186.0	181.5
7	Maximum	223.0	119.0	189.0	190.0	183.0	191.0	194.0
8								
9	Mean	200.1	82.78	166.9	166.1	166.7	156.3	156.3
10	Std. Deviation	15.69	35.03	18.03	25.32	10.78	28.09	27.21
11	Std. Error	5.229	11.68	6.010	8.438	3.594	9.365	9.071
12								
13	Lower 95% CI of mean	188.1	55.85	153.0	146.7	158.4	134.7	135.4
14	Upper 95% CI of mean	212.2	109.7	180.7	185.6	175.0	177.9	177.3
15								
16	Sum	1801	745.0	1502	1495	1500	1407	1407

Análise ANOVA do Efeito do OEPT (25, 50, 100, 200 E 400 mg/kg, i.p) sobre o tempo de permanência nos braços fechados (TPBF) em camundongos submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado.

OEPT-LCE.pzf:1way ANOVA of Data 4 - Wed Dec 17 17:35:57 2014

1way ANOVA					
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	7			
8	F	19.64			
9	R squared	0.6778			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	12.87			
13	P value	0.0451			
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)	68770	6	11460	
19	Residual (within columns)	32680	56	583.6	
20	Total	101400	62		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	DZP 1 vs CONT	-117.3	14.57	Yes	***
24	DZP 1 vs OEPT 25	-84.11	10.44	Yes	***
25	DZP 1 vs OEPT 100	-83.89	10.42	Yes	***
26	DZP 1 vs OEPT 50	-83.33	10.35	Yes	***
27	DZP 1 vs OEPT 400	-73.56	9.134	Yes	***
28	DZP 1 vs OEPT 200	-73.56	9.134	Yes	***
29	OEPT 200 vs CONT	-43.78	5.436	Yes	**
30	OEPT 200 vs OEPT 25	-10.56	1.311	No	ns
31	OEPT 200 vs OEPT 100	-10.33	---	No	ns
32	OEPT 200 vs OEPT 50	-9.778	---	No	ns
33	OEPT 200 vs OEPT 400	0.0000	---	No	ns
34	OEPT 400 vs CONT	-43.78	5.436	Yes	**
35	OEPT 400 vs OEPT 25	-10.56	---	No	ns
36	OEPT 400 vs OEPT 100	-10.33	---	No	ns
37	OEPT 400 vs OEPT 50	-9.778	---	No	ns
38	OEPT 50 vs CONT	-34.00	4.222	Yes	*
39	OEPT 50 vs OEPT 25	-0.7778	---	No	ns
40	OEPT 50 vs OEPT 100	-0.5556	---	No	ns
41	OEPT 100 vs CONT	-33.44	4.153	Yes	*
42	OEPT 100 vs OEPT 25	-0.2222	---	No	ns
43	OEPT 25 vs CONT	-33.22	4.125	Yes	**

Coluna Estatística do mecanismo de ação do OEPT sobre o número de entradas nos braços abertos (NEBA) no Labirinto em cruz elevado.

1way ANOVA Column statistics		A	B	C	D	E
		CONT	DZP 1	DZP 1 + FLU 2,5	OEPT 50	OEPT 50 + FLU 2,5
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9
2						
3	Minimum	1.000	10.00	3.000	4.000	1.000
4	25% Percentile	2.000	10.00	4.000	4.000	1.500
5	Median	2.000	11.00	6.000	4.000	2.000
6	75% Percentile	3.000	12.50	10.00	6.000	3.000
7	Maximum	4.000	21.00	14.00	7.000	5.000
8						
9	Mean	2.444	12.22	7.000	4.889	2.333
10	Std. Deviation	0.8819	3.456	3.905	1.269	1.225
11	Std. Error	0.2940	1.152	1.302	0.4231	0.4082
12						
13	Lower 95% CI	1.767	9.566	3.998	3.913	1.392
14	Upper 95% CI	3.122	14.88	10.00	5.865	3.275

Análise ANOVA do efeito do mecanismo de ação do OEPT sobre o número de entradas nos braços abertos (NEBA) no Labirinto em cruz elevado.

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 1			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	5			
8	F	24.17			
9	R squared	0.7074			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	25.14			
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)	601.1	4	150.3	
19	Residual (within columns)	248.7	40	6.217	
20	Total	849.8	44		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	OEPT 50 + FLU 2,5 vs DZP 1	-9.889	11.90	Yes	***
24	OEPT 50 + FLU 2,5 vs DZP 1 + FLU 2,5	-4.667	5.615	Yes	**
25	OEPT 50 + FLU 2,5 vs OEPT 50	-2.556	3.075	No	ns
26	OEPT 50 + FLU 2,5 vs CONT	-0.1111	---	No	ns
27	CONT vs DZP 1	-9.778	11.76	Yes	***
28	CONT vs DZP 1 + FLU 2,5	-4.556	5.481	Yes	**
29	CONT vs OEPT 50	-2.444	---	No	ns
30	OEPT 50 vs DZP 1	-7.333	8.824	Yes	***
31	OEPT 50 vs DZP 1 + FLU 2,5	-2.111	2.540	No	ns
32	DZP 1 + FLU 2,5 vs DZP 1	-5.222	6.283	Yes	***

Análise do teste “t” entre os grupos: CONT e OEPT 50 mg/kg, sobre o número de entradas nos braços abetos (NEBA), em camundongos submetidos ao labirinto em cruz elevado.

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column A	CONT
3	vs	vs
4	Column D	OEPT 50
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0002
8	P value summary	***
9	Are means signif. different? (P < 0.0	Yes
10	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
11	t, df	t=4.745 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column A	2.444 ± 0.2940 N=9
15	Mean ± SEM of column D	4.889 ± 0.4231 N=9
16	Difference between means	-2.444 ± 0.5152
17	95% confidence interval	-3.537 to -1.352
18	R squared	0.5845
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	2.071, 8, 8
22	P value	0.3232
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Análise do teste “t” entre os grupos: OEPT 50 mg/kg e OEPT 50 mg/kg + FLU 2,5, sobre o número de entradas nos braços abetos (NEBA), em camundongos submetidos ao labirinto em cruz elevado.

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column D	OEPT 50
3	vs	vs
4	Column E	OEPT 50 + FLU 2,5
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0005
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=4.347 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column D	4.889 ± 0.4231 N=9
15	Mean ± SEM of column E	2.333 ± 0.4082 N=9
16	Difference between means	2.556 ± 0.5879
17	95% confidence interval	1.309 to 3.802
18	R squared	0.5415
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	1.074, 8, 8
22	P value	0.9220
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Coluna Estatística do mecanismo de ação do OEPT sobre o número de entradas nos braços fechados (NEBF) no Labirinto em cruz elevado.

1way ANOVA Column statistics		A	B	C	D	E
		CONT	DZP 1	DZP 1 + FLU 2,5	OEPT 50	OEPT 50 + FLU 2,5
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9
2						
3	Minimum	12.00	3.000	13.00	5.000	8.000
4	25% Percentile	12.50	6.000	13.50	7.500	9.000
5	Median	15.00	10.00	16.00	9.000	11.00
6	75% Percentile	19.50	11.00	19.50	10.00	15.50
7	Maximum	22.00	12.00	21.00	10.00	18.00
8						
9	Mean	15.78	8.889	16.44	8.444	12.22
10	Std. Deviation	3.734	3.444	3.005	1.667	3.528
11	Std. Error	1.245	1.148	1.002	0.5556	1.176
12						
13	Lower 95% CI	12.91	6.242	14.13	7.163	9.511
14	Upper 95% CI	18.65	11.54	18.75	9.726	14.93

Análise ANOVA do efeito do mecanismo de ação do OEPT sobre o número de entradas nos braços fechados (NEBF) no Labirinto em cruz elevado.

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 2			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	5			
8	F	12.53			
9	R squared	0.5562			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	5.081			
13	P value	0.2791			
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)	501.9	4	125.5	
19	Residual (within columns)	400.4	40	10.01	
20	Total	902.3	44		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	OEPT 50 vs DZP 1 + FLU 2,5	-8.000	7.585	Yes	***
24	OEPT 50 vs CONT	-7.333	6.953	Yes	***
25	OEPT 50 vs OEPT 50 + FLU 2,5	-3.778	3.582	Yes	*
26	OEPT 50 vs DZP 1	-0.4444	0.4214	No	ns
27	DZP 1 vs DZP 1 + FLU 2,5	-7.556	7.164	Yes	***
28	DZP 1 vs CONT	-6.889	6.532	Yes	***
29	DZP 1 vs OEPT 50 + FLU 2,5	-3.333	3.161	Yes	*
30	OEPT 50 + FLU 2,5 vs DZP 1 + FLU 2,5	-4.222	4.003	Yes	*
31	OEPT 50 + FLU 2,5 vs CONT	-3.556	3.371	Yes	*
32	CONT vs DZP 1 + FLU 2,5	-0.6667	0.6321	No	ns

Coluna Estatística do mecanismo de ação do OEPT sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) no Labirinto em cruz elevado.

1way ANOVA Column statistics		A	B	C	D	E
		CONT	DZP 1	DZP 1 + FLU 2,5	OEPT 50	OEPT 50 + FLU 2,5
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9
2						
3	Minimum	19.00	152.0	13.00	40.00	14.00
4	25% Percentile	20.50	170.0	24.50	44.50	14.50
5	Median	29.00	242.0	45.00	62.00	24.00
6	75% Percentile	34.50	276.5	62.00	72.50	32.50
7	Maximum	41.00	290.0	80.00	74.00	45.00
8						
9	Mean	28.22	226.0	44.33	59.00	24.44
10	Std. Deviation	7.791	55.12	21.76	13.35	10.90
11	Std. Error	2.597	18.37	7.253	4.450	3.633
12						
13	Lower 95% CI	22.23	183.6	27.61	48.74	16.07
14	Upper 95% CI	34.21	268.4	61.06	69.26	32.82

Análise ANOVA do efeito do mecanismo de ação do OEPT sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) no Labirinto em cruz elevado.

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 3			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	5			
8	F	83.52			
9	R squared	0.8931			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	38.19			
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)	258600	4	64650	
19	Residual (within columns)	30960	40	774.0	
20	Total	289500	44		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	OEPT 50 + FLU 2,5 vs DZP 1	-201.6	21.73	Yes	***
24	OEPT 50 + FLU 2,5 vs OEPT 50	-34.56	3.726	No	ns
25	OEPT 50 + FLU 2,5 vs DZP 1 + FLU 2,5	-19.89	---	No	ns
26	OEPT 50 + FLU 2,5 vs CONT	-3.778	---	No	ns
27	CONT vs DZP 1	-197.8	21.33	Yes	***
28	CONT vs OEPT 50	-30.78	---	No	ns
29	CONT vs DZP 1 + FLU 2,5	-16.11	---	No	ns
30	DZP 1 + FLU 2,5 vs DZP 1	-181.7	19.59	Yes	***
31	DZP 1 + FLU 2,5 vs OEPT 50	-14.67	---	No	ns
32	OEPT 50 vs DZP 1	-167.0	18.01	Yes	***

Análise do teste “t” entre os grupos: CONT e OEPT 50 mg/kg, sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA), em camundongos submetidos ao labirinto em cruz elevado.

t test		
1	Table Analyzed	Data 3
2	Column A	CONT
3	vs	vs
4	Column D	OEPT 50
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	< 0.0001
8	P value summary	***
9	Are means signif. different? (P < 0.0	Yes
10	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
11	t, df	t=5.973 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column A	28.22 ± 2.597 N=9
15	Mean ± SEM of column D	59.00 ± 4.450 N=9
16	Difference between means	-30.78 ± 5.153
17	95% confidence interval	-41.70 to -19.85
18	R squared	0.6904
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	2.937, 8, 8
22	P value	0.1486
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Análise do teste “t” entre os grupos: CONT e OEPT 50 mg/kg, sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA), em camundongos submetidos ao labirinto em cruz elevado.

t test		
1	Table Analyzed	Data 3
2	Column D	OEPT 50
3	vs	vs
4	Column E	OEPT 50 + FLU 2,5
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	< 0.0001
8	P value summary	***
9	Are means signif. different? (P < 0.0	Yes
10	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
11	t, df	t=6.015 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column D	59.00 ± 4.450 N=9
15	Mean ± SEM of column E	24.44 ± 3.633 N=9
16	Difference between means	34.56 ± 5.745
17	95% confidence interval	22.38 to 46.73
18	R squared	0.6934
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	1.501, 8, 8
22	P value	0.5791
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Coluna Estatística do mecanismo de ação do OEPT sobre o tempo de permanência nos braços fechados (TPBF) no Labirinto em cruz elevado.

1way ANOVA Column statistics		A	B	C	D	E
		CONT	DZP 1	DZP 1 + FLU 2,5	OEPT 50	OEPT 50 + FLU 2,5
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	12	12
2						
3	Minimum	193.0	7.000	104.0	91.00	92.00
4	25% Percentile	205.0	63.50	126.0	123.3	123.0
5	Median	217.0	95.00	150.0	168.5	165.5
6	75% Percentile	242.0	101.0	196.5	183.5	187.5
7	Maximum	250.0	110.0	211.0	198.0	195.0
8						
9	Mean	220.6	81.22	155.8	156.8	156.0
10	Std. Deviation	20.13	33.58	37.90	35.63	35.96
11	Std. Error	6.711	11.19	12.63	10.29	10.38
12						
13	Lower 95% CI	205.1	55.41	126.6	134.1	133.2
14	Upper 95% CI	236.0	107.0	184.9	179.4	178.8

Análise ANOVA do efeito do mecanismo de ação do OEPT sobre o tempo de permanência nos braços fechados (TPBF) no Labirinto em cruz elevado.

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 4			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	5			
8	F	19.42			
9	R squared	0.6280			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	3.355			
13	P value	0.5003			
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)	87700	4	21920	
19	Residual (within columns)	51950	46	1129	
20	Total	139600	50		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	DZP 1 vs CONT	-139.3	12.44	Yes	***
24	DZP 1 vs OEPT 50	-75.53	7.208	Yes	***
25	DZP 1 vs OEPT 50 + FLU 2,5	-74.78	7.137	Yes	***
26	DZP 1 vs DZP 1 + FLU 2,5	-74.56	6.656	Yes	***
27	DZP 1 + FLU 2,5 vs CONT	-64.78	5.783	Yes	***
28	DZP 1 + FLU 2,5 vs OEPT 50	-0.9722	0.09279	No	ns
29	DZP 1 + FLU 2,5 vs OEPT 50 + FLU 2,5	-0.2222	---	No	ns
30	OEPT 50 + FLU 2,5 vs CONT	-64.56	6.161	Yes	***
31	OEPT 50 + FLU 2,5 vs OEPT 50	-0.7500	---	No	ns
32	OEPT 50 vs CONT	-63.81	6.089	Yes	***

Coluna Estatística do Efeito do OEPT (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de quedas dos camundongos submetidos ao *Rota rod*.

ROTA ROD NOVO.pzf:1way ANOVA of Data 1:Column statistics - Wed Dec 17 21:48:03 2014

1way ANOVA Column statistics		A	B	C	D	E	F	G
		CONT	DZP	OEPT 25	OEPT 50	OEPT 100	OEPT 200	OEPT 400
		Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9	9	9
2								
3	Minimum	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4	25% Percentile	0.0	1.000	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5	Median	0.0	1.000	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6	75% Percentile	0.0	2.500	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
7	Maximum	1.000	3.000	0.0	0.0	0.0	0.0	1.000
8								
9	Mean	0.1111	1.556	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1111
10	Std. Deviation	0.3333	1.014	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3333
11	Std. Error	0.1111	0.3379	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1111
12								
13	Lower 95% CI	-0.1451	0.7763	0.0	0.0	0.0	0.0	-0.1451
14	Upper 95% CI	0.3673	2.335	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3673

Análise ANOVA do Efeito do OEPT (25, 50, 100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre o número de quedas dos camundongos submetidos ao *Rota rod*.

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 1			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	7			
8	F	16.74			
9	R squared	0.6420			
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)	17.94	6	2.989	
19	Residual (within columns)	10.00	56	0.1786	
20	Total	27.94	62		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	OEPT 25 vs DZP	-1.556	11.04	Yes	***
24	OEPT 25 vs OEPT 400	-0.1111	0.7888	No	ns
25	OEPT 25 vs CONT	-0.1111	---	No	ns
26	OEPT 25 vs OEPT 200	0.0000	---	No	ns
27	OEPT 25 vs OEPT 100	0.0000	---	No	ns
28	OEPT 25 vs OEPT 50	0.0000	---	No	ns
29	OEPT 50 vs DZP	-1.556	11.04	Yes	***
30	OEPT 50 vs OEPT 400	-0.1111	---	No	ns
31	OEPT 50 vs CONT	-0.1111	---	No	ns
32	OEPT 50 vs OEPT 200	0.0000	---	No	ns
33	OEPT 50 vs OEPT 100	0.0000	---	No	ns
34	OEPT 100 vs DZP	-1.556	11.04	Yes	***
35	OEPT 100 vs OEPT 400	-0.1111	---	No	ns
36	OEPT 100 vs CONT	-0.1111	---	No	ns
37	OEPT 100 vs OEPT 200	0.0000	---	No	ns
38	OEPT 200 vs DZP	-1.556	11.04	Yes	***
39	OEPT 200 vs OEPT 400	-0.1111	---	No	ns
40	OEPT 200 vs CONT	-0.1111	---	No	ns
41	CONT vs DZP	-1.444	10.25	Yes	***
42	CONT vs OEPT 400	0.0000	---	No	ns
43	OEPT 400 vs DZP	-1.444	10.25	Yes	***

Coluna Estatística do Efeito do OEPT (25, 50, 100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre o tempo de permanência dos camundongos submetidos ao *Rota rod*.

Project1:1way ANOVA of Data 1:Column statistics - Wed Dec 17 22:51:34 2014

1way ANOVA Column statistics		A	B	C	D	E	F	G
		CONT	DZP 5	OEPT 25	OEPT 50	OEPT 100	OEPT 200	OEPT 400
		Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9	9	9
2								
3	Minimum	57.00	37.00	60.00	60.00	60.00	60.00	58.00
4	25% Percentile	60.00	47.50	60.00	60.00	60.00	60.00	60.00
5	Median	60.00	55.00	60.00	60.00	60.00	60.00	60.00
6	75% Percentile	60.00	57.00	60.00	60.00	60.00	60.00	60.00
7	Maximum	60.00	57.00	60.00	60.00	60.00	60.00	60.00
8								
9	Mean	59.67	52.00	60.00	60.00	60.00	60.00	59.78
10	Std. Deviation	1.000	7.331	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6667
11	Std. Error	0.3333	2.444	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2222
12								
13	Lower 95% CI	58.90	46.36	60.00	60.00	60.00	60.00	59.27
14	Upper 95% CI	60.44	57.64	60.00	60.00	60.00	60.00	60.29

Análise ANOVA do efeito do OEPT (25, 50, 100, 200 e 40mg/kg, i.p.) sobre o tempo de permanências dos camundongos submetidos ao *Rota rod*.

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 1			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	7			
8	F	10.22			
9	R squared	0.5226			
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)	483.3	6	80.56	
19	Residual (within columns)	441.6	56	7.885	
20	Total	924.9	62		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	DZP vs OEPT 200	-8.000	8.547	Yes	***
24	DZP vs OEPT 100	-8.000	8.547	Yes	***
25	DZP vs OEPT 50	-8.000	8.547	Yes	***
26	DZP vs OEPT 25	-8.000	8.547	Yes	***
27	DZP vs OEPT 400	-7.778	8.310	Yes	***
28	DZP vs CONT	-7.667	8.191	Yes	***
29	CONT vs OEPT 200	-0.3333	0.3561	No	ns
30	CONT vs OEPT 100	-0.3333	---	No	ns
31	CONT vs OEPT 50	-0.3333	---	No	ns
32	CONT vs OEPT 25	-0.3333	---	No	ns
33	CONT vs OEPT 400	-0.1111	---	No	ns
34	OEPT 400 vs OEPT 200	-0.2222	---	No	ns
35	OEPT 400 vs OEPT 100	-0.2222	---	No	ns
36	OEPT 400 vs OEPT 50	-0.2222	---	No	ns
37	OEPT 400 vs OEPT 25	-0.2222	---	No	ns
38	OEPT 25 vs OEPT 200	0.0000	---	No	ns
39	OEPT 25 vs OEPT 100	0.0000	---	No	ns
40	OEPT 25 vs OEPT 50	0.0000	---	No	ns
41	OEPT 50 vs OEPT 200	0.0000	---	No	ns
42	OEPT 50 vs OEPT 100	0.0000	---	No	ns
43	OEPT 100 vs OEPT 200	0.0000	---	No	ns

Coluna Estatística do Efeito do OEPT (100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre a latência para primeira convulsão em camundongos submetidos ao teste de convulsões induzida por pentilenotetrazol (PTZ).

OEPT-PTZ.pzf:Col. stats of Data 1 - Wed Dec 17 21:24:33 2014

Col. stats		A	B	C	D	E
		CONT	DZP 2	OEPT 100	OEPT 200	OEPT 400
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9
2						
3	Minimum	75.00	1800	87.00	69.00	82.00
4	25% Percentile	119.0	1800	121.0	112.5	115.5
5	Median	150.0	1800	176.0	257.0	156.0
6	75% Percentile	165.5	1800	215.0	376.5	261.5
7	Maximum	170.0	1800	239.0	618.0	442.0
8						
9	Mean	139.1	1800	170.6	269.9	197.7
10	Std. Deviation	31.85	0.0	52.58	174.2	114.4
11	Std. Error	10.62	0.0	17.53	58.07	38.13
12						
13	Lower 95% CI of mean	114.6	1800	130.1	136.0	109.7
14	Upper 95% CI of mean	163.6	1800	211.0	403.8	285.6
15						
16	Sum	1252	16200	1535	2429	1779

Análise ANOVA do Efeito do OEPT (100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre a latência para primeira convulsão em camundongos submetidos ao teste de convulsões induzida por pentilenotetrazol (PTZ).

OEPT-PTZ.pzf:1way ANOVA of Data 1 - Wed Dec 17 21:25:16 2014

1way ANOVA					
1	Table Analyzed	Data 1			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	5			
8	F	493.8			
9	R squared	0.9801			
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)	18650000	4	4662000	
19	Residual (within columns)	377700	40	9441	
20	Total	19030000	44		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	CONT vs DZP 2	-1661	51.28	Yes	***
24	CONT vs OEPT 200	-130.8	4.038	Yes	*
25	CONT vs OEPT 400	-58.56	1.808	No	ns
26	CONT vs OEPT 100	-31.44	---	No	ns
27	OEPT 100 vs DZP 2	-1629	50.31	Yes	***
28	OEPT 100 vs OEPT 200	-99.33	3.067	No	ns
29	OEPT 100 vs OEPT 400	-27.11	---	No	ns
30	OEPT 400 vs DZP 2	-1602	49.47	Yes	***
31	OEPT 400 vs OEPT 200	-72.22	---	No	ns
32	OEPT 200 vs DZP 2	-1530	47.24	Yes	***

Coluna Estatística do Efeito do OEPT (100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre a latência de morte em camundongos submetidos ao teste de convulsões induzida por pentilenotetrazol (PTZ).

OEPT-PTZ.pzf:Col. stats of Data 2 - Wed Dec 17 21:25:38 2014

Col. stats		A	B	C	D	E
		CONT	DZP 2	OEPT 100	OEPT 200	OEPT 400
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9
2						
3	Minimum	194.0	1800	455.0	456.0	495.0
4	25% Percentile	264.0	1800	546.0	533.5	1125
5	Median	438.0	1800	791.0	1800	1800
6	75% Percentile	488.0	1800	909.0	1800	1800
7	Maximum	1193	1800	1800	1800	1800
8						
9	Mean	466.1	1800	840.3	1369	1505
10	Std. Deviation	293.7	0.0	398.8	646.6	538.6
11	Std. Error	97.90	0.0	132.9	215.5	179.5
12						
13	Lower 95% CI of mean	240.3	1800	533.8	872.2	1091
14	Upper 95% CI of mean	691.9	1800	1147	1866	1919
15						
16	Sum	4195	16200	7563	12323	13545

Análise ANOVA do Efeito do OEPT (100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre a latência de morte em camundongos submetidos ao teste de convulsões induzida por pentilenotetrazol (PTZ).

OEPT-PTZ.pzf:1way ANOVA of Data 2 - Wed Dec 17 21:33:27 2014

1way ANOVA					
1	Table Analyzed	Data 2			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	5			
8	F	13.56			
9	R squared	0.5756			
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)	10350000	4	2586000	
19	Residual (within columns)	7628000	40	190700	
20	Total	17970000	44		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	CONT vs DZP 2	-1334	9.164	Yes	***
24	CONT vs OEPT 400	-1039	7.137	Yes	***
25	CONT vs OEPT 200	-903.1	6.204	Yes	***
26	CONT vs OEPT 100	-374.2	2.571	No	ns
27	OEPT 100 vs DZP 2	-959.7	6.593	Yes	***
28	OEPT 100 vs OEPT 400	-664.7	4.566	Yes	**
29	OEPT 100 vs OEPT 200	-528.9	3.633	Yes	*
30	OEPT 200 vs DZP 2	-430.8	2.959	No	ns
31	OEPT 200 vs OEPT 400	-135.8	---	No	ns
32	OEPT 400 vs DZP 2	-295.0	---	No	ns

Análise do teste “t” entre os grupos: OEPT 100 mg/kg e Controle, sobre a latência para a morte em camundongos submetidos ao teste de convulsões induzidas por Pentilenotetrazol.

t test		
1	Table Analyzed	Data 2
2	Column A	CONT
3	vs	vs
4	Column C	OEPT 100
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0376
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=2.267 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column A	466.1 ± 97.90 N=9
15	Mean ± SEM of column C	840.3 ± 132.9 N=9
16	Difference between means	-374.2 ± 165.1
17	95% confidence interval	-724.2 to -24.24
18	R squared	0.2431
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	1.843, 8, 8
22	P value	0.4053
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Coluna Estatística da investigação do mecanismo de ação do OEPT sobre a latência para primeira convulsão em camundongos submetidos ao teste de convulsões induzida por pentilenotetrazol (PTZ).

1way ANOVA Column statistics		A	B	C	D	E
		CONT	DZP 2	DZP 2 + FLU 5	OEPT 200	OEPT 200 + FLU 5
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9
2						
3	Minimum	97.00	1800	390.0	75.00	35.00
4	25% Percentile	108.5	1800	429.0	106.0	47.00
5	Median	130.0	1800	497.0	215.0	89.00
6	75% Percentile	160.5	1800	622.5	383.0	171.0
7	Maximum	177.0	1800	1800	590.0	278.0
8						
9	Mean	133.8	1800	642.8	261.4	111.7
10	Std. Deviation	28.66	0.0	442.5	170.7	81.30
11	Std. Error	9.552	0.0	147.5	56.90	27.10
12						
13	Lower 95% CI	111.8	1800	302.6	130.2	49.18
14	Upper 95% CI	155.8	1800	982.9	392.6	174.2

Análise ANOVA da investigação do mecanismo de ação do OEPT sobre a latência para primeira convulsão em camundongos submetidos ao teste de convulsões induzida por pentilenotetrazol (PTZ).

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 1			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	5			
8	F	97.39			
9	R squared	0.9069			
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)	18110000	4	4526000	
19	Residual (within columns)	1859000	40	46480	
20	Total	19970000	44		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	OEPT 200 + FLU 5 vs DZP 2	-1688	23.49	Yes	***
24	OEPT 200 + FLU 5 vs DZP 2 + FLU 5	-531.1	7.391	Yes	***
25	OEPT 200 + FLU 5 vs OEPT 200	-149.8	2.084	No	ns
26	OEPT 200 + FLU 5 vs CONT	-22.11	---	No	ns
27	CONT vs DZP 2	-1666	23.19	Yes	***
28	CONT vs DZP 2 + FLU 5	-509.0	7.083	Yes	***
29	CONT vs OEPT 200	-127.7	---	No	ns
30	OEPT 200 vs DZP 2	-1539	21.41	Yes	***
31	OEPT 200 vs DZP 2 + FLU 5	-381.3	5.307	Yes	***
32	DZP 2 + FLU 5 vs DZP 2	-1157	16.10	Yes	***

Análise do teste “t” entre os grupos: OEPT 200 mg/kg e Controle, sobre a latência para a primeira convulsão, no teste de convulsões induzidas por Pentilenotetrazol.

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column A	CONT
3	vs	vs
4	Column D	OEPT 200
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0418
8	P value summary	*
9	Are means signif. different? (P < 0.0	Yes
10	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
11	t, df	t=2.213 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column A	133.8 ± 9.552 N=9
15	Mean ± SEM of column D	261.4 ± 56.90 N=9
16	Difference between means	-127.7 ± 57.69
17	95% confidence interval	-250.0 to -5.357
18	R squared	0.2343
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	35.48, 8, 8
22	P value	< 0.0001
23	P value summary	***
24	Are variances significantly different?	Yes

Análise do teste “t” entre os grupos: Controle e DZP 2 + FLU 2,5, sobre a latência para a primeira convulsão, no teste de convulsões induzidas por Pentilenotetrazol.

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column A	CONT
3	vs	vs
4	Column C	DZP 2 + FLU 5
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0033
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=3.444 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column A	133.8 ± 9.552 N=9
15	Mean ± SEM of column C	642.8 ± 147.5 N=9
16	Difference between means	-509.0 ± 147.8
17	95% confidence interval	-822.4 to -195.6
18	R squared	0.4257
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	238.4, 8, 8
22	P value	< 0.0001
23	P value summary	***
24	Are variances significantly different?	Yes

Análise do teste “t” entre os grupos: OEPT 200 + FLU 5 e OEPT 200 sobre a latência para a primeira convulsão, no teste de convulsões induzidas por Pentilenotetrazol.

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column D	OEPT 200
3	vs	vs
4	Column E	OEPT 200 + FLU 5
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0303
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=2.377 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column D	261.4 ± 56.90 N=9
15	Mean ± SEM of column E	111.7 ± 27.10 N=9
16	Difference between means	149.8 ± 63.02
17	95% confidence interval	16.17 to 283.4
18	R squared	0.2609
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	4.408, 8, 8
22	P value	0.0508
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Coluna Estatística da investigação do mecanismo de ação do OEPT sobre a latência para a morte dos camundongos submetidos ao teste de convulsões induzida por pentilenotetrazol (PTZ).

1way ANOVA Column statistics		A	B	C	D	E
		CONT	DZP 2	DZP 2 + FLU 5	OEPT 200	OEPT 200 + FLU 5
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9
2						
3	Minimum	325.0	1800	400.0	475.0	498.0
4	25% Percentile	346.5	1800	524.5	588.5	607.5
5	Median	413.0	1800	891.0	1800	856.0
6	75% Percentile	507.0	1800	939.0	1800	1006
7	Maximum	576.0	1800	1800	1800	1035
8						
9	Mean	427.8	1800	858.1	1374	802.7
10	Std. Deviation	90.41	0.0	414.5	619.6	204.4
11	Std. Error	30.14	0.0	138.2	206.5	68.13
12						
13	Lower 95% CI	358.3	1800	539.5	897.7	645.6
14	Upper 95% CI	497.3	1800	1177	1850	959.8

Análise ANOVA da investigação do mecanismo de ação do OEPT sobre a latência para a morte dos camundongos submetidos ao teste de convulsões induzida por pentilenotetrazol (PTZ).

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 2			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	5			
8	F	21.41			
9	R squared	0.6816			
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)	10370000	4	2593000	
19	Residual (within columns)	4845000	40	121100	
20	Total	15220000	44		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	CONT vs DZP 2	-1372	11.83	Yes	***
24	CONT vs OEPT 200	-946.2	8.156	Yes	***
25	CONT vs DZP 2 + FLU 5	-430.3	3.709	Yes	*
26	CONT vs OEPT 200 + FLU 5	-374.9	3.232	Yes	*
27	OEPT 200 + FLU 5 vs DZP 2	-997.3	8.597	Yes	***
28	OEPT 200 + FLU 5 vs OEPT 200	-571.3	4.925	Yes	**
29	OEPT 200 + FLU 5 vs DZP 2 + FLU 5	-55.44	0.4779	No	ns
30	DZP 2 + FLU 5 vs DZP 2	-941.9	8.119	Yes	***
31	DZP 2 + FLU 5 vs OEPT 200	-515.9	4.447	Yes	**
32	OEPT 200 vs DZP 2	-426.0	3.672	Yes	*

Coluna Estatística do Efeito do OEPT (100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre a latência de sono em camundongos submetidos ao teste de potencialização do sono induzido por Pentobarbital.

OEPT-TS.pzf:Col. stats of Data 1 - Wed Dec 17 18:07:28 2014

Col. stats		A	B	C	D	E
		CONT	DZP 2	OEPT 100	OEPT 200	OEPT 400
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	7	7	7	7	7
2						
3	Minimum	300.0	105.0	196.0	152.0	143.0
4	25% Percentile	330.0	115.0	204.0	184.0	150.0
5	Median	382.0	125.0	234.0	240.0	185.0
6	75% Percentile	435.0	164.0	286.0	360.0	206.0
7	Maximum	500.0	333.0	339.0	415.0	210.0
8						
9	Mean	383.6	160.0	252.0	259.9	176.0
10	Std. Deviation	68.11	79.25	50.69	94.35	27.62
11	Std. Error	25.74	29.95	19.16	35.66	10.44
12						
13	Lower 95% CI of mean	320.6	86.71	205.1	172.6	150.5
14	Upper 95% CI of mean	446.6	233.3	298.9	347.1	201.5
15						
16	Sum	2685	1120	1764	1819	1232

Análise ANOVA do Efeito do OEPT (100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre a latência do sono em camundongos submetidos ao teste de potencialização do sono induzido por Pentobarbital.

OEPT-TS.pzf:1way ANOVA of Data 1 - Wed Dec 17 18:07:50 2014

1way ANOVA					
1	Table Analyzed	Data 1			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	5			
8	F	11.89			
9	R squared	0.6131			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	8.057			
13	P value	0.0895			
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)	220100	4	55040	
19	Residual (within columns)	138900	30	4631	
20	Total	359100	34		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	DZP 2 vs CONT	-223.6	8.692	Yes	***
24	DZP 2 vs OEPT 200	-99.86	3.882	Yes	*
25	DZP 2 vs OEPT 100	-92.00	3.577	Yes	*
26	DZP 2 vs OEPT 400	-16.00	0.6221	No	ns
27	OEPT 400 vs CONT	-207.6	8.070	Yes	***
28	OEPT 400 vs OEPT 200	-83.86	3.260	No	ns
29	OEPT 400 vs OEPT 100	-76.00	---	No	ns
30	OEPT 100 vs CONT	-131.6	5.115	Yes	**
31	OEPT 100 vs OEPT 200	-7.857	---	No	ns
32	OEPT 200 vs CONT	-123.7	4.810	Yes	**

Análise do teste “t” entre os grupos: OEPT 400 mg/kg e 100 mg/kg, sobre a latência para o sono, em camundongos submetidos ao teste de potencialização do sono induzido por Pentobarbital.

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column C	OEPT 100
3	vs	vs
4	Column E	OEPT 400
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0045
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=3.483 df=12
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column C	252.0 ± 19.16 N=7
15	Mean ± SEM of column E	176.0 ± 10.44 N=7
16	Difference between means	76.00 ± 21.82
17	95% confidence interval	28.46 to 123.5
18	R squared	0.5028
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	3.367, 6, 6
22	P value	0.1652
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Análise do teste “t” entre os grupos: OEPT 400 mg/kg e OEPT 200 mg/kg, sobre a latência para o sono, em camundongos submetidos teste de potencialização do sono induzido por Pentobarbital.

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column D	OEPT 200
3	vs	vs
4	Column E	OEPT 400
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0435
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=2.257 df=12
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column D	259.9 ± 35.66 N=7
15	Mean ± SEM of column E	176.0 ± 10.44 N=7
16	Difference between means	83.86 ± 37.16
17	95% confidence interval	2.887 to 164.8
18	R squared	0.2979
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	11.67, 6, 6
22	P value	0.0087
23	P value summary	**
24	Are variances significantly different?	Yes

Coluna Estatística do Efeito do OEPT (100, 200 e 400 mg/Kg, i.p.) sobre a duração do sono em camundongos submetidos ao teste de potencialização do sono induzido por Pentobarbital.

OEPT-TS.pzf:Col. stats of Data 2 - Wed Dec 17 18:08:21 2014

Col. stats		A	B	C	D	E
		CONT	DZP 2	OEPT 100	OEPT 200	OEPT 400
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	7	7	7	7	7
2						
3	Minimum	2315	3840	2160	2520	3840
4	25% Percentile	2410	4980	2390	2580	4080
5	Median	3370	6060	2900	2760	4120
6	75% Percentile	3437	6120	3287	3426	5066
7	Maximum	3565	6960	3429	3760	5280
8						
9	Mean	3005	5614	2821	2977	4428
10	Std. Deviation	554.4	1010	458.7	473.1	551.7
11	Std. Error	209.6	381.9	173.4	178.8	208.5
12						
13	Lower 95% CI of mean	2493	4680	2397	2539	3918
14	Upper 95% CI of mean	3518	6549	3245	3414	4938
15						
16	Sum	21037	39300	19746	20836	30995

Análise ANOVA Efeito do OEPT (100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre a duração do sono em camundongos submetidos ao teste de potencialização do sono induzido por Pentobarbital.

OEPT-TS.pzf:1way ANOVA of Data 2 - Wed Dec 17 18:08:46 2014

1way ANOVA					
1	Table Analyzed	Data 2			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	5			
8	F	25.18			
9	R squared	0.7705			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	5.553			
13	P value	0.2351			
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)	41650000	4	10410000	
19	Residual (within columns)	12400000	30	413400	
20	Total	54050000	34		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	OEPT 100 vs DZP 2	-2793	11.49	Yes	***
24	OEPT 100 vs OEPT 400	-1607	6.613	Yes	***
25	OEPT 100 vs CONT	-184.4	0.7589	No	ns
26	OEPT 100 vs OEPT 200	-155.7	---	No	ns
27	OEPT 200 vs DZP 2	-2638	10.85	Yes	***
28	OEPT 200 vs OEPT 400	-1451	5.972	Yes	***
29	OEPT 200 vs CONT	-28.71	---	No	ns
30	CONT vs DZP 2	-2609	10.74	Yes	***
31	CONT vs OEPT 400	-1423	5.854	Yes	***
32	OEPT 400 vs DZP 2	-1186	4.882	Yes	**

Coluna estatística do mecanismo de ação do OEPT sobre a latência do sono em camundongos submetidos ao teste de potencialização do sono induzido por Pentobarbital.

Col. stats		A	B	C	D	E
		CONT	DZP 2	DZP 2 + FLU 5	OEPT 400	OEPT 400 + FLU 5
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9
2						
3	Minimum	310.0	77.00	149.0	95.00	185.0
4	25% Percentile	341.0	82.50	238.0	117.0	209.5
5	Median	378.0	100.0	248.0	146.0	220.0
6	75% Percentile	420.5	124.5	296.0	172.5	331.5
7	Maximum	432.0	129.0	345.0	185.0	426.0
8						
9	Mean	376.7	103.1	259.3	144.3	262.1
10	Std. Deviation	42.88	20.59	55.12	30.95	88.03
11	Std. Error	14.29	6.865	18.37	10.32	29.34
12						
13	Lower 95% CI of mean	343.7	87.28	217.0	120.5	194.4
14	Upper 95% CI of mean	409.6	118.9	301.7	168.1	329.8
15						
16	Sum	3390	928.0	2334	1299	2359

Análise ANOVA do mecanismo de ação do OEPT sobre a latência do sono em camundongos submetidos ao teste de potencialização do sono induzido por Pentobarbital.

1way ANOVA					
1	Table Analyzed	Data 1			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	5			
8	F	37.62			
9	R squared	0.7900			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	17.40			
13	P value	0.0016			
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)	421500	4	105400	
19	Residual (within columns)	112100	40	2802	
20	Total	533600	44		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	DZP 2 vs CONT	-273.6	15.50	Yes	***
24	DZP 2 vs OEPT 400 + FLU 5	-159.0	9.012	Yes	***
25	DZP 2 vs DZP 2 + FLU 5	-156.2	8.854	Yes	***
26	DZP 2 vs OEPT 400	-41.22	2.336	No	ns
27	OEPT 400 vs CONT	-232.3	13.17	Yes	***
28	OEPT 400 vs OEPT 400 + FLU 5	-117.8	6.675	Yes	***
29	OEPT 400 vs DZP 2 + FLU 5	-115.0	6.518	Yes	***
30	DZP 2 + FLU 5 vs CONT	-117.3	6.650	Yes	***
31	DZP 2 + FLU 5 vs OEPT 400 + FLU 5	-2.778	0.1574	No	ns
32	OEPT 400 + FLU 5 vs CONT	-114.6	6.493	Yes	***

Análise do teste “t” entre os grupos: DZP 2 e OEPT 400, sobre a latência para o sono, em camundongos submetidos teste de potencialização do sono induzido por Pentobarbital.

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column B	DZP 2
3	vs	vs
4	Column D	OEPT 400
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0043
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=3.326 df=16
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column B	103.1 ± 6.865 N=9
15	Mean ± SEM of column D	144.3 ± 10.32 N=9
16	Difference between means	-41.22 ± 12.39
17	95% confidence interval	-67.49 to -14.95
18	R squared	0.4088
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	2.259, 8, 8
22	P value	0.2702
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Coluna estatística do mecanismo de ação do OEPT sobre a duração do sono dos camundongos submetidos ao teste de potencialização do sono induzido por Pentobarbital.

Col. stats		A	B	C	D	E
		CONT	DZP 2	DZP 2 + FLU 5	OEPT 400	OEPT 400 + FLU 5
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9
2						
3	Minimum	1020	6376	1412	3480	1090
4	25% Percentile	1197	6514	2328	3950	1307
5	Median	1463	6817	2987	4987	1731
6	75% Percentile	1746	10304	4106	5607	2105
7	Maximum	2243	10800	4578	5978	2860
8						
9	Mean	1507	8123	3034	4789	1767
10	Std. Deviation	377.5	1931	1040	874.3	561.5
11	Std. Error	125.8	643.6	346.7	291.4	187.2
12						
13	Lower 95% CI of mean	1216	6639	2234	4117	1336
14	Upper 95% CI of mean	1797	9607	3833	5461	2199
15						
16	Sum	13559	73105	27305	43105	15907

Análise ANOVA do mecanismo de ação do OEPT sobre a duração do sono dos camundongos submetidos ao teste de potencialização do sono induzido por Pentobarbital.

1way ANOVA					
1	Table Analyzed	Data 2			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	5			
8	F	55.27			
9	R squared	0.8468			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	22.21			
13	P value	0.0002			
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)	266700000	4	66680000	
19	Residual (within columns)	48250000	40	1206000	
20	Total	315000000	44		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	CONT vs DZP 2	-6616	18.07	Yes	***
24	CONT vs OEPT 400	-3283	8.967	Yes	***
25	CONT vs DZP 2 + FLU 5	-1527	4.172	Yes	*
26	CONT vs OEPT 400 + FLU 5	-260.9	0.7126	No	ns
27	OEPT 400 + FLU 5 vs DZP 2	-6355	17.36	Yes	***
28	OEPT 400 + FLU 5 vs OEPT 400	-3022	8.254	Yes	***
29	OEPT 400 + FLU 5 vs DZP 2 + FLU 5	-1266	3.459	Yes	*
30	DZP 2 + FLU 5 vs DZP 2	-5089	13.90	Yes	***
31	DZP 2 + FLU 5 vs OEPT 400	-1756	4.795	Yes	**
32	OEPT 400 vs DZP 2	-3333	9.105	Yes	***

Coluna Estatística do efeito do OEPT (100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre a perda do reflexo postural em camundongos submetidos a indução do sono com Éter etílico.

Project1:1way ANOVA of Data 1:Column statistics - Wed Dec 17 18:40:23 2014

1way ANOVA Column statistics		A	B	C	D	E
		CONT	DZP 2	OEPT 100	OEPT 200	OEPT 400
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9
2						
3	Minimum	16.00	22.00	18.00	20.00	29.00
4	25% Percentile	18.50	24.00	21.00	23.00	31.00
5	Median	20.00	26.00	25.00	26.00	36.00
6	75% Percentile	21.00	35.50	28.00	28.00	38.00
7	Maximum	23.00	36.00	32.00	29.00	48.00
8						
9	Mean	19.89	29.22	24.89	25.44	35.78
10	Std. Deviation	2.028	5.890	4.457	3.005	5.696
11	Std. Error	0.6759	1.963	1.486	1.002	1.899
12						
13	Lower 95% CI	18.33	24.69	21.46	23.13	31.40
14	Upper 95% CI	21.45	33.75	28.31	27.75	40.16

Análise ANOVA Efeito do OEPT (100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre a perda do reflexo postural em camundongos submetidos a indução do sono com Éter etílico.

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 1			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	5			
8	F	17.75			
9	R squared	0.6396			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	6.980			
13	P value	0.1369			
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)	1421	4	355.1	
19	Residual (within columns)	800.4	40	20.01	
20	Total	2221	44		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	CONT vs OEPT 400	-17.56	11.77	Yes	***
24	CONT vs DZP 2	-7.333	4.918	Yes	**
25	CONT vs OEPT 200	-7.222	4.843	Yes	**
26	CONT vs OEPT 100	-6.667	4.471	Yes	**
27	OEPT 100 vs OEPT 400	-10.89	7.302	Yes	***
28	OEPT 100 vs DZP 2	-0.6667	0.4471	No	ns
29	OEPT 100 vs OEPT 200	-0.5556	---	No	ns
30	OEPT 200 vs OEPT 400	-10.33	6.930	Yes	***
31	OEPT 200 vs DZP 2	-0.1111	---	No	ns
32	DZP 2 vs OEPT 400	-10.22	6.855	Yes	***

Coluna Estatística do Efeito do OEPT (100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre a duração do sono em camundongos submetidos a indução do sono com Éter etílico.

Project1:1way ANOVA of Data 2:Column statistics - Wed Dec 17 19:40:10 2014

1way ANOVA Column statistics		A	B	C	D	E
		CONT	DZP 2	OEPT 100	OEPT 200	OEPT 400
		Y	Y	Y	Y	Y
1	Number of values	9	9	9	9	9
2						
3	Minimum	56.00	244.0	164.0	149.0	223.0
4	25% Percentile	62.50	288.0	168.0	156.5	238.5
5	Median	70.00	292.0	186.0	166.0	271.0
6	75% Percentile	86.00	344.0	224.5	195.5	289.0
7	Maximum	95.00	450.0	251.0	230.0	303.0
8						
9	Mean	74.22	316.3	195.2	175.4	266.9
10	Std. Deviation	13.25	60.46	31.79	26.33	27.85
11	Std. Error	4.418	20.15	10.60	8.778	9.285
12						
13	Lower 95% CI	64.03	269.9	170.8	155.2	245.5
14	Upper 95% CI	84.41	362.8	219.7	195.7	288.3

Análise ANOVA Efeito do OEPT (100, 200 e 400 mg/kg, i.p.) sobre a duração do sono em camundongos submetidos a indução do sono com Éter etílico.

1way ANOVA Tabular results					
1	Table Analyzed	Data 2			
2					
3	One-way analysis of variance				
4	P value	< 0.0001			
5	P value summary	***			
6	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
7	Number of groups	5			
8	F	52.32			
9	R squared	0.8395			
10					
11	Bartlett's test for equal variances				
12	Bartlett's statistic (corrected)	25.74			
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)	370400	4	92590	
19	Residual (within columns)	70790	40	1770	
20	Total	441200	44		
21					
22	Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
23	CONT vs DZP 2	-270.2	19.27	Yes	***
24	CONT vs OEPT 400	-192.7	13.74	Yes	***
25	CONT vs OEPT 100	-121.0	8.629	Yes	***
26	CONT vs OEPT 200	-101.2	7.218	Yes	***
27	OEPT 200 vs DZP 2	-169.0	12.05	Yes	***
28	OEPT 200 vs OEPT 400	-91.44	6.521	Yes	***
29	OEPT 200 vs OEPT 100	-19.78	1.410	No	ns
30	OEPT 100 vs DZP 2	-149.2	10.64	Yes	***
31	OEPT 100 vs OEPT 400	-71.67	5.111	Yes	***
32	OEPT 400 vs DZP 2	-77.56	5.531	Yes	***