



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

FACULDADE DE PSICOLOGIA

Laboratório de Psicologia Experimental, Neurociências e Comportamento

**AVALIAÇÃO (SCREENING) COMPORTAMENTAL DE DOIS
TIPOS DE ÓLEO PURIFICADO DE COPAÍBA: COPAIFERA
MULTIJUGA E COPAIFERA RETICULATA E SEU
POSSÍVEL EFEITO NEUROPROTETOR EM RATOS
INDUZIDOS AO PARKINSON POR ROTENONA**

PATRÍCIA DE LIMA ALVES

Manaus - AM

2014

PATRÍCIA DE LIMA ALVES

**AVALIAÇÃO (SCREENING) COMPORTAMENTAL DE DOIS
TIPOS DE ÓLEO PURIFICADO DE COPAÍBA: COPAIFERA
MULTIJUGA E COPAIFERA RETICULATA E SEU
POSSÍVEL EFEITO NEUROPROTETOR EM RATOS
INDUZIDOS AO PARKINSON POR ROTENONA**

Projeto de PIBIC apresentado à Faculdade de
Psicologia da Universidade Federal do
Amazonas

Orientador: Prof. Dr. Walter Adriano Ubiali

Manaus – AM

2014

SUMÁRIO

| | |
|---|------------|
| RESUMO | iii |
| ABSTRACT..... | v |
| INTRODUÇÃO..... | 7 |
| OBJETIVOS | 15 |
| 2.1. - Objetivos Gerais | 16 |
| 2.2. - Objetivos Específicos..... | 16 |
| EXPERIMENTO I - AVALIAÇÃO (SCREENING) COMPORTAMENTAL..... | 17 |
| 3. – EXPERIMENTO I – AVALIAÇÃO (SCREENING) COMPORTAMENTAL | 18 |
| 3.1. - Materiais e Métodos | 18 |
| 3.1.1. – Avaliação (Screening) Comportamental | 18 |
| 3.1.1.1. - Animais..... | 18 |
| 3.1.1.2. - Óleos | 18 |
| 3.1.1.4. - Análise Estatística | 20 |
| 3.2. – Resultados e Discussão | 20 |
| 3.2.1. – Comportamentos do Open Field | 20 |
| 2.2. – Comportamentos do Labirinto em Cruz | 23 |
| 3.2.3. – Comportamentos do Rota Rod..... | 23 |
| 3.2.2. – Outras Considerações Acerca do Experimento | 24 |
| 4. – CONCLUSÃO..... | 25 |
| 5. - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 26 |

RESUMO

RESUMO

O óleo de copaíba é uma resina extraída do tronco de árvores do gênero *Copaifera*., muito usado na medicina popular e muito pesquisado devido suas propriedades terapêuticas, como o efeito anti-inflamatório e cicatrizante, mas com poucos estudos sobre sua atividade no sistema nervoso central (SNC). Esta pesquisa teve como objetivo realizar uma avaliação (screening) do efeito que o óleo de duas espécies com ocorrência na Amazônia: *C. multijuga* e *C. reticulata*, têm no comportamento e de verificar o possível efeito neuroprotetor para o mal de Parkinson do óleo com melhor resultado no primeiro experimento. Após o tratamento com o óleo de *C. multijuga* 800mg/Kg por 23 dias e posterior análise do comportamento nos aparelhos de campo aberto, labirinto em cruz e rota rod, verificou-se que o referido óleo diminuiu o interesse exploratório dos animais e função de uma possível indução destes ao sono. O óleo de *C. Reticulata* 800mg/Kg, mostrou-se tóxico após o terceiro dia de tratamento. O trabalho com as demais concentrações dos óleos e a segunda parte da pesquisa foram inviabilizados devido a problemas institucionais envolvendo o Biotério Central da Universidade Federal do Amazonas, o qual disponibilizava os animais para a presente pesquisa.

Palavras-Chave: Copaíba, Comportamento, Neuroprotetor, Parkinson.

ABSTRACT

ABSTRACT

Copaiba oil is a resin extracted from the trunk of trees of the genus *Copaifera*., widely used in popular medicine and heavily researched because of its therapeutic properties such as anti-inflammatory and healing effect, but with few studies on its activity in the central nervous system (CNS). This research aimed to conduct a screening of the effect that the oil of two species occurring in the Amazon: *C. multijuga* and *C. reticulata*, have on the behavior and to check for possible neuroprotective effect of Parkinson's disease with oil best result in the first experiment. After treatment with multijuga oil 800mg/Kg, for 23 days and subsequent analysis of the behavior in the open field, elevated plus maze and rota rod, it was found that *C. multijulga* oil decreased the interest of the animals in the exploratory function by the probable induction of sleep. The oil of *C. reticulata* 800mg/Kg, proved toxic after the third day of treatment. Work with the other concentrations of the oils and the second part of the research were unfeasible due to institutional problems involving the Biotério Central of the Universidade Federal do Amazonas, which was the provider of animals for the present study.

Keywords: Copaiba, Behavior, Neuroprotective Parkinson.

INTRODUÇÃO

1. - INTRODUÇÃO

Os produtos naturais são há muito tempo usados pela população tanto como alternativa de tratamento de diversas enfermidades, como para complementar o tratamento com drogas sintéticas. Um dos fatores que estimulam a população a fazer o uso de tais produtos como alternativa ou complemento para o tratamento de diferentes enfermidades é, principalmente, a crença de que as plantas medicinais não possuem efeitos colaterais. De acordo com SOUZA, et al. (2008), esta busca da população, motivou a indústria farmacêutica a investir em pesquisas em busca de novos fármacos e a ampliar pesquisas com o intuito de minimizar a carência de informações sobre plantas medicinais.

Na Amazônia, uma das plantas medicinais mais usadas é a copaíba. De acordo com o Index Kewensis, existem 72 espécies do gênero *Copaifera* e mais de 20 destas são encontradas no Brasil e Leandro (2012) apud Martins-da-Silva (2008) afirma que dentre estas, as mais abundantes são: *C. officinalis* L., *C. guianensis* Desf., *C. reticulata* Ducke, *C. multijuga* Hayne, *C. confertiflora* Bth., *C. langsdorffii* Desf., *C. coriácea* Mart. E *C. cearensis* Huber ex Ducke. Conhecidas como Copaibeira ou Pau d'óleo, são árvores altas, que podem alcançar até 40 metros de altura e viver cerca de 400 anos.

O óleo de copaíba é encontrado em canais secretores localizados em todas as partes da árvore. É um líquido transparente de coloração variável entre o amarelo e o marrom e para uso farmacológico os óleos preferidos são os escuros e mais viscosos (VEIGA-JUNIOR & PINTO, 2002). Popularmente, a copaíba é utilizada como antiinflamatório e cicatrizante, no entanto, de acordo com VEIGA-JUNIOR & PINTO (2002), o óleo de copaíba possui uma variada gama de propriedades farmacológicas descritas, tendo sido utilizado na indústria de perfumes, cosméticos, vernizes, e também tem seu potencial como biocombustível avaliado. Os autores afirmam também que apenas cinco espécies de copaíba têm sua composição química descrita na literatura, e dentre elas estão as espécies multijuga e reticulata,

encontradas na Amazônia. São 28 diterpenos descritos nos óleos estudados, pertencendo aos esqueletos caurano, labdano e clerodano, mas o ácido copálico é o único encontrado em todos os óleos já estudados, sendo este o biomarcador para o gênero *Copaífera*.

De todos os estudos registrados na literatura, raros são os que investigam as possíveis ações da copaíba no sistema nervoso central e sua expressão no comportamento. Um estudo de Curio e Jacone, et al. (2009), afirma que com a administração aguda do óleo da *Copaifera reticulata* em ratos, foi possível verificar, através de testes em labirinto de cruz elevado, um efeito ansiolítico similar ao gerado pelo medicamento diazepam. Outro estudo relacionando o efeito do óleo de copaíba no comportamento de ratos, foi realizado por Brito, et al. (1999) e chegou à conclusão de que o óleo de copaíba tem efeito irritante no comportamento dos roedores, no entanto, a espécie do gênero *Copaifera* utilizada não foi informada. Sachetti, et al. (2009) apud Brasile, et al. (1998), afirma que em avaliações do efeito anti-inflamatório do óleo de copaíba, foram observados alguns efeitos adversos, entre eles, a depressão do sistema nervoso central. Existem, portanto, indícios de efeito da copaíba no comportamento, no entanto esses estudos são limitados e investigações mais amplas são necessárias.

Segundo Brandão (2008), durante o comportamento emocional ocorrem vários eventos fisiológicos decorrentes da estimulação do sistema simpático, do sistema linfático, do eixo hipotálamo – hipófise - adrenal e a mobilização de vários hormônios e, portanto, o comportamento emocional influencia decisivamente no desempenho geral de um indivíduo. Esses eventos fisiológicos permitem que sejam registrados diversos sinais que servem como índice do estado emocional do indivíduo, através dos testes mais diversos, dentre eles o teste do campo aberto (open field), que consiste de uma arena circular dividida em 60 setores numerados, que permite verificar a atividade exploratória do animal, suas taxas de ambulação e permanência, comportamentos de ansiedade e de medo; e o labirinto em cruz elevado (elevated plus-maze), que consiste em dois braços abertos e dois fechados dispostos de forma

que os fechados se opõem aos abertos e tem como objetivo verificar a atividade exploratória e comportamentos de ansiedade dos animais no labirinto.

Ambos os exemplos anteriores constituem modelos animais, considerados os estudos experimentais mais amplamente utilizados para a análise de fenômenos comportamentais, neurobiológicos e fisiológicos. Embora a pesquisa com animais possa incluir estudos com primatas, peixes, felinos, cães, aves e outras espécies, o rato tem sido o animal preferido nas pesquisas há mais de um século. No entanto modelos animais são estudados pela perspectiva teórica aplicada sobre a investigação (McNAUGHTON e ZANGROSSI, 2008).

Pode parecer equivocado aplicar animais em pesquisa sobre emoções, característica exclusiva da subjetividade humana, no entanto, o desenvolvimento de modelos animais têm se mostrado eficaz para tal fim. Neste tipo de modelo, os animais são comumente expostos a estímulos externos (exteroceptivos) ou internos (interoceptivos) capazes de causar ansiedade em humanos, por exemplo, ou comportamentos defensivos em animais. Respostas produzidas por tais estímulos são interpretadas como análogas às emoções (LACERDA, 2006).

De modo geral, a ansiedade pode ser definida como um estado subjetivo de apreensão ou tensão, difuso ou vago, freqüentemente acompanhado por uma ou mais sensações físicas como aumento da pressão arterial, da freqüência cardíaca, da respiração, urgência de micção ou defecação, induzido pela expectativa de perigo, dor ou necessidade de um esforço especial. A inquietação e o desejo de movimentar-se são também comuns (BRANDÃO, 2008). De acordo com GRAEFF, et al. (1997), estudos sobre ansiedade revelam que esta tem suas raízes nas reações de medo dos animais - os substratos neurais das reações inatas de medo parecem estar diretamente relacionadas aos mecanismos de ansiedade. Esta última afirmação corrobora ainda mais para a validade do uso de modelos animais em pesquisas sobre emoções.

Com a descoberta do primeiro benzodiazepínico com grande eficácia em termos ansiolíticos, abriu-se uma nova área na pesquisa da ansiedade, pois a partir de então, os

modelos puderam ter uma melhor validação farmacológica, sendo os dois objetivos principais dos modelos animais: (1) avaliar os efeitos ansiolíticos e ansiogênicos de determinados compostos e discriminar suas propriedades, e então (2) identificar seus mecanismos de ação. (LACERDA, 2006).

Outro modelo animal bastante utilizado é o rotarod, que consiste de um sistema motorizado onde o animal é colocado em diferentes velocidades e não pode parar de correr para que não caia. Neste teste, avalia-se a coordenação motora, que está bastante associada ao cerebelo e a fatores cognitivos.

Levando em consideração que todos os modelos experimentais aqui citados examinam os comportamentos expressos, principalmente através da movimentação ou não dos animais, em todos é possível verificar não apenas características comportamentais dos sujeitos experimentais, mas também suas habilidades motoras e, portanto, podem ser eficientes na avaliação das manifestações da doença de Parkinson, que foi descrita pela primeira vez em 1917 como uma combinação de sintomas motores caracterizados por bradicinesia (lentidão dos movimentos), tremores e hipercinesia (rigidez dos movimentos).

De acordo com Cortez e Silva (2008), as estruturas cerebrais envolvidas no controle do tônus muscular, ajustes para iniciação e estabilização dos movimentos voluntários e processamento das informações proprioceptivas são os núcleos da base – núcleos localizados no centro da massa branca telencefálica e no diencéfalo. No entanto, apenas quatro dos núcleos se relacionam diretamente com o controle motor: o núcleo caudado, o putamen, o globo pálido e o núcleo subtalâmico, que juntamente com a substância negra, o núcleo rubro, os núcleos vestibulares e porções da formação reticular pontina e bulbar podem ser considerados os componentes do sistema extrapiramidal.

Lesões dos núcleos da base evidenciam, portanto, uma grande gama de disfunções motoras, constituindo o que os autores chamam de síndromes extrapiramidais, dentre elas, a doença de Parkinson.

Melo, Barbosa e Carmeli (2007) apud Barbosa, et al. (2006), descrevem o Parkinson como uma doença com manifestações motoras, segunda doença degenerativa mais comum em idosos, com prevalência estimada em 3,3% no Brasil. Melo, Barbosa e Carmeli, et al. (2007) afirmam que os sintomas e sinais motores do Parkinson são responsáveis por incapacidades físicas, psíquicas e neuropsiquiátricas com impacto considerável na vida dos pacientes.

A doença de Parkinson está associada a baixas concentrações de dopamina na substância negra, decorrente da destruição dos neurônios nigrais, o que leva à diminuição do trânsito desse neurotransmissor entre essa estrutura e os núcleos da base (Cortez e Silva, 2008). Segundo Melo, Barbosa e Carmeli, et al. (2007), a substância negra pars reticulata se torna pálida a olho nu e a perda de neurônios, apesar de seletiva, com a evolução da doença pode chegar a abranger também núcleos aminérgicos do tronco encefálico, o núcleo basal de Meynert, núcleos hipotalâmicos e bulbos olfatórios. A perda desses neurônios pode causar alterações cognitivas, como a demência.

O Ministério da Saúde, através da portaria SAS/MS nº 228, de 10 de maio de 2010, estabelece o “Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas da doença de Parkinson” onde estima que a taxa de morte dos neurônios dopaminérgicos da substância negra é de aproximadamente 10% ao ano, o que causa um agravamento da sintomatologia da doença. O objetivo desejado para o tratamento do Parkinson envolveria o tratamento sintomático e a redução ou interrupção da progressão da doença (neuroproteção).

Atualmente, o tratamento da sintomatologia da doença de Parkinson é realizado principalmente através do uso da levodopa, que é precursora da dopamina e é capaz de repor os níveis da mesma no estriado. No entanto, a síntese sistêmica da dopamina, causada pela

levodopa, leva a inúmeros efeitos colaterais e, por isso, deve ser associada a uma droga que bloqueie esses efeitos (Tumas, 2010).

De acordo com Cascon (2004), em todas as formas de aplicação do óleo de copaíba, o efeito anti-inflamatório é a principal ação e é atribuída a todas as espécies. No entanto, ao avaliar o potencial anti-inflamatório de óleo-resinas de *C. multijulga* Hayne, *C. cearenses* Huber e *C. reticulata* Ducke, Veiga Jr., et al. (2007) afirma que apesar de possuírem composição química parecida, seus potenciais são diferentes, sendo o efeito anti-inflamatório da *C. multijulga* Hayne o mais potente. Lima, et al. (2007) afirma que existem fortes evidências na literatura de que a inflamação do SNC está envolvida na patogênese de doenças como o Parkinson. Rodrigues e Campos (2006) afirmam que quando ocorrem os primeiros sintomas da doença, cerca de 20-40% dos neurônios dopaminérgicos da via nigroestriatal já foram degenerados e uma das possibilidades é a de que um estresse oxidativo induzido pela dopamina possa ser a base da vulnerabilidade dos neurônios dopaminérgicos. A partir desses estudos, podemos supor que os efeitos anti-inflamatórios da copaíba sejam eficientes nos processos neurodegenerativos envolvidos na doença de Parkinson. A própria inflamação por si, causa morte dos neurônios, tanto que, pacientes que sofreram traumas crânio-encefálicos (dependendo do grau) podem ser induzidos ao coma com a finalidade de proteger os neurônios das lesões causadas pela inflamação. Guimarães-Santos, et al. (2012) apud Paiva, et al. (2002) afirma também que há um claro efeito antioxidante do óleo resina de copaíba em concentrações específicas após lesão aguda do tecido periférico e que esta atividade foi indicativa para a testagem do fator de neuroproteção do óleo-resina do tronco da *C. reticulata* em caso de lesão aguda do córtex motor de ratos, estudo este, com resultados positivos.

A indução ao Parkinson pode ser realizada utilizando-se a rotenona, um agente químico usado na agricultura, que de acordo com Moreira (2008) apud Dreschel e Patel (2008), contribui para a morte de neurônios dopaminérgicos da substância nigra pars

compacta, muito pela indução do estresse oxidativo, podendo ser útil para o entendimento dos possíveis mecanismos de neurodegeneração relacionados à doença de Parkinson. É importante salientar que após a parada da administração da rotenona no animal, este se recupera dentro de alguns meses. Para a avaliação de possíveis efeitos do tratamento de Parkinson com o extrato proposto, os ratos serão induzidos, portanto, a um estado histopatológico semelhante ao da doença, através da administração de rotenona (MARTINS, et al., 2013).

Baseando-se nas informações coletadas na literatura sobre a eficiência dos três modelos animais aqui citados no estudo do comportamento e respostas emocionais, partindo do fato de que é escasso o número de publicações registrando os efeitos da copaíba neste âmbito e de que uma das propriedades medicinais mais estudadas do óleo de copaíba é sua ação anti-inflamatória, propõe-se esta pesquisa, que ocorrerá em duas partes: a primeira com o intuito de realizar um screening comportamental de duas espécies com ocorrência na Amazônia, através da utilização do campo aberto, do labirinto em cruz elevado e do aparelho de rotarod, para entender quais as possibilidades da ação do uso deste óleo sobre o sistema nervoso central e a expressão sobre o comportamento.

Sabe-se que é preciso no mínimo de 14 a 21 dias para que a neuroplasticidade se estabeleça em resposta a tolerância a qualquer droga psicoativa (ISBELL e cols, 1955 apud Kolb e Whishaw, 2002), portanto os animais receberão doses de óleo de copaíba, baseadas no estudo piloto de Curio e Jacone (2009), que sugeriram que a administração de doses de 100mg/Kg, 400mg/Kg e 800mg/kg teriam efeitos mais claros experimentalmente, durante o tempo máximo sugerido (21 dias). A segunda parte, uma proposta pioneira, com o intuito de investigar possíveis efeitos neuroprotetores do óleo que apresentar melhor resultado na primeira etapa ou, em caso de resultados similares, investigar o efeito neuroprotetor do óleo de *Copaifera multijuga*, já que de acordo com a literatura, este é o óleo com maior potencial anti-inflamatório.

OBJETIVOS

2. - OBJETIVOS

2.1. - Objetivos Gerais

Realizar um screening comportamental (Experimento I) da ação sobre o Sistema Nervoso do óleo de dois tipos de copaíba: *Copaifera multijuga* e *Copaifera reticulata*. Testar as atividades neuroprotetoras (Experimento II) do óleo de copaíba que melhor se sair no experimento I, a partir de análises comportamentais.

2.2. - Objetivos Específicos

- a.** Estudar as diversas respostas comportamentais de roedores após a administração de diferentes doses de dois tipos de óleo de copaíba (*multijuga* e *reticulata*) durante a exposição em três tipos de aparelhos de testes: campo aberto, labirinto em cruz e rota-rod;
- b.** Analisar comparativamente o grupo tratado com o grupo controle
- c.** Analisar o óleo de copaíba e dose de óleo com maior efeito no comportamento de roedores durante a exposição em três tipos de aparelhos de testes: campo aberto, labirinto em cruz e rota-rod;
- d.** Estudar o efeito do tratamento com óleo de copaíba em diferentes doses sobre as diversas respostas comportamentais de roedores induzidos ao Parkinson por rotenona e expostos a três tipos de aparelhos de testes: campo aberto, labirinto em cruz e rota-rod

EXPERIMENTO I - AVALIAÇÃO (SCREENING)
COMPORTAMENTAL

3. – EXPERIMENTO I – AVALIAÇÃO (SCREENING) COMPORTAMENTAL

3.1. - Materiais e Métodos

3.1.1. – Avaliação (Screening) Comportamental

3.1.1.1. - Animais

Foram utilizados 30 sujeitos experimentais (ratos *Wistar albinos*), machos (divididos em 3 grupos de 10 animais), pesando de 250 a 370g, procedentes do Biotério Central da UFAM, com biota desconhecida, os quais foram mantidos em gaiolas com três a quatro animais, sob ciclo claro/escuro natural e temperatura entre 23-24°C, sendo-lhes permitido livre acesso à comida e água durante todo o experimento.

3.1.1.2. - Óleos

Foram utilizados óleos de duas espécies de Copaíba: *Multijulga* e *Reticulata*, disponibilizados pelo Laboratório do Grupo de Pesquisas em Química de Biomoléculas da Amazônia (Q-Bioma), em grupos independentes de animais, administradas na dose de 800mg/kg, diariamente, por meio de gavagem, durante 23 dias. O veículo de solubilização utilizado, o óleo de milho, foi utilizado como controle.

3.1.1.3. – Procedimento

Os animais foram recebidos do biotério central e passaram por um descanso de 48 horas antes de qualquer procedimento. Depois os animais foram divididos em três grupos de

10 animais, sendo o Grupo 1, o grupo controle; o Grupo 2, de Copaíba *Multijulga* e o Grupo 3, de Copaíba *Reticulata*.

Os grupos receberam tratamento diário, através de gavagem (Grupo 1 com óleo de milho, Grupo 2 com Copaíba *Multijulga* e Grupo 3 com Copaíba *Reticulata*) realizada uma vez ao dia, sempre no mesmo período do dia, no período de 23 dias.

No vigésimo primeiro dia, os animais foram submetidos ao aparelho de teste comportamental de campo aberto, no dia seguinte labirinto em cruz e no terceiro dia, pelo rotarod, sempre por 10 minutos em cada aparelho em uma sala de coleta isolada acústicamente. Durante esse tempo, as respostas comportamentais (Tabelas 1, 2) de cada roedor foram registradas através de uma câmera digital do tipo webcam e posteriormente colhidas pela experimentadora.

Fezes e urina eram removidas após a permanência de cada animal, com o auxílio de papel filtro embebido em água. Ao final do experimento, a limpeza do aparelho era realizada, com o uso de papel filtro embebido em detergente, posteriormente com água e finalizando com álcool a 70%.

Tabela 1: Tabela demonstrando, na primeira coluna, os comportamentos analisados no aparelho de teste de campo aberto e, na segunda coluna, sua descrição.

| | |
|---------------------------------|---|
| Cruzamento | Quatro patas de um dos compartimentos quadrados do assoalho da arena a outro. |
| Levantamento | Apoio das patas anteriores nas amuradas da arena. |
| Ambulação | Quatro patas de um dos compartimentos circulares do assoalho da arena a outro |
| Alerta | Interrupção do comportamento em curso, com atenção voltada ao ansiogênico |
| Autolimpeza (<i>grooming</i>) | Lambadura das mãos e dos pêlos de todo o corpo. |
| Repouso | Ato de descansar com imobilidade corporal |

Tabela 2: Tabela demonstrando os comportamentos analisados no aparelho de labirinto em cruz

| |
|--|
| Tempo de latência na plataforma central |
| Tempo de permanência e número de entradas nos braços fechados (direito e esquerdo) |
| Tempo de permanência e número de entradas nos braços abertos (direito e esquerdo) |

3.1.1.4. - Análise Estatística

Foi utilizado o teste t de student para amostras independentes para comparação entre os grupos experimentais e controle, com nível de significância $p < 0,05$. Os resultados foram expressos em gráficos como média (\pm erro padrão da média).

3.2. – Resultados e Discussão

3.2.1. – Comportamentos do Open Field

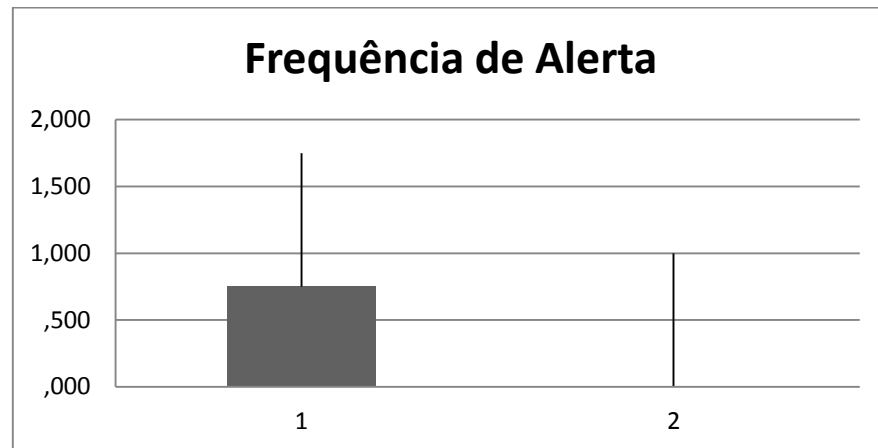
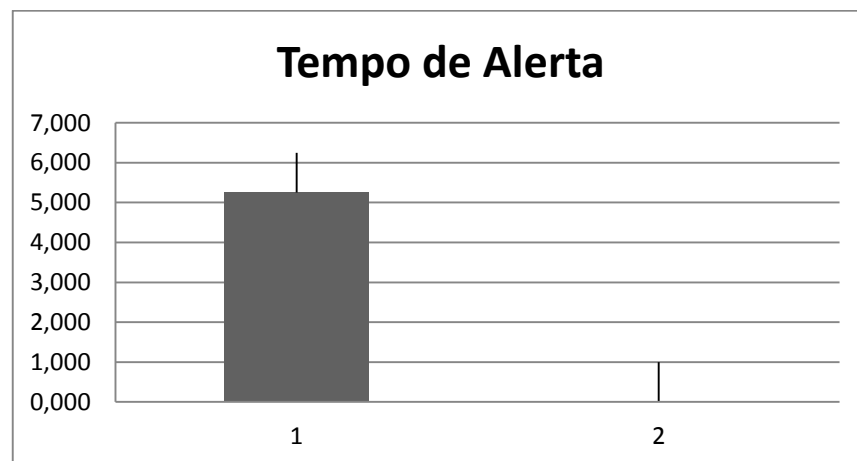
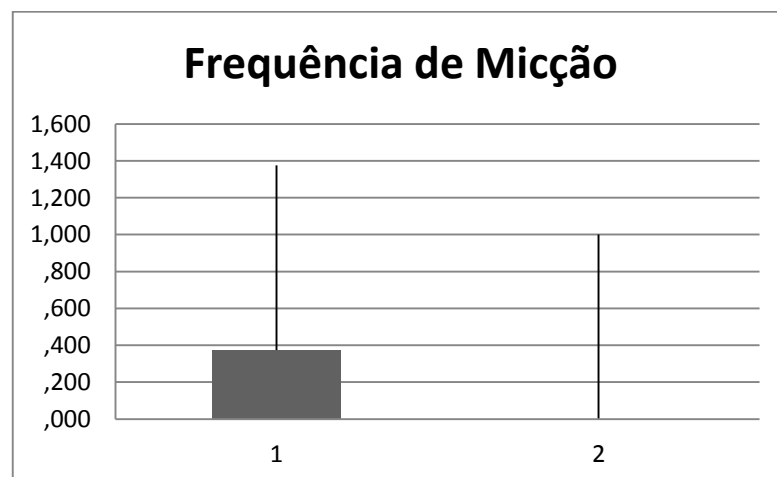
Através da análise estatística, não apreendeu-se grandes variações na maioria dos comportamentos entre os grupos (Tabela 3), verificando-se diferença significativa entre grupo controle (Grupo 1) e grupo de cobaíba *multijuga* (Grupo 2), apenas no comportamento de alerta e micção (tabelas 4, 5 e 6). Percebeu-se, no entanto, que o grupo tratado apresentou uma tendência a diminuir o número de cruzamentos no campo e aumentar o tempo de repouso, sem alterações significativas na ambulação.

O comportamento exploratório é a denominação da expressão comportamental da curiosidade que acontece de forma espontânea nos animais. A tendência a diminuir a

exploração do campo aberto e aumentar o repouso, nos indica uma possível capacidade do óleo de copaíba *multijulga* em induzir sonolência nos roedores.

Tabela 3: Estatística de Grupo para os comportamentos verificados no Open Field

| Estatísticas de grupo | | | | | |
|-----------------------|-----|---|--------|---------------|----------------------|
| GRUPO | | N | Média | Desvio padrão | Erro padrão da média |
| Ambulação | 1,0 | 8 | 15,125 | 6,6855 | 2,3637 |
| | 2,0 | 7 | 13,429 | 6,8034 | 2,5714 |
| Cruzamentos | 1,0 | 8 | 72,750 | 31,1024 | 10,9963 |
| | 2,0 | 7 | 54,429 | 16,3489 | 6,1793 |
| Levantamento | 1,0 | 8 | 18,125 | 8,8227 | 3,1193 |
| | 2,0 | 7 | 9,143 | 5,0803 | 1,9202 |
| Autolimpeza | 1,0 | 8 | 4,500 | 2,9761 | 1,0522 |
| | 2,0 | 7 | 4,286 | 1,4960 | ,5654 |
| TempodeAutolimpeza | 1,0 | 8 | 36,750 | 19,1889 | 6,7843 |
| | 2,0 | 7 | 28,857 | 35,3432 | 13,3585 |
| Defecação | 1,0 | 8 | 2,375 | 2,7742 | ,9808 |
| | 2,0 | 7 | 3,000 | 1,2910 | ,4880 |
| Micção | 1,0 | 8 | ,375 | ,5175 | ,1830 |
| | 2,0 | 7 | 0,000 | 0,0000 | 0,0000 |
| Repouso | 1,0 | 8 | ,875 | 1,2464 | ,4407 |
| | 2,0 | 7 | 2,714 | 1,7995 | ,6801 |
| TempodeRepouso | 1,0 | 8 | 39,750 | 82,8368 | 29,2872 |
| | 2,0 | 7 | 78,143 | 96,6461 | 36,5288 |
| Alerta | 1,0 | 8 | ,750 | 1,1650 | ,4119 |
| | 2,0 | 7 | 0,000 | 0,0000 | 0,0000 |
| TempodeAlerta | 1,0 | 8 | 5,250 | 12,5442 | 4,4350 |
| | 2,0 | 7 | 0,000 | 0,0000 | 0,0000 |

Tabela 4: Frequência de Alerta verificados no Open Field entre os Grupos 1 e 2**Tabela 5:** Tempo de Alerta verificados no Open Field entre os Grupos 1 e 2**Tabela 6:** Frequência de Micção verificados no Open Field entre os Grupos 1 e 2

3.2.2. – Comportamentos do Labirinto em Cruz

Verificou-se neste aparelho, que os animais do Grupo 2 apresentaram maior tendência a entrar e permanecer nos braços fechados, evitando a exploração de outras áreas do labirinto, confirmando a possibilidade de a cobaíba apresentar um efeito de diminuição da atividade exploratória em função de sonolência ocasionada no animal.

Tabela 7: Comportamentos verificados no Labirinto em Cruz dos Grupos 1 e 2.

| GRUPO | Animais | Tempo Total em Braço Aberto | Tempo Total em Braço Fechado | Tempo Total na PC | Nº De entradas no BFD | Nº De entradas no BAD | Nº De entradas no BFE | Nº De entradas no BAE |
|-------|---------|-----------------------------|------------------------------|-------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1 | r1 | 0 | 599 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 1 | r2 | 15 | 534 | 51 | 1 | 2 | 2 | 0 |
| 1 | r3 | 19 | 580 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 1 | r4 | 21 | 529 | 90 | 3 | 1 | 6 | 0 |
| 1 | r5 | 99 | 487 | 14 | 2 | 1 | 0 | 1 |
| 1 | r6 | 0 | 584 | 16 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | r7 | 38 | 414 | 148 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 1 | r8 | 51 | 467 | 82 | 3 | 0 | 2 | 0 |
| 2 | r9 | 0 | 599 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | r10 | 0 | 599 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 2 | r11 | 38 | 529 | 33 | 2 | 0 | 2 | 1 |
| 2 | r12 | 0 | 587 | 13 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | r13 | 0 | 544 | 56 | 2 | 0 | 3 | 0 |
| 2 | r14 | 0 | 576 | 24 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 2 | r15 | 0 | 589 | 11 | 0 | 0 | 2 | 0 |

3.2.3. – Comportamentos do Rota Rod

Neste aparelho, os animais do grupo tratado apresentaram o pior desempenho, verificando-se uma tendência maior à quedas, como é possível verificar na Tabela 8. No entanto, apreendeu-se que as quedas não tinham como causa qualquer dificuldade motora e sim, o cansaço dos animais após alguns minutos do teste.

Tabela 8: Número de Quedas dos animais durante o teste do Rota Rod

| GRUPO | ANIMAL | Total de Quedas |
|-------|--------|-----------------|
| 1 | r1 | 2 |
| 1 | r2 | 2 |
| 1 | r3 | 3 |
| 1 | r4 | 4 |
| 1 | r5 | 9 |
| 1 | r6 | 3 |
| 1 | r7 | 8 |
| 1 | r8 | 7 |
| 2 | r9 | 7 |
| 2 | r10 | 9 |
| 2 | r11 | 3 |
| 2 | r12 | 7 |
| 2 | r13 | 1 |
| 2 | r14 | 3 |
| 2 | r15 | 9 |

3.2.2. – Outras Considerações Acerca do Experimento

Com relação ao Grupo 3, referente aos animais tratados com Copaíba Multijuga a 800mg/Kg, verificou-se que após o terceiro dia de gavagem, 40% dos animais vieram a óbito e os demais apresentaram inchaço a aparência muito debilitada, com diminuição da ingestão de alimentos e água, apreendendo-se que tal óleo, na concentração administrado, teve efeito tóxico para os animais, sendo o experimento com tal grupo suspenso imediatamente.

Apesar de o projeto inicial prever outros grupos para a avaliação de diferentes concentrações dos óleos de copaíba, além de uma segunda parte, onde seria avaliado o possível efeito neuroprotetor de tais óleos, o Biotério Central da Universidade Federal do Amazonas teve dificuldades em disponibilizar os animais, de forma a atrasar o cronograma inicial desta pesquisa e posteriormente, impossibilita-la completamente, em função da interdição do setor citado e da proibição do uso de animais pela Universidade Federal do Amazonas.

4. – CONCLUSÃO

O tratamento com óleo de copaíba Copaíba Multijulga, na concentração de 800 mg/kg, dosada por 23 dias, demonstrou potencial para a diminuição da atividade exploratória de roedores em função de possível indução de sono nos ratos adultos, verificados nas respostas comportamentais dos três aparelhos teste utilizados: campo aberto, labirinto em cruz e rota rod.

O tratamento com óleo de Copaíba Reticulara, na concentração de 800mg/Kg, mostrou-se inviável, devido a constatação de sua toxicidade após o terceiro dia de gavagem com o referido óleo.

A potencialidade da copaíba de produzir efeitos no comportamento é um dado interessante e pouco estudado, sendo necessária a ampliação de pesquisas nesse sentido. Infelizmente, devido a atrasos na entrega dos animais pelo Biotério Central da Universidade do Amazonas, o cronograma da referida pesquisa foi prejudicado e sua execução impossibilitada devido a proibição do uso de animais pela Universidade Federal do Amazonas.

5. - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDIN, A. A. & HAMOUDA, H. E. (2008). Mechanism of the neuroprotective role of coenzyme Q10 with or without L-dopa in rotenone-induced parkinsonism. *Neuropharmacology*, 55(8), 1340-1346.
- ALAM, M; SCHMIDT W. J. (2004) L-DOPA reverses the hyperkinetic behaviour and rigidity in rotenone-treated rats. *Behav Brain Res* 153:439–446
- ALAM, M. e SCHMIDT, W. J "Rotenone destroys dopaminergic neurons and induces parkinsonian symptoms in rats." *Behavioural brain research* 136.1 (2002): 317-324.
- BLESA, J., S.; PHANI, V.; JACKSON-LEWIS e PRZEDBORSKI, S. (2012). "Classic and new animal of Parkinson's disease." *J Biomed Biotechnol* 2012: 845618.
- BRANDÃO, M. L. As Bases Biológicas do Comportamento: Introdução à neurociência. Livro eletrônico-CNPq www.cnpq.br. 244 páginas, 2008.
- BRITO, M.V.H.; OLIVEIRA, R.V.B.; MORAIS, M.R.; LAMEIRA, A.O.1999. Efeito do óleo de copaíba no comportamento de ratos. *Rev Paul Med*.13: 1, p.34-7.
- CAMARGOS A. C. R.; CÓPIO, F. C. Q; SOUSA, T. R. R, GOULART, F. O. Impacto da doença de Parkinson na qualidade de vida: uma revisão de literatura. *Rev Bras Fisioter*. 2004; 8(3): 267-72.
- CARDOSO, F. (1995). Tratamento da doença de Parkinson. *Arquivos de Neuropsiquiatria*, 53(1), 1-10.
- CARVALHO, A. C. B, et al. "Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil." *Rev Bras Farmacogn* 18.2 (2008): 314-9.
- CASCON, V. Copaíba - *Copaifera* spp. In: CARVALHO, J.C.T. *Fitoterápicos antiinflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas*. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004. 480p.
- CENCI, M. A. (2002) Transcription factors involved in the pathogenesis of L-DOPA-induced dyskinesia in a rat model of Parkinson's disease. *Amino Acids* 23:105–109
- CORTEZ, Célia Martins; SILVA, Dilson. *Fisiologia aplicada à Psicologia*, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- CUNHA, J. O.; GOMES, M. L. M.; MATTA, S. L. P. Avaliação biométrica reprodutiva de ratos wistar tratados com extrato aquoso de catuaba *Trichilia catigua*, XVI SIC, Fev-2007, *Biologia Geral*, UFV, pg 479, Viçosa-MG
- CURIO M, JACONE H, et al. (2009). Acute effect of *Copaifera reticulata* Ducke copaiba oil in rats tested in the elevated plus-maze: an ethological analysis. *J. Pharm. Pharmacol.* 61 (8): 1105-10.

FENG, X.Y, ZHU, M.; ZHANG, Q. Q, CHEN, Y. P, LI, W. W. Selective protection of nigral dopaminergic neurons by echinacoside in a rat model of Parkinson disease induced by rotenone. *J Chin Integr Med / Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*. 2012; 10(7): 777-783.

FLEMING, SHEILA M., et al. "Behavioral and immunohistochemical effects of chronic intravenous and subcutaneous infusions of varying doses of rotenone." *Experimental neurology* 187.2 (2004): 418-429.

GUIMARÃES-SANTOS, A., et al. "Copaiba oil-resin treatment is neuroprotective and reduces neutrophil recruitment and microglia activation after motor cortex excitotoxic injury." *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012; 2012: 918174.

GRAEFF, F.G.; CRUZ, A.P.M.; ZAGROSSI, H.; LANDEIRA-FERNANDEZ. J. Modelos Animais de Ansiedade: Implicações para a Seleção de Drogas Ansiolíticas. *Psicologia Teoria e Pesquisa*. 1997; 13, n.3: 269-278.

Index Kewensis, suppl. XX; Clarendon Press: Oxford, New York: Oxford University, 1996. 346p.

KOLB, B. & WISHAW, I. Q. *Neurociência do Comportamento*. (Maria Elisa Piemonte, trad.). São Paulo: Editora Manole, 2002.

LACERDA, G.F.M.L. *Ansiedade Em Modelos Animais: Efeito De Drogas Nas Dimensões Extraídas Da Análise Fatorial*. Tese de Mestrado. Não Publicada. Janeiro, 2006.

LEANDRO, L. M.; VARGAS, F. S.; BARBOSA, P. C. S.; NEVES, J. K. O.; SILVA, J. A.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera* spp.) oleoresins. *Molecules*, v.17, n. 4, p. 3866-3889, 2012. doi:10.3390/molecules17043866.

LIMA, Rafael Rodrigues et al. *Inflamação em doenças neurodegenerativas*. *Rev. Para. Med.*, Belém, v. 21, n. 2, jun. 2007.

MELO, L.; BARBOSA, E.; CARAMELLI, P. Declínio cognitivo e demência associados à Doença de Parkinson: características clínicas e tratamento. *Rev. Psiquiatria Clínica*, v. 34, n. 4, p. 176-183, 2007.

MELLO, J. R. B, FERNANDA B. M., e A. L. Toxicidade Pré-Clínica de Fitoterápico com *Anemopaegma mirandum*, *Cola nitida*, *Passiflora alata*, *Paullinia cupana*, *Ptychopetalum olacoides* e Tiamina." *Lat. Am. J. Pharm* 29.1 (2010): 57-63.

MOREIRA, C. G., Padronização do modelo animal de parkinsonismo induzido por infusão de rotenona na substância negra pars compacta. Domínio público. Curitiba, 2008.

PANOV, A., et al. "Rotenone Model of Parkinson Disease MULTIPLE BRAIN MITOCHONDRIA DYSFUNCTIONS AFTER SHORT TERM SYSTEMIC ROTENONE INTOXICATION." *Journal of Biological Chemistry* 280.51 (2005): 42026-42035.

PEIXINHO, A; AZEVEDO, A. L; SIMÕES, R. M. Alterações neuropsiquiátricas da doença de Parkinson. *Rev. do Serviço de Psiquiatria do Hospital Fernando Fonseca*. 2006; 3(2):12-30

POMPL, P. N., et al. "A therapeutic role for cyclooxygenase-2 inhibitors in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis." *The FASEB Journal* 17.6 (2003): 725-727.

ROBERT, J.; HAMM, BRIAN R. PIKE, DIANNE M. O'DELL, BRUCE G. LYETH, and LARRY W. JENKINS. *Journal of Neurotrauma*. April 1994, 11(2): 187-196.
doi:10.1089/neu.1994.11.187.

SACHETTI, Camile Giaretta et al. Avaliação da toxicidade aguda e potencial neurotóxico do óleo-resina de copaíba (*Copaifera reticulata* Ducke, Fabaceae). *Revista brasileira de farmacognosia*, João Pessoa, v. 19, n. 4, p. 937-941, out./dez. 2009.

SHERER, TODD B., et al. "Mechanism of toxicity in rotenone models of Parkinson's disease." *The Journal of neuroscience* 23.34 (2003): 10756-10764.

TEIVE HA G. O papel de Charcot na doença de Parkinson. *Arq Neuropsiquiatr* 1998;56:141-145.

TUMAS, V. Curso de Neurologia. Ribeirão Preto: USP, 2010. [Apostila].

UVERSKY, VLADIMIR N. "Neurotoxicant-induced animal models of Parkinson's disease: understanding the role of rotenone, maneb and paraquat in neurodegeneration." *Cell and tissue research* 318.1 (2004): 225-241.

SOUSA, F. C. F.; MELO, C.T. V.; CITÓ, M. C. O.; FÉLIX F. H. C.; VASCONCELOS S. M. M.; FONTELES M. M. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; VIANA, G. S. B., 2008. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. *Rev Bras Farmacogn* 18: 642-654.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O Gênero *Copaifera*. *Química Nova*, v. 25, n. 2, p. 273, 2002.

VEIGA JUNIOR, V. F. et al. Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne: a comparative study. *J Ethnopharmacol* 2007; 112: 248-254.