

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Avaliação do envolvimento do sistema monoaminérgico na atividade
antidepressiva de um extrato obtido por dióxido de carbono supercrítico de
Valeriana glechomifolia Meyer**

LIZ GIRARDI MÜLLER

PORTO ALEGRE, 2011.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Avaliação do envolvimento do sistema monoaminérgico na atividade antidepressiva de um extrato obtido por dióxido de carbono supercrítico de *Valeriana glechomifolia* Meyer

Dissertação apresentada por **Liz Girardi Müller** para obtenção do grau de MESTRE em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Profa. Dr. Stela Maris Kuze Rates

Co-orientador: Profa. Dr. Gilsane Lino von Poser

Porto Alegre, 2011.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado, da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 30.09.2011, pela Banca Examinadora constituída por:

Profa. Dr. Amélia T. Henriques
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dr. Carla Dalmaz
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dr. Sâmia R. Lourenço Joca
Universidade de São Paulo

arrumar

CIP - Catalogação na Publicação

Müller, Liz Girardi
Avaliação do envolvimento do sistema monoaminérgico na atividade antidepressiva de um extrato obtido por dióxido de carbono supercrítico de Valeriana glechomifolia Meyer / Liz Girardi Müller. -- 2011.
110 f.

Orientadora: Stela Maris Kuze Rates.
Coorientadora: Gilsane Lino von Poser.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2011.

1. Valeriana glechomifolia. 2. valepotriatos. 3. antidepressivo. I. Rates, Stela Maris Kuze, orient. II. von Poser, Gilsane Lino, coorient. III. Título.

Agradecimentos à CAPES, órgão que financiou a bolsa de estudos para o desenvolvimento deste trabalho, e aos Laboratórios de Psicofarmacologia Experimental (UFRGS), Laboratório de Farmacognosia (UFRGS) e Laboratório de Operações Unitárias (PUCRS) que disponibilizaram todos equipamentos e materiais necessários na elaboração da presente dissertação.

*Aos meus pais, Roberto e Elizabeth
(in memoriam), com amor.*

AGRADECIMENTOS

À Stela, pela oportunidade, pelo exemplo que representa para mim, pelo grande incentivo que me deu, às vezes até sem saber, por ter entendido e me apoiado nos momentos difíceis pelos quais passei.

À Gil, pela oportunidade, pelos ensinamentos, pelas boas conversas e ideias trocadas, por ter contribuído para meu crescimento profissional e pessoal.

Às minhas colegas e amigas do laboratório de Psicofarmacologia Experimental: Ana Cristina, Alice, Andresa, Andressa, Camila, Eveline, Fernanda, Luisa, Milene e Vivian, pela boa convivência, carinho, amizade, ajuda nos experimentos e em todo e qualquer assunto que precisasse, e, além disso, pela boa acolhida quando cheguei ao laboratório e ainda era desconhecida.

Aos colegas do laboratório de Farmacognosia: Gabriela, Flávia, Maikon, Simone, Satchie, Paula, pela ajuda e disposição de sempre.

À Marilise Bürger, minha orientadora durante a iniciação científica na UFSM e responsável pela minha paixão pela pesquisa, por todo o incentivo e compreensão.

À minha tia Rosane, a tia dos sonhos! Pelas conversas tão reconfortantes, por estar sempre disposta a ajudar e ser tão especial para nossa família.

Ao meu pai, Roberto, e minha irmã, Bruna, meus incentivadores, amigos e companheiros de todas as horas. O amor que nos une é a minha fortaleza. Obrigada pela torcida de sempre.

À minha mãe, Elizabeth, pelo amor, apoio e por todos os momentos que vivemos juntas. Mesmo que não fisicamente, sempre estará perto de mim e no meu coração.

Ao Lucas, pelo amor que temos um pelo outro, pelo carinho, cumplicidade, companheirismo e compreensão. Por ser a minha metade, motivo de muitos sorrisos diários, e por dar-me a força que precisava para passar por tudo e chegar até aqui.

“Nada na vida deve ser temido, somente compreendido. Agora é hora de compreender mais, para temer menos.”

Marie Curie

RESUMO

Espécies do gênero *Valeriana* são tradicionalmente utilizadas no tratamento de insônia e ansiedade. Valepotriatos constituem um importante grupo de metabólitos do gênero que contribui para os efeitos farmacológicos. Trabalhos recentes demonstraram a atividade do tipo antidepressiva de diversas espécies de *Valeriana*, como *V. glechomifolia*, nativa do Rio Grande Sul, o que representa uma nova abordagem para o emprego terapêutico do gênero. **Objetivos:** Investigar o envolvimento da neurotransmissão monoaminérgica na atividade antidepressiva de um extrato de *V. glechomifolia* obtido por dióxido de carbono supercrítico (SCCO₂) e avaliar a influência do tempo e condições de armazenamento no teor de valepotriatos diênicos. **Materiais e Métodos:** Partes aéreas e subterrâneas de *V. glechomifolia* foram submetidas a SCCO₂ e o extrato obtido foi armazenado (a -20°C) seco ou solubilizado em metanol. As concentrações de valepotriatos diênicos foram determinadas, durante 8 meses, através de cromatografia líquida de alta eficiência. A atividade do tipo antidepressiva foi avaliada em camundongos no teste da suspensão pela cauda (TSC) e da natação forçada (TNF). Para a investigação do envolvimento do sistema monoaminérgico, antagonistas de receptores de monoaminas e um inibidor da síntese de serotonina foram administrados. A interação do extrato com antidepressivos convencionais foi avaliada no TNF através da co-administração de doses sub-efetivas. **Resultados e Conclusões:** *V. glechomifolia* reduziu a imobilidade dos animais no TSC e TNF, confirmando o potencial antidepressivo. O efeito foi mediado pelos sistemas neurotransmissores noradrenérgico (receptor α_2) e dopaminérgico (receptores D1 e D2), o que representa uma ação dual diferenciada. *V. glechomifolia* potencializou o efeito de imipramina, desipramina e bupropiona no TNF. Em ambas as condições de armazenamento do extrato, observaram-se conversão molecular de valepotriatos diênicos em valtrato. Houve formação de produtos de degradação somente quando o extrato foi armazenado em metanol.

Palavras-chave: *Valeriana glechomifolia*, valepotriatos, extração por fluido supercrítico, atividade do tipo antidepressiva.

ABSTRACT

Evaluation of the monoaminergic system involvement in the antidepressant-like effect of a supercritical carbon dioxide *Valeriana glechomifolia* Meyer extract

Species of the genus *Valeriana* are traditionally used to treat sleep disorders and anxiety. Valepotriates represent an important group of metabolites that contribute to the pharmacological properties of the genus. Studies have demonstrated the antidepressant-like activity of *Valeriana* species, like *V. glechomifolia*, a south Brazil native species, representing a new approach to the therapeutic use of the genus. **Objectives:** To further investigate the antidepressant-like activity of a *V. glechomifolia* supercritical carbon dioxide (SCCO₂) extract as well as to evaluate the influence of time and storage conditions on diene valepotriates content of this extract. **Material and Methods:** Aerial and subterranean parts of *V. glechomifolia* were submitted to SCCO₂ and the extract was stored (at -20 °C) dry or in methanol. Diene valepotriates concentrations were determined through 8 months by high efficiency liquid chromatography. The antidepressant-like activity was evaluated in mice forced swimming test (FST) or tail suspension test (TST). To investigate the involvement of the monoaminergic system in this effect, different groups of mice were pre-treated with monoamine receptors antagonists or an inhibitor of serotonin synthesis. The interaction of the extract with antidepressants was evaluated in the FST by mice co-administration of sub-effective doses. **Results and Conclusions:** *V. glechomifolia* was active in the FST and TST, confirming its antidepressant-like effect, which was impaired by adrenergic (α 2) and dopaminergic D1 and D2 antagonists, representing a distinct dual action. *V. glechomifolia* potentiated the antidepressant-like effect of imipramine, desipramine and bupropione in the FST. In both conditions of extract storage, a molecular interconversion of diene valepotriates into valtrate was observed. Degradation products formation occurred only when the extract was stored in methanol. **Keywords:** *Valeriana glechomifolia*, valepotriates, antidepressant-like activity, supercritical extraction.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	7
3. Parte experimental e resultados.....	9
3.1 Manuscrito I: The effect of storage time and conditions on the diene valepotriates content of the extract of <i>Valeriana glechomifolia</i> obtained by supercritical carbon dioxide – Publicado no periódico <i>Phytochemical Analysis</i> (DOI 10.1002/pca.1346).....	11
3.2 Manuscrito II: Antidepressant-like effect of <i>Valeriana glechomifolia</i> Meyer (Valerianaceae) in mice – Publicado no periódico <i>Progress in Neuro- Psychopharmacology and Biological Psychiatry</i> (DOI 10.1016/j.pnpbp.2011.08.015).....	33
4. Discussão geral.....	73
5. Conclusões.....	79
6. Referências.....	81
7. Anexos.....	91

1. INTRODUÇÃO

A depressão, juntamente com outros distúrbios do humor, apresenta prevalência mundial de aproximadamente 18%, sendo considerada uma das doenças mentais mais incapacitantes e dispendiosas (TAMMINGA *et al.*, 2002; MOUSSAVI *et al.*, 2007). A Organização Mundial da Saúde estima que a depressão afete, atualmente, 121 milhões de pessoas e que, no ano de 2020, a mesma representará um dos principais distúrbios responsáveis por tempo de vida perdido, seja por morte prematura ou por incapacidade (OMS, 2011). Muitos medicamentos antidepressivos estão disponíveis na terapêutica, embora menos de 25 % das pessoas tenham acesso ao tratamento. Além disso, 30 a 35 % dos pacientes deprimidos não apresentam boa resposta e a maioria dos medicamentos possui efeitos adversos importantes, que limitam a adesão ao tratamento (OLESEN *et al.*, 2007; OMS, 2011). Assim, a busca de novos medicamentos antidepressivos é ainda uma necessidade.

Nesse contexto, a pesquisa de produtos naturais com ação central se insere como uma alternativa para o desenvolvimento de fármacos com mecanismos de ação possivelmente diferenciados (WANG *et al.*, 2008). A diversidade química das moléculas de origem natural e a pressão dos mecanismos de seleção biológica determinam uma alta probabilidade de moléculas bioativas com mecanismos inovadores e os produtos naturais permanecem ainda como uma fonte de grande interesse para obtenção de novos modelos moleculares bioativos (GOTTLIEB *et al.*, 1996; NEWMAN, 2008).

Entre as espécies vegetais com ação no sistema nervoso central, as pertencentes ao gênero *Valeriana* encontram-se entre as mais estudadas, principalmente no que diz respeito à ação sedativa e ansiolítica (KRYSTAL e RESSLER, 2001). O gênero *Valeriana* (família Valerianaceae) compreende de 300 a 400 espécies (BACKLUND e MORITZ, 1998). Das 17 descritas no Brasil, 12 ocorrem no Rio Grande do Sul: *Valeriana bornmuelleri* Briq., *V. catharinensis* Graebn., *V. chamaedryfolia* Cham. & Schldl, *V. eichleriana* (C.A.Mull.) Graebn., *V. eupatoria* Sobral, *V. glechomifolia* Meyer, *V. polystachya* Smith, *V.*

salicariifolia Vahl., *V. scandens* L., *V. reitziana* Borsini, *V. tajuvensis* Sobral e *V. ulei* Graebn (SOBRAL, 1999a, 1999b).

Diversos estudos têm sido direcionados aos efeitos farmacológicos dos extratos de *Valeriana* e seus constituintes isolados (BOS *et al.*, 1997). A espécie *V. officinalis* é uma das plantas medicinais mais utilizadas em todo o mundo (BLUMENTHAL, 2003; GUTIERREZ *et al.*, 2004). A Organização Mundial da Saúde considera que as preparações farmacêuticas obtidas a partir de *V. officinalis* podem ser utilizadas como alternativa aos benzodiazepínicos (WHO, 1999). Na produção de fitoterápicos, *V. officinalis*, *V. wallichii* e *V. edulis* são as espécies mais empregadas (FUGG-BERMAN e COTT, 1999; HERRERA-ARELLANO *et al.*, 2001). Muitos estudos apontam para o envolvimento da neurotransmissão GABAérgica na atividade desta planta. Embora seu mecanismo de ação não esteja plenamente esclarecido, é relatado que *V. officinalis* ativa receptores GABA_A (MENNINI *et al.*, 1993; CAVADAS *et al.*, 1995; ORTIZ *et al.*, 2004). Também parece diminuir o metabolismo cerebral do ácido gama aminobutírico (GABA) (HOUGHTON, 1999). DIETZ e colaboradores (2005) demonstraram que diferentes extratos de *V. officinalis* e o ácido valerênico parecem também ter efeito agonista parcial sobre receptores serotoninérgicos.

A maioria dos dados farmacológicos relacionados às espécies de *Valeriana* refere-se à ação sedativa das mesmas. Porém, HATTESOHL e colaboradores (2008) demonstraram que a administração repetida de preparações comerciais de *V. officinalis* (padronizadas em ácidos valerênicos e livres de valepotriatos) apresenta, além da atividade ansiolítica, propriedade do tipo antidepressiva. Recentemente, foi demonstrada a atividade do tipo antidepressiva de *V. prionophylla* (HOLZMANN *et al.*, 2011) e *V. wallichii* (SUBHAN *et al.*, 2010; SAH *et al.*, 2011) no teste da natação forçada em camundongos e ratos tratados agudamente pela via oral. Além disso, a eficácia clínica dessas espécies no tratamento da depressão já foi demonstrada (BHATTACHARYYA *et al.*, 2007).

Ainda não há um consenso no meio científico quanto aos constituintes responsáveis pela ação sedativa das espécies de *Valeriana*. Sesquiterpenos, ácido valerênico e derivados parecem contribuir para os efeitos apresentados pelas espécies. O papel dos valepotriatos, porém, é bastante controverso.

Valepotriatos são iridóides carbocíclicos, cujo núcleo principal está demonstrado na Figura 1, que apresentam um esqueleto ciclopentanodiidropirano, um anel epóxi e três ligações ésteres, sem ligações glicosídicas. Suas variações estruturais devem-se aos diferentes substituintes ácidos esterificados com os grupos hidroxila, à presença ou ausência de um grupo epóxido e ao número e posição das ligações duplas no núcleo principal (HOBBS, 1989). Dividem-se em dois grupos principais: monoênicos e diênicos. Os valepotriatos diênicos apresentam uma ligação dupla entre C5 e C6, e os mais frequentes em espécies de *Valeriana* são valtrato, isoaltrato, dialtrato, acealtrato e 1-β-acealtrato, enquanto que os monoênicos são diidroaltrato e homodihidroaltrato (DOSSAJI e BECKER, 1981; BECKER *et al.*, 1983; FOERSTER *et al.*, 1984; HÖLZL e KOCH, 1985; BACH *et al.* 1993; TANG *et al.*, 2002). Esses componentes são restritos à família Valerianaceae e apresentam características estruturais não encontradas em outros iridóides (HOBBS, 1989).

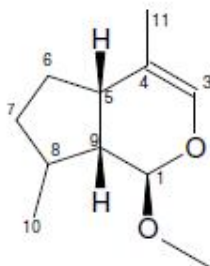


Figura 1. Estrutura geral de um iridóide carbocíclico.

Estes compostos são altamente instáveis. Sob influência de calor, umidade e acidez, decompõem-se rapidamente produzindo ácidos livres e núcleos monoterpênicos. Desta instabilidade surgem os produtos de degradação, principalmente baldrinais (HOUGHTON, 1988; HOBBS, 1989). Além disso, até

mesmo quando baldrinais não são formados, há a liberação gradual de ácido isovalérico (responsável pelo odor característico das espécies de *Valeriana*) do núcleo iridóide dessas moléculas (BOS *et al.*, 1996).

Dentre as espécies de do gênero *Valeriana* que ocorrem no Rio Grande do Sul, *V. glechomifolia* é apontada como a que apresenta os teores mais elevados de valepotriatos (2,05 %), sendo o caule o órgão de maior acúmulo (SILVA, 2001). MAURMANN e colaboradores (2009) demonstraram que a administração intraperitoneal aguda de uma fração enriquecida em valepotriatos do extrato de *V. glechomifolia* apresenta propriedades sedativa e ansiolítica e, além disso, prejudica a memória de reconhecimento em camundongos, achado este que está acordo com HOUGHTON (1988) que demonstrou o efeito sedativo de uma mistura de valepotriatos administrada por via oral em ratos. Além disso, ANDREATINI e colaboradores (1994) demonstraram que o efeito ansiogênico desenvolvido pela retirada de benzodiazepínicos é atenuado por uma mistura de valepotriatos em ratos na dose de 12 mg/kg.

Valeriana glechomifolia foi estudada por SALLES (2010) em uma tese de doutorado desenvolvida neste Programa de Pós Graduação, apresentando resultados promissores em relação à atividade do tipo antidepressiva do extrato obtido por dióxido de carbono supercrítico (SCCO₂) e padronizado em valepotriatos, sem alterações na atividade locomotora dos animais. BETTERO (2011) demonstrou que os valepotriatos inibem a atividade da enzima Na⁺K⁺ATPase de homogenatos de rins (na concentração de 20-24 μM) e hemisférios cerebrais de ratos (na concentração de 13-44 μM). Dados da literatura demonstram que a atividade da Na⁺K⁺ATPase cerebral pode estar envolvida na patogenia de desordens mentais (NESHER *et al.*, 2007). A inibição da enzima pela ouabaína diminui a recaptação de noradrenalina (VATTA *et al.*, 2004), dopamina e serotonina (STEFFENS e FEUERSTEIN, 2004) e aumenta a liberação de acetilcolina (BLASI *et al.*, 1988). Da mesma forma, outros autores já demonstraram relação entre redução na atividade enzimática e depressão maior (ZANATTA *et al.*, 2001; VASCONCELLOS *et al.*, 2005).

Assim, a investigação da ação dos valepotriatos sobre modelos animais de depressão é uma nova perspectiva para o estudo da atividade farmacológica destas moléculas, bem como seu potencial terapêutico.

2. OBJETIVOS

Os objetivos do presente estudo foram investigar a atividade antidepressiva do extrato das partes aéreas e subterrâneas de *V. glechomifolia* obtido por SCCO₂ e enriquecido em valepotriatos, através do aprofundamento da avaliação do efeito em modelos animais preditivos de ação antidepressiva e da ação sobre a neurotransmissão monoaminérgica, bem como avaliar a influência do tempo e condições de armazenamento no teor de valepotriatos desse extrato.

3. PARTE EXPERIMENTAL E RESULTADOS

A parte experimental e os resultados desta Dissertação estão apresentados nos manuscritos encartados a seguir:

3.1 **“The effect of storage time and conditions on the diene valepotriates content of the extract of *Valeriana glechomifolia* obtained by supercritical carbon dioxide”** publicado no periódico *Phytochemical Analysis* – JCR 1,848 (DOI 10.1002/pca.1346).

3.2 **“Antidepressant-like effect of *Valeriana glechomifolia* Meyer (Valerianaceae) in mice”**, publicado no periódico *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* - JCR 2,877 (DOI 10.1016/j.pnpbp.2011.08.015).

3.1 MANUSCRITO I

“The effect of storage time and conditions on the diene valepotriates content of the extract of *Valeriana glechomifolia* obtained by supercritical carbon dioxide”

Publicado no periódico *Phytochemical Analysis* – JCR 1,848 (DOI 10.1002/pca.1346).

Carta de aceite do manuscrito:

Preview

From: y.choi@chem.leidenuniv.nl
To: gilsane.von@ufrgs.br
CC:
Subject: PCA-11-0036.R1 - Decision

Body:
Dear Dr. von Poser

I am pleased to be able to inform you that the paper you submitted to Phytochemical Analysis (PCA), as indicated above, has been recommended for acceptance by the referees in its original version.

Your manuscript will be edited according to PCA format and house-style, and transmitted to the publishers (Wiley & Sons, Chichester, UK) for copy-editing and proofing. The proofs will be sent to you (as pdf files) directly by the printers according to their work schedule.

Should any problems occur during the processing of your paper, I will contact you by e-mail - so please do keep me updated of any change in your e-mail address.

Thank you for your support of Phytochemical Analysis: we look forward to receiving your next submission.

A signed copyright transfer agreement is needed for publication. If you have not already provided us with one you can access the copyright transfer agreement at: <http://media.wiley.com/assets/1540/95/ctapsglobal.pdf>

To enable the publisher to disseminate the author's work to the fullest extent, the author must sign a Copyright Transfer Agreement, transferring the copyright of the article from the author to the publisher.

If you have not yet uploaded a CTA, please ensure that you have identified the form with the manuscript ID number; scan your signed CTA and e-mail to pcaproofs@wiley.com stating the manuscript ID number in the subject line of the e-mail.

Please note that this does not take away your rights to reuse your own article after publication, and that if the copyright belongs to your employing institution, they should sign the form instead of you.

If you have already provided us with the signed form, you do not need to do anything at this stage. You will be contacted by our typesetters/copyeditors shortly.

With best regards,

Dr. YOUNG HAE CHOI

[E-Mail reference DL-RW-11]

Date Sent:
08-Jun-2011

As páginas 13 a 31 desta dissertação referem-se ao artigo “*The effect of storage time and conditions on the diene valepotriates content of the extract of Valeriana glechomifolia obtained by supercritical carbon dioxide*”, publicado no periódico *Phytochemical Analysis* (DOI 10.1002/pca.1346).

Neste trabalho, a concentração de valepotriatos diênicos de um extrato das partes aéreas e subterrâneas de *V. glechomifolia* obtido por dióxido de carbono supercrítico armazenado (a -20 °C) em atmosfera de nitrogênio ou em metanol foi monitorada por 8 meses. Foram observadas alterações na constituição química do extrato que, possivelmente, são causadas pela liberação de ácido isovalérico do núcleo iridóide dos valepotriatos. Em metanol, as alterações foram retardadas, embora nessa condição ocorra a formação de produtos de degradação, provavelmente baldrinais.

3.2 MANUSCRITO II

“Antidepressant-like effect of *Valeriana glechomifolia* Meyer (Valerianaceae) in mice”

Publicado no periódico *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* - JCR 2,877 (DOI 10.1016/j.pnpbp.2011.08.015).

Carta de aceite do manuscrito:

Date: Aug 18, 2011

To: "stela maris kuze rates" stela.rates@ufrgs.br

From: "Progress in NP & BP" pnpbp@neurosciences.ulaval.ca

Subject: Your Submission

Ms. Ref. No.: PNP-D-11-00220R1

Title: Antidepressant-like effect of Valeriana glechomifolia Meyer (Valerianaceae) in mice.
Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry

Dear Dr. stela maris kuze rates,

I am pleased to confirm that your paper "Antidepressant-like effect of Valeriana glechomifolia Meyer (Valerianaceae) in mice." has been accepted for publication in Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry.

Thank you for submitting your work to this journal.

Please proceed to the following link to update your personal classifications and keywords, if necessary:

With kind regards,

Guy Drolet
Editor-in-Chief
Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry

For further assistance, please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com> Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EES via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.

As páginas 35 a 70 desta dissertação referem-se ao artigo “*Antidepressant-like effect of Valeriana glechomifolia Meyer (Valerianaceae) in mice*”, publicado no periódico *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* (DOI 10.1016/j.pnpbp.2011.08.015).

Neste trabalho, foi demonstrada a atividade do tipo antidepressiva de um extrato das partes aéreas e subterrâneas de *V. glechomifolia* Meyer obtido por dióxido de carbono supercrítico enriquecido em valepotriatos em modelos preditivos de ação antidepressiva: teste da natação forçada e teste da suspensão pela cauda em camundongos. Através de antagonismos farmacológicos observou-se o envolvimento dos sistemas neurotransmissores noradrenérgico (receptor α_2) e dopaminérgico (receptores D1 e D2) no modo de ação do extrato. A administração combinada de doses sub-efetivas do extrato com imipramina, desipramina e bupropiona foi capaz de reduzir significativamente o tempo de imobilidade dos camundongos no teste da natação forçada. Esses resultados evidenciam o potencial antidepressivo de *V. glechomifolia* e dos valepotriatos, que apresentam uma ação dual diferenciada quando comparados aos antidepressivos convencionais.

4. DISCUSSÃO GERAL

No presente estudo, foi demonstrado o efeito antidepressivo de um extrato das partes aéreas e subterrâneas de *V. glechomifolia*, obtido por SCCO₂, em dois modelos roedores preditivos de ação antidepressiva, confirmando resultados preliminares obtidos por SALLES (2010). Além disso, foi observado que o extrato apresenta um mecanismo de ação mediado principalmente pelos sistemas neurotransmissores dopaminérgico e noradrenérgico, o que representa uma ação dual diferenciada, quando comparada aos antidepressivos convencionais. Os achados deste trabalho estão em consonância com o estudo realizado por SAH e colaboradores (2011), os quais recentemente demonstraram que a atividade do tipo antidepressiva de um extrato diclorometano de *V. wallichii* enriquecido em valepotriatos é dependente principalmente das neurotransmissões dopaminérgica e noradrenérgica.

Esse mecanismo representa um alvo de estudo promissor para o tratamento da depressão, visto que pode significar uma alternativa para pacientes resistentes ao tratamento com inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRSs). Dados da literatura demonstram que uma pequena parte dos pacientes com transtornos depressivos alcança a remissão através do tratamento com ISRSs (RUHÉ *et al.*, 2006) pelo fato de necessitarem de fármacos que apresentam um efeito dopaminérgico mais pronunciado (DUNLOP e NEMEROFF, 2007). Além disso, alguns autores sugerem que fármacos com ação noradrenérgica são mais eficazes no tratamento da depressão grave do que aqueles que atuam exclusivamente sobre a neurotransmissão serotoninérgica (BRUNELLO *et al.*, 2002; DELL'OSSO *et al.*, 2010). Atualmente, a bupropiona é o principal antidepressivo com ação dual que atua sobre os sistemas neurotransmissores noradrenérgico e dopaminérgico e tem demonstrado resultados satisfatórios no tratamento de pacientes para os quais a ação exclusiva sobre o sistema serotoninérgico não é suficiente (BAUMANN, 2007). Além disso, antidepressivos com ação dopaminérgica têm sido considerados uma alternativa promissora para o tratamento de sintomas da depressão em pacientes acometidos pela doença de Parkinson (MC DONALD *et al.*, 2003; VEAZEY *et al.*, 2005). As vias dopaminérgicas são predominantemente afetadas nessa doença

(BRAAK e BRAAK, 2000) e existem evidências sugerindo que fármacos com efeitos sobre a neurotransmissão dopaminérgica são eficazes na melhora dos sintomas motores e não-motores (como a depressão) observados na doença de Parkinson (LEMKE *et al.*, 2006).

A administração combinada de doses sub-efetivas do extrato de *V. glechomifolia* com subdoses de imipramina, desipramina e bupropiona reduziram o tempo de imobilidade de camundongos no TNF, o que não foi observado após a co-administração do extrato com fluoxetina. Esses resultados corroboram com a hipótese de que a neurotransmissão serotoninérgica não está diretamente envolvida no modo de ação do extrato. A farmacoterapia combinada tem sido frequentemente utilizada em pacientes deprimidos que não atingem a remissão dos sintomas com tratamentos convencionais (LAM *et al.*, 2002). Além disso, a combinação de antidepressivos representa uma possibilidade de melhorar a farmacoterapia e viabilizar a diminuição das doses dos antidepressivos prescritos e, em consequência, dos efeitos adversos que são frequentemente relacionados para esses fármacos (FAVA e RUSH, 2006). Dessa forma, o uso adjuvante de medicamentos produzidos com espécies de *Valeriana* com antidepressivos convencionais é também uma perspectiva a ser estudada.

Neste trabalho ficou evidente o envolvimento das monoaminas noradrenalina e dopamina na ação de *V. glechomifolia*, porém é preciso levar-se em consideração que valepotriatos diênicos inibem *in vitro* a atividade da enzima $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ (BETTERO *et al.*, 2011). ZANATTA e colaboradores (2001) demonstraram que um antidepressivo tricíclico e ISRSs inibem a atividade da enzima *in vitro* e têm diferentes efeitos sobre a mesma *in vivo*: o tratamento de ratos por 14 dias (10 mg/kg, i.p.) com fluoxetina (ISRS) aumenta a atividade da $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$, enquanto o tratamento com imipramina (antidepressivo tricíclico), reduz. Assim, a $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ pode representar um alvo molecular dos valepotriatos *in vivo* e a ação desses compostos sobre a enzima pode estar relacionada também à atividade do tipo antidepressiva do extrato de *V. glechomifolia* observada no presente estudo. Além disso, é possível que a inibição

da $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ seja importante para a toxicidade que é relacionada ao uso de espécies de *Valeriana* e é frequentemente atribuída aos valepotriatos (LIN *et al.*, 2009; SALLES, 2010). Porém, a literatura é controversa, apresentando dados de atividades farmacológicas, bem como de toxicidade para valepotriatos e para seus produtos de degradação (BRAUN *et al.*, 1986; HUDE *et al.*, 1986; TUFIK *et al.*, 1994).

De fato, uma das dificuldades em relação à padronização dos extratos de espécies de *Valeriana*, e consequente manutenção do efeito farmacológico, é a degradação dos valepotriatos, visto que esses compostos são altamente instáveis. O tipo de extração e as condições de armazenamento influenciam diretamente na constituição química desses extratos e na degradação dos mesmos (SALLES, 2010). A maceração realizada à temperatura ambiente por um longo período expõe o material vegetal a possíveis processos de degradação pela exposição ao calor e à oxidação, podendo levar à perda dos compostos de interesse (CARGNIN *et al.*, 2010). A extração por fluido supercrítico (EFS) representa uma alternativa por propiciar um menor tempo de contato do material vegetal com o solvente, em temperaturas mais baixas. A seletividade e a redução da degradação de moléculas termolábeis são algumas das principais vantagens da EFS em relação a outros métodos de extração (TAYLOR *et al.*, 1996).

Já foi demonstrado que a EFS permite uma extração seletiva de valepotriatos das raízes de *V. wallichii* (STAHL e SCHUETZ, 1980). Nesta Dissertação, foi empregada com sucesso na extração de valepotriatos das partes aéreas e subterrâneas de *V. glechomifolia*. A partir dos resultados obtidos, foi possível inferir que a EFS apresenta maior seletividade para a extração de valepotriatos (com rendimento em valepotriatos de 7,73 g%) do que a maceração com clorofórmio (com rendimento em valepotriatos de 2,04 g%) realizada por SILVA e colaboradores (2002).

Tendo em vista a instabilidade dos valepotriatos e a importância das atividades biológicas relatadas para esses compostos (MENNINI *et al.*, 1993;

MAURMANN *et al.*, 2009; SAH *et al.*, 2011), no presente estudo foi realizado o monitoramento mensal do conteúdo de valepotriatos do extrato de *V. glechomifolia* obtido por SCCO₂ armazenado seco (em atmosfera de nitrogênio) ou solubilizado em metanol, a -20°C. Observou-se a conversão de acevaltrato, 1-β-acevaltrato, 1-β-aceacevaltrato em valtrato (valepotriato diênico com substituintes de menor complexidade) pela liberação do substituinte isovaleril do núcleo iridóide, no extrato armazenado tanto em metanol quanto em atmosfera de nitrogênio (seco). Porém, esta conversão foi menos acelerada quando o extrato foi armazenado em metanol, achado este que está de acordo com BOS e colaboradores (1996). Por outro lado, no extrato armazenado em metanol houve redução dos níveis de isovaltrato e formação de produtos de degradação, provavelmente baldrinais, o que não foi observado para o extrato seco.

O extrato utilizado nos ensaios farmacológicos do presente estudo foi armazenado seco a -20 °C e, portanto, não apresenta baldrinais em sua constituição. A constituição química de extrato foi monitorada ao longo do estudo farmacológico e, a despeito das alterações observadas (conversão em valtrato) durante o período de armazenamento (8 meses), não houve alteração no efeito do tipo antidepressivo observado no TNF, o que leva a supor que o núcleo iridóide carbocíclico (Fig. 1) pode ser o grupamento farmacofórico. Esta hipótese merece estudos mais aprofundados.

6. CONCLUSÕES

Valeriana glechomifolia é uma espécie com potencial antidepressivo, uma vez que apresentou efeito antiimobilidade em diferentes modelos animais preditivos de ação antidepressiva em doses que não alteram a atividade locomotora nem a coordenação motora dos camundongos. Esse efeito foi mediado pelos sistemas neurotransmissores noradrenérgico e dopaminérgico, representando um mecanismo de ação diferenciado, a ser explorado. Os valepotriatos, constituintes majoritários do extrato estudado, podem representar um novo padrão químico de moléculas com atividade antidepressiva.

O armazenamento do extrato de *V. glechomifolia* obtido por SCCO₂ em metanol retarda a conversão molecular de valepotriatos diênicos em valtrato, embora nessa condição ocorra a formação de produtos de degradação, o que não é observado quando o extrato é armazenado seco em atmosfera de nitrogênio.

7. REFERÊNCIAS

ANDREATINI, R.; LEITE, J. R. Effect of valepotriates on the behavior of rats in the elevated plus-maze during diazepam withdrawal. **European Journal of Pharmacology**, v. 1; n. 260, p. 233-235, 1994.

BACH, K.K.; GHIA, F.; TORSSELL, K.B.G. Valtrates and lignans in *Valeriana microphylla*. **Planta Medica**, v. 59, p. 478-479, 1993.

BAUMANN, P. Pharmacotherapy of depression: recent developments. **Revue Médicale Suisse**, v. 3(125), p. 2079-2080, 2007.

BECKER, H.; CHAVADEJ, S.; WEBERLING, F. Valepotriates in *Valeriana thalictroides*. **Planta Medica**, v. 49, n.1, p. 1-64 , 1983.

BETTERO, G.M.; SALLES, L.; ROSÁRIO, R.M.F.; VON POSER, G.L.; RATES, S.M.K.; NOËL, F.; QUINTAS, L.M.E. *In vitro* effect of valepotriates isolated from *Valeriana glechomifolia* on rat P-type ATPases. **Planta Medica**. DOI: 10.1005/s-0030-1271084, 2011.

BHATTACHARYYA, D.; JANA, U.; DEBNATH, P.K.; SUR, T.K. 2007. Initial exploratory observational pharmacology of *Valeriana wallichii* on stress management: a clinical report. **Nepal Medical College. Journal**. v. 9, p. 36–39, 2007.

BLASI, J. M.; CEÑA, V.; GONZÁLEZ-GARCÍA, C.; MARSA, J.; SOLSONA, C. Ouabain induces acetylcholine release from pure cholinergic synaptosomes independently of extracellular calcium concentration. **Neurochemistry Research**, v. 13(11), p. 1035 -1041, 1988.

BLUMENTHAL, M. Herbs continue slides in mainstream market: sales down 14 percent. **HerbalGram**, v. 58, p. 71, 2003.

BOS, R.; WOERDENBAG, J.H.; HENDRIKS, H.; ZWAVING, J.H.; DE SMET, P.A.G.M.; TITTEL, G.; WIKSTROM, H.V.; SCHEFFER, J.J.C. Analytical aspects of phytotherapeutic valerian preparations. **Phytochemical Analysis**, v. 7, p. 143-151, 1996.

BOS, R.; WOERDENBAG, H. J.; DE SMET, P. A. G. M., SCHEFFER, J. J. C. In: DE SMET, P. A. G. M.; KELLER, K.; HANSEL, R.; CHANDLER, R. F. (Eds.), **Adverse Effects of Herbal Drugs**, v. 3, Berlin: Springer-Verlag, Heidelberg, 1997.

BRAAK, H.; BRAAK, E. Pathoanatomy of Parkinson's disease. **Journal of Neurology**, v. 247(2), p. 3-10, 2000.

BRAUN, R.; DIECKMANN, H.; MACHUT, M.; ECHARTI, C.; MAURER, H.R. Studies on the effects of baldrinal on hematopoietic cells *in vivo*, on the metabolic activity of the liver *in vivo*, and on the content in propriety drugs (in German). **Planta Medica**, v.52, p. 446-450, 1986.

BRUNELLO, N.; MENDLEWIKZ, J.; KASPER, S.; LEONARD, B.; MONTGOMERY, S.; CRAIG NELSON, J.; PAYKEL, E.; VERSIANI, M.; RACAGNI, G. The role of noradrenaline and noradrenaline reuptake inhibitors in depression. **European Neuropsychopharmacology**, v. 12, p. 461 – 475, 2002.

CARGNIN, S.T.; NUNES, J.M.; HAAS, J.S.; BALADÃO, L.F.; CASSEL, E.; VARGAS, R.F.; RECH, S.B.; VON POSER, G.L. Supercritical fluid extraction and high performance liquid chromatographic determination of benzopyrans and phloroglucinol derivative in *Hypericum polyanthemum*. **Journal of Chromatography B**, v. 878, p. 83-87, 2010.

CAVADAS, C.; ARAUJO, I.; COTRIM, M.D.; AMARAL, T.; CUNHA, A.P.; MACEDO, T.; RIBEIRO, C.F. In vitro study on the interaction of *Valeriana officinalis* L. extracts and their amino acids on GABA_A receptor in rat brain. **Arzneimittelforschung**, v. 45, p. 753-755, 1995.

DELL'OSSO, B.; PALAZZO, C.M.; OLDANI, L.; ALTAMURA, A.C. The noradrenergic action in antidepressant treatments: pharmacological and clinical aspects. **Central Nervous System Neuroscience & Therapeutics**, DOI 10.1111/j.1755-5949.2010.00217.x, 2010.

DIETZ, B.M.; MAHADY, G.B.; PAULI, G. F.; FARNSWORTH, N.R. Valerian extract and valerenic acid are partial agonists of the 5-HT_{5a} receptor in vitro. **Molecular Brain Research**, v. 138, p. 191-197, 2005.

DOSSAJI, S. F.; BECKER, H. HPLC Separation and quantitative determination of valepotriates from *Valeriana kilimandascharica*. **Planta Medica**, v. 43, p.179-182, 1981.

DUNLOP, B.W.; NEMEROFF, C.B. The role of dopamine in the pathophysiology of depression. **Archives in General Psychiatry**, v. 64, p. 327-337, 2007.

FAVA, M.; RUSH, A. J. Current status of augmentation and combination treatments for major depressive disorder: a literature review and a proposal for a novel approach to improve practice. **Psychotherapy and Psychosomatics**, v. 74, p. 139 – 153, 2006.

FOERSTER, W.; BECKER, H.; RODRÍGUEZ, E. HPLC Analysis of valepotriates in the North American genera *Plectritis* and *Valeriana*. **Planta Medica**, v. 50, n.1, p.7-9, 1984.

FUGG-BERMAN, A.; COTT, J. M. Dietary supplements and natural products as psychotherapeutic agents. **Psychosomatic Medicine**, v. 61, p. 712-728, 1999.

GOTTLIEB, O.R.; KAPLAN, M.A.C.; BORIN, M.R. **Biodiversidade. Um enfoque químico-biológico**. Editora da UFRJ, Rio de Janeiro, 1996.

GUTIERREZ, S.; ANG-LEE, M. K.; WALKER, D. J.; ZACNY, J. P. Assessing subjective and psychomotor effects of the herbal medication valerian in healthy volunteers. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, v. 78, p. 57-64, 2004.

HATTESOHL, M.; FEISTEL, B.; SIEVERS, H.; LEHNFELD, R.; HEGGER, M.; WINTERHOFF, H. Extracts of *Valeriana officinalis* L. s.l. show anxiolytic and antidepressant effects but neither sedative nor myorelaxant properties. **Phytomedicine**, v.15, p.2-15, 2008.

HERRERA-ARELLANO, A.; LUNA-VILLEGAS, G.; CUEVAS-URIOSTEGUI, M.L.; ALVAREZ, L.; VARGAS-PINEDA, G.; ZAMILPA-ALVAREZ, A.; TORTORIELLO, J. Polysomnographic evaluation of the hypnotic effect of *Valeriana edulis* standardized extract in patients suffering from insomnia. **Planta Medica**, v.67, p. 695-699, 2001.

HOBBS, C. Valerian. **Herbal Gram**, v.21, p.19-34, 1989.

HÖLZL, J.; KOCH, U. Über die Inhaltsstoffe von *Valeriana alliariifolia*. **Planta Medica**, v.50, p.458, 1984.

HOLZMANN, I.; FILHO, V.C.; MORA, T.C.; CÁCERES, A., MARTÍNEZ, J.V.; CRUZ, S.M.; SOUZA, M.M. Evaluation of behavioral and pharmacological effects of hydroalcoholic extract of *Valeriana prionophylla* Standl. from Guatemala. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, publicado online em 2011. DOI:10.1155/2011/312320.

HOUGHTON, P.J. The biological activity of valerian and related plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 22, p. 121-142, 1988.

HOUGHTON, P. J. The scientific basis for the reputed activity of Valerian. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 51, p. 505-12, 1999.

HUDE, W.V.D.; SCHEUTWINKEL-REICH, M.; BRAUN, R. Bacterial mutagenicity of the tranquilizing constituents of Valerianaceae roots. **Mutation Research**, v. 169, p. 23-27, 1986.

KRYSTAL, A. D.; RESSLER, I. The use of valerian in neuropsychiatry. **Central Nervous System Spectrums**, v. 6, p. 841-847, 2001.

LAM, R.W., WAN, D.D., COHEN, N.L., KENNEDY, S.H. Combining antidepressants for treatment resistant depression: a review. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 63, p. 685–693, 2002.

LEMKE, M.R.; BRECHT, H.M.; KOESTER, J.; REICHMANN, H. Effects of the dopamine agonist pramipexole on depression, anhedonia and motor functioning in Parkinson's disease. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 248, p. 266 – 270, 2006.

LIN, S.; SHEN, Y-H.; LI, H-L.; YANG, X-W.; CHEN, T.; LU, H-L.; HUANG, Z-S.; LIU, R-H.; XU, X-K.; ZHANG, W-D.; WANG, H. Acylated iridoids with cytotoxicity from *Valeriana jatamansi*. **Journal of Natural Products**, v. 72, p.650-655, 2009.

MAURMANN, N.; REOLON, G. K.; RECH, S. B.; FETT-NETO, A. G.; ROESLER, R. A valepotriate fraction of *Valeriana glechomifolia* shows sedative and anxiolytic properties and impairs recognition but not aversive memory in mice. **eCAM**, DOI 10.1093/ecam/nep232, 2009.

MC DONALD. W.M.; RICHARD, I.H.; DELONG, M.R. Prevalence, etiology, and treatment of depression in Parkinson's disease. **Biological Psychiatry**, v. 54, p. 363–375, 2003.

MENNINI, T.; BERNASCONI, P.; BOMBARDELLI, E.; MORAZZONI, P. *In vitro* study on the interaction of extracts and pure compounds from *Valeriana officinalis* roots with GABA, benzodiazepine and barbiturate receptors in rat brain. **Fitoterapia**, v. 64, n. 4, p. 291-300, 1993.

MOUSSAVI, S.; CHATTERJI, S.; VERDES, E.; TANDON, A.; PATEL, V.; USTUN, B. Depression, chronic diseases, and decrements in health: results from the World Health Surveys. **Lancet**, v. 370(9590), p. 851-858, 2007.

NESHER, M.; SHPOLANSKY, U.; ROSEN, H.; LICHTSTEIN, D. The digitalis-like steroid hormones: new mechanisms of action and biological significance. **Life Sciences**, v. 80, p. 2093-2107, 2007.

NEWMAN, D.J. Natural Products as Leads to Potential Drugs: an old process or the new hope for drug discovery? **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 51(3), p. 2589–2599, 2008.

OLESEN, J.; LEKANDER, I.; SOBOCKI, P. Resource allocation to brain research in Denmark: an example for other European countries. **European Journal of Neurology**, v. 14(6), p. 667-71, 2007.

ORTIZ, J. G.; NIEVES-NATAL, J.; CHAVEZ, P. Effects of *Valeriana officinalis* extracts on [³H]Flunitrazepam binding, synaptosomal [³H]GABA uptake, and

hippocampal [³H]GABA release. **Neurochemical Research**, v. 24, p. 1373-1378, 2004.

RUHÉ, H.G.; HUYSER, J.; SWINKELS, J.A.; SCHENE, A.H. Switching antidepressants after a first selective serotonin reuptake inhibitor in major depressive disorder: a systematic review. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 67(12), p. 1836-1855, 2006.

SAH, S.P.; MATHELA, C.S.; CHOPRA, K. Antidepressant effect of *Valeriana wallichii* patchouli alcohol chemotype in mice: behavioural and biochemical evidence **Journal of Ethnopharmacology**, DOI 10.1016/j.jep.2011.02.018, 2011.

SALLES, L.A. **Obtenção de frações de valepotriatos através de fluido supercrítico e triagem psicofarmacológica de *Valeriana glechomifolia* Meyer.** Tese de doutorado – Curso de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

SILVA, A.L. **Quantificação de valepotriatos em espécies de *Valeriana* e em culturas de calos e suspensões celulares de *Valeriana glechomifolia* Meyer.** Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

SILVA, A.L.; RECH, S.B.; VON POSER, G.L.. Quantitative determination of valepotriates from *Valeriana* native to south Brazil. **Planta Medica**, v. 68, p. 570-572, 2002.

SOBRAL, M. Flora ilustrada do Rio Grande do Sul/25: Valerianaceae. **Boletim do Instituto de Biociências**, n.58, p.1-61, 1999^a.

SOBRAL, M. *Valeriana eupatoria* (Valerianaceae). A new species from Rio Grande do Sul. **Novon**, v.10, n.2, p.149-152, 1999^b.

STAHL, E.; SCHUETZ, E. Extraction of labile natural products with supercritical gases. IV. Extraction of valepotriates from *Valeriana wallichii*. **Planta Medica**, v. 40, p. 262-270, 1980.

STEFFENS, M.; FEUERSTEIN, T.J. Receptor-independent depression of DA and 5-HT uptake by cannabinoids in rat neocortex - involvement of Na(+)/K(+)-ATPase. **Neurochemistry International**, v. 44 (7), p. 529 – 538, 2004.

SUBHAN, F.; KARIM, N.; GILANI, A.H.; SEWELL, R.D.E. Terpenoid content of *Valeriana wallichii* extracts and antidepressant-like response profiles. **Phytotherapy Research**, v. 24, p. 686–691, 2010.

TAMMINGA, C.A.; NEMEROFF, C.B.; BLAKELY, R.D.; BRADY, L.; CARTER, C.S.; DAVIS, K.L.; DINGLEDINE, R.; GORMAN, J.M.; GRIGORIADIS, D.E.; HENDERSON, D.C.; INNIS, R.B.; KILLEN, J.; LAUGHREN, T.P.; MCDONALD, W.M.; MURPHY, G.M.; PAUL, S.M.; RUDORFER, M.V.; SAUSVILLE, E.; SCHATZBERG, A.F.; SCOLNICK, E.M.; SUPPE, T. Developing novel treatments for mood disorders: accelerating discovery. **Biological Psychiatry**, v. 52, p. 589-609, 2002.

TANG, Y; LIU, X.; YU, B. Iridoids from the rhizomes and roots of *Valeriana jamantasi*. **Journal of Natural Products**, v. 65, p.1949-1952, 2002.

TAYLOR L.T. **Supercritical Fluid Extraction**. New York: John Wiley & Sons Inc., 1996.

TUFIK, S.; FUJITA, K.; SEABRA, M. L. V.; LOBO, L. L. Effects of a prolonged administration of valepotriates in rats on the mothers and their offspring. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 41, p. 39-44, 1994.

VASCONCELLOS, A.P.S.; ZUGNO, A.I.; SANTOS, A.H.D.P.; NIETTO, F.B.; CREMA, L.M.; GONÇALVES, M.; FRANZON, R.; WYSE, A.T.S.; ROCHA, E.R.; DALMAZ, C. Na⁺K⁺ATPase activity is reduced in hippocampus of rats submitted to an experimental model of depression: effect of chronic lithium treatment and possible involvement in learning deficits. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 84, p. 102-110, 2005.

VATTA, M.; PEÑA, C.; FERNÁNDEZ, B. E.; RODRÍGUEZ, G.; ARNAIZ, R. L. Endobain E, a brain Na⁺K⁺ ATPase inhibitor, decreases norepinephrine uptake in rat hypothalamus. **Life Sciences**, v. 76, p. 359-365, 2004.

VEAZEY, C.; AKI, S.O.; COOK, K.F.; LAI, E.C.; KUNIK, M.E. Prevalence and treatment of depression in Parkinson's disease. **Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neuroscience**, v. 17, p. 310–323, 2005.

WANG, R.; XU, Y.; WU, H.L.; LI, Y.B.; LI, Y.H.; GUO, J.B.; LI, X.J. The antidepressant effects of curcumin in the forced swimming test involve 5-HT1 and 5-HT2 receptors. **European Journal of Pharmacology**, v. 578, p. 43 – 50, 2008.

WHO, World Health Organization. **WHO Monographs on Selected Medicinal Plants**, v.1. Malta: WHO Graphics, 1999.

WHO, World Health Organization. **Depression**. Disponível em http://www.who.int/mental_health/management/depression/definition/en/. Visitado em setembro de 2011.

ZANATTA, L.M.; NASCIMENTO, F.C.; BARROS, S.V.T.; SILVA, G.R.R.S.; ZUGNO, A.I.; NETTO, C.A.; WYSE, A.T.S. *In vivo* and *in vitro* effect of imipramine and fluoxetine on Na⁺K⁺ ATPase activity in synaptic plasma membranes from the cerebral cortex of rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, p. 1265-1269, 2001.

8. ANEXOS

Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais em Pesquisa da UFRGS:



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

CARTA DE APROVAÇÃO

A Comissão de Ética no Uso de Animais em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul analisou o projeto:

Título: Avaliação da atividade antidepressiva do extrato obtido por dióxido de carbono supercrítico de Valeriana glechomifolia Meyer.

Nº no Sistema Pesquisa: 19022

Pesquisador (es)

NOME
STELA MARIS KUZE RATE

PARTICIPAÇÃO
PESQUISADOR RESPONSÁVEL

O mesmo foi aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008 que disciplina a criação e utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa.

Porto Alegre, 19 de julho de 2010


Flávio Antônio Pacheco de Araujo
Presidente da CEUA/UFRGS