

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS**

**RENATA MARIA LEAL DE SOUZA**

**EXPLORANDO OS BENEFÍCIOS DO ALECRIM-DO-CAMPO (*Baccharis  
dracunculifolia*) EM MODELO ANIMAL: POTENCIAL AÇÃO ANSIOLÍTICA E  
ANTIDEPRESSIVA**

**ALFENAS/MG**

**2025**

**RENATA MARIA LEAL DE SOUZA**

**EXPLORANDO OS BENEFÍCIOS DO ALECRIM-DO-CAMPO (*Baccharis  
dracunculifolia*) EM MODELO ANIMAL: POTENCIAL AÇÃO ANSIOLÍTICA E  
ANTIDEPRESSIVA**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carla Speroni Ceron  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lisandra Brandino de Oliveira

**ALFENAS/MG**

**2025**

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas  
Biblioteca Central

Leal de Souza, Renata Maria .

Explorando os benefícios do alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*) em modelo animal: potencial ação ansiolítica e antidepressiva / Renata Maria Leal de Souza. - Alfenas, MG, 2025.  
112 f. : il. -

Orientador(a): Carla Speroni Ceron.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -  
Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2025.  
Bibliografia.

1. Alecrim-do-campo. 2. Ansiedade. 3. Depressão. 4. Estresse oxidativo. I. Ceron, Carla Speroni, orient. II. Título.

RENATA MARIA LEAL DE SOUZA

**EXPLORANDO OS BENEFÍCIOS DO ALECRIM-DO-CAMPO (*Baccharis dracunculifolia*) EM MODELO ANIMAL: POTENCIAL AÇÃO ANSIOLÍTICA E ANTIDEPRESSIVA**

A Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 07 de março de 2025.

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lisandra Brandino de Oliveira  
Presidente da Banca Examinadora  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Tayllon dos Anjos Garcia  
Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso

Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Lisandra Brandino de Oliveira, Professor do Magistério Superior**, em 07/03/2025, às 10:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1465596** e o código CRC **4236D4BE**.

---

Dedico aos meus pais,  
Andrea e Renato,  
pelo apoio incondicional  
e por serem os maiores  
exemplos da minha vida.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me sustentado nos momentos mais desafiadores deste percurso, trazendo segurança em meio às adversidades, guiando cada passo e concedendo-me a graça de contar com intercessores e verdadeiros anjos aqui na Terra.

Aos meus pais, Andrea e Renato, amores da minha vida. Vocês são a base de todas as minhas conquistas, oferecendo não apenas apoio, mas também amor e sabedoria em cada etapa desta jornada. Sou imensamente grata por me proporcionarem todas as ferramentas necessárias para seguir minhas próprias escolhas. Obrigada por serem meu ponto de partida e sempre o meu caminho de volta. Este momento só é possível graças à presença e dedicação de vocês.

À vó Tonha, alicerce da minha vida, por todas as rezas e palavras de conforto. Aos meus falecidos avós, vô Tião, vó Odila e vô Maé, que me acompanharam desde o nascimento, me devotaram amor e, hoje, sei que intercedem por mim de onde estiverem. Aos meus familiares, padrinhos, tios e primos, pelo apoio em todos os momentos, por acreditarem em mim e me sustentarem emocionalmente em cada desafio.

À Luanna, minha irmã de alma. Embora eu não tenha irmãos de sangue, Deus me presenteou com você, que sempre esteve ao meu lado, sendo meu porto seguro nos dias difíceis e minha companheira nas vitórias. Essa conquista também é sua.

Ao meu namorado, Rafael, por estar ao meu lado em todos os momentos desta caminhada. Sua paciência, compreensão e seu apoio foram fundamentais para que eu pudesse me dedicar a este trabalho. Obrigada por acreditar em mim, por me incentivar nos dias mais difíceis e por celebrar cada conquista ao meu lado.

Aos meus amigos, que estiveram sempre ao meu lado, compartilhando não apenas alegrias e conquistas, mas também enfrentando comigo os momentos mais árduos. Obrigada por me inspirarem, incentivarem e, sobretudo, por tornarem essa caminhada mais leve e significativa.

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carla Speroni Ceron, agradeço a paciência e generosidade em compartilhar seu conhecimento, além do apoio constante e construtivo ao longo de toda a pesquisa. Sou especialmente grata pelo acolhimento em sua casa quando precisei e por aceitar me orientar mesmo a 386,6 km de distância. Sinto-me imensamente feliz e realizada com o que faço e, sem a sua

orientação, isso não teria sido possível.

À minha coorientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lisandra Brandino de Oliveira, expresso minha sincera gratidão por sua contribuição essencial ao longo deste trabalho. Obrigada pela disponibilidade, dedicação, paciência e pelo cuidado que sempre teve comigo. Sinto-me imensamente feliz e realizada com o que faço e, sem a sua coorientação, isso não teria sido possível.

À técnica em bioterismo, Adriana Aparecida de Carvalho Leonardo, minha sincera gratidão por ter facilitado este processo desafiador que é trabalhar com animais. Sua contribuição foi fundamental para a realização deste trabalho. Agradeço também pela amizade que construímos ao longo da jornada.

Aos alunos de iniciação científica, José Armando L., Gabriele G., Talia M. e Julia R., expresso minha sincera gratidão pelo auxílio e suporte fundamentais para a execução deste projeto, além das boas risadas que tornaram o processo mais agradável e divertido.

À Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG), em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), por me proporcionar as ferramentas necessárias para que essa etapa fosse concluída.

Ao Laboratório de Farmacologia Experimental e Clínica (LaFEC), agradeço pela oportunidade de integrar uma equipe tão dedicada, pelas amizades construídas e pelo apoio durante a minha pesquisa.

À técnica do LaFEC, Dr<sup>a</sup>. Marilene Lopes Ângelo, minha sincera gratidão pela atenção, pelo suporte e fornecimento dos materiais necessários.

Ao Prof. Dr. Leonardo Máximo Cardoso, à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Aparecida Lima de Moura e ao Me. Marcos Adriano Carlos Batista, da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), minha sincera gratidão pelo suporte e pela disponibilidade do extrato de *Baccharis dracunculifolia*.

Ao Prof. Dr. Mateus Freire Leite e ao Me. Pietro Meira Paschoaleto, pelo suporte, pela atenção e disponibilidade de equipamentos e materiais para a realização do preparo de formulações no Laboratório de Tecnologia de Cosméticos.

Ao Prof. Dr. Tayllon dos Anjos Garcia e à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Roseli Soncini, agradeço imensamente pelo suporte, pela atenção, pelos ensinamentos e pela disponibilidade de equipamentos e materiais do Departamento de Ciências Fisiológicas do Instituto de Ciências Biomédicas, fundamentais para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Claudio Viegas Junior e ao Laboratório de Pesquisa em Química

Medicinal, minha sincera gratidão pelo suporte, pela atenção e disponibilidade de equipamentos e materiais.

Ao Prof. Dr. Angel Mauricio Castro Gamero e ao Laboratório de Genética Humana, pela disponibilidade do *biofreezer* -80°C, fundamental para o armazenamento adequado das amostras coletadas.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fernanda Borges de Araújo Paula, pela disponibilidade do Laboratório de Bioquímica Clínica e Experimental e de seus equipamentos, que permitiu a realização dos ensaios bioquímicos deste trabalho.

À Dr<sup>a</sup>. Alessandra Oliveira da Silva, minha profunda gratidão pelos ensinamentos, pela paciência, disponibilidade e por toda a contribuição ao meu trabalho, especialmente com as técnicas de dissecação dos animais, análises oxidativas e *Western blotting*.

Ao Biotério da UNIFAL-MG, em especial à Erika K. Incerpi Garcia e ao João Francisco Vitória Rodrigues, agradeço pelo suporte e pelo fornecimento dos animais conforme minha demanda.

Aos funcionários da UNIFAL-MG campus Santa Clara, agradeço pela boa convivência e pelo suporte prestado.

À Prefeitura Municipal de Divisa Nova, em especial ao prefeito José Luiz de Figueiredo e aos motoristas, pelo compromisso em garantir o transporte diário até a universidade, proporcionando acesso seguro e viabilizando a continuidade dos estudos. Esse apoio foi fundamental não apenas para mim, mas também para muitos outros estudantes, reforçando a relevância do investimento público em educação e seu impacto transformador na comunidade.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marcia Helena Cardoso Podestá, minha gratidão por despertar em mim o amor pela farmacologia. A senhora é uma inspiração.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a concretização deste projeto, mas que não foram mencionados especificamente, meu sincero agradecimento.

Enfim, grata pela vida e pelas experiências que me foram concedidas.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Digo: o real não está na saída nem na chegada:  
ele se dispõe para a gente é no meio da travessia.”

João Guimarães Rosa

## RESUMO

Transtornos de ansiedade e depressão, frequentemente associados ao estresse oxidativo e à redução da neuroproteção no sistema nervoso central (SNC), representam desafios importantes à saúde pública. *Baccharis dracunculifolia* destaca-se como uma planta medicinal promissora devido às suas propriedades antioxidantes e neuroprotetoras. Este estudo avaliou os efeitos ansiolíticos e antidepressivos do extrato de *B. dracunculifolia* (50 mg/kg) (BD 50) em ratos Wistar machos e fêmeas. Os animais foram submetidos a testes comportamentais e análises bioquímicas para avaliar marcadores de estresse oxidativo, incluindo a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), os níveis de glutathiona (GSH) e a quantificação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), além da expressão do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) no SNC. Foram utilizados 60 machos e 60 fêmeas, divididos em grupos controle, BD 50 e fluoxetina (10 mg/kg). Para avaliar os efeitos ansiolíticos, os animais foram submetidos aos testes de labirinto em T elevado (LTE), campo aberto (CA) e claro-escuro (CE). Para os efeitos antidepressivos, foram realizados os testes de nado forçado (NF) e preferência por sacarose (PPS). No 18º dia, os encéfalos foram coletados para análises oxidativas e de BDNF. Nos machos, o BD 50 exibiu efeito ansiolítico (exceto no CE), sem efeito antidepressivo, aumentou a atividade de SOD e CAT, estabilizou GSH e manteve TBARS, sem alterar a expressão de BDNF. Nas fêmeas, o BD 50 demonstrou efeito ansiolítico (LTE, CA, CE) e antidepressivo (NF), semelhante à fluoxetina, mas sem aumento na atividade de SOD, CAT, GSH ou expressão de BDNF. Conclui-se que o tratamento crônico com BD 50 promoveu efeitos ansiolíticos e antioxidantes em machos, enquanto nas fêmeas exibiu efeitos ansiolíticos e antidepressivos por uma via independente do estresse oxidativo, destacando a importância do dimorfismo sexual na farmacologia.

Palavras-chave: Alecrim-do-campo; Ansiedade; Depressão; Estresse Oxidativo.

## ABSTRACT

Anxiety disorders and depression, often associated with oxidative stress and reduced neuroprotection in the central nervous system (CNS), represent important public health challenges. *Baccharis dracunculifolia* stands out as a promising medicinal plant due to its antioxidant and neuroprotective properties. This study evaluated the anxiolytic and antidepressant effects of *B. dracunculifolia* extract (50 mg/kg) (BD 50) in male and female Wistar rats. The animals were subjected to behavioral tests and biochemical analyses to evaluate markers of oxidative stress, including the activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) enzymes, glutathione (GSH) levels and quantification of thiobarbituric acid reactive species (TBARS), in addition to the expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the CNS. 60 males and 60 females were used, divided into control, BD 50 and fluoxetine (10 mg/kg) groups. To evaluate the anxiolytic effects, the animals were subjected to elevated T-maze (ETM), open field (OF), and light-dark (LDT) tests. For the antidepressant effects, the forced swimming (FST) and sucrose preference (SPT) tests were performed. On day 18, the brains were collected for oxidative and BDNF analyses. In males, BD 50 exhibited anxiolytic effects (except in the LDT), without antidepressant effects, increased SOD and CAT activity, stabilized GSH, and maintained TBARS, without altering BDNF expression. In females, BD 50 demonstrated anxiolytic (ETM, OF and LDT) and antidepressant (FST) effects, similar to fluoxetine, but without increasing SOD, CAT, or GSH activity or BDNF expression. It is concluded that specific treatment with BD 50 promotes anxiolytic and antioxidant effects in males, while in females it exhibits anxiolytic and antidepressant effects through a pathway independent of oxidative stress, highlighting the importance of sexual dimorphism in pharmacology.

Keywords: Field rosemary; Anxiety; Depression; Oxidative Stress.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mecanismo do BDNF no SNC e seu possível envolvimento nos transtornos de ansiedade e depressão .....	23
Figura 2 – Esquema da formação de radicais livres e da defesa antioxidante .....	25
Figura 3 – Mecanismo do estresse oxidativo no SNC e seu possível envolvimento nos transtornos de ansiedade e depressão.....	26
Figura 4 – Alecrim-do-campo .....	29
Figura 5 – Esquema da hipótese do estudo.....	31
Figura 6 – Preparo do extrato.....	34
Figura 7 – Análise do extrato com CG-EMS e UHPLC-MS-ESI-QTOF .....	38
Figura 8 – LTE.....	40
Figura 9 – CA .....	41
Figura 10 – CE .....	42
Figura 11 – NF .....	43
Figura 12 – PPS .....	44
Figura 13 – Delineamento experimental.....	46
Figura 14 – Linha experimental para estudo do efeito ansiolítico.....	47
Figura 15 – Linha experimental para estudo do efeito antidepressivo .....	48
Figura 16 – Esquema das análises de GSH, CAT e SOD.....	51
Figura 17 – Esquema da análise de TBARS.....	52
Figura 18 – Esquema da análise de BDNF pela técnica <i>Western blotting</i> .....	55
Figura 19 – Efeitos do BD 50 nos animais no teste do LTE .....	57
Figura 20 – Efeitos do BD 50 nos animais no teste do CA.....	60
Figura 21 – Graficos da posição do ponto central de cada animal no teste do CA fornecidos pelo <i>software Any Maze Stoelting</i> (EUA) .....	61
Figura 22 – Efeitos do BD 50 nos animais no teste de CE.....	63
Figura 23 – Efeitos do BD 50 nos animais no teste do NF .....	65
Figura 24 – Efeitos do BD 50 nos animais no teste de PPS.....	67
Figura 25 – Efeitos do BD 50 nos animais nos parâmetros de estresse oxidativo ....	69
Figura 26 – Efeitos do BD 50 nos animais na expressão de BDNF .....	71
Figura 27 – Síntese dos resultados e conclusão da hipótese do estudo.....	84

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
±	Mais ou menos
°C	Grau Celsius
µg	Microgramas
µL	Microlitros
µm	Micrometros
µmol	Micromol
•OH	Radical hidroxila
4-HNE	4-hidroxinonenal
AlCl <sub>3</sub>	Cloreto de alumínio
ANOVA	Análise de Variância
APS	Persulfato de amônio
ATP	Trifosfato de adenosina
BD 50	Extrato de <i>Baccharis dracunculifolia</i> na dose de 50 mg/kg
BDNF	Fator neurotrófico derivado do encéfalo
BSA	Albumina de soro bovino
CA	Campo aberto
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CAT	Catalase
CE	Transição claro-escuro
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CG-EMS	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas
CH <sub>3</sub> COOK	Acetato de potássio
cm	Centímetros
COVID-19	Coronavírus
dL	Decilitro
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DSM-5	5ª Edição do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
DTNB	Ácido 5,5-ditiobis(2-nitrobenzoico)
ECL	Quimioluminescência aprimorada
eDC	Extrato de <i>B. dracunculifolia</i>
EPM	Erro Padrão da Média

ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
g	Gramas
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GBD	<i>Global Burden of Diseases</i>
GPx	Glutathione peroxidase
GRx	Glutathione reductase
GSH	Glutathione
GSSG	Glutathione oxidada
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
HPA	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
Hz	Hertz
IGEPAL	Octilfenoxipolietoxietanol
IRSN	Inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina
ISRS	Inibidores seletivos da recaptação de serotonina
KCl	Cloreto de potássio
kDa	Kilodalton
Kg	Quilogramas
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Fosfato monopotássico
L	Litros
LABMASSAS	Laboratório de Caracterização Molecular e Espectrometria de Massas
LaFEC	Laboratório de Farmacologia Experimental e Clínica
LCE	Labirinto em cruz elevado
LFEC	Laboratório de Fisiologia Endócrina e Cardiovascular
LTE	Labirinto em T elevado
m	Metros
M	Molaridade
m/z	Relação massa/carga
mBar	Milibar
MDA	Malondialdeído
mg	Miligramas
mL	Mililitros
MM	Massa molecular

mm	Milímetros
mol	Mol
N*	Número de compostos identificados
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Carbonato de sódio
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Fosfato de sódio dibásico
NaCl	Cloreto de sódio
NADPH	Fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Fosfato de sódio monobásico
NF	Nado forçado
NIH	<i>National Institutes of Health</i>
nm	Nanômetros
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
NOX	NADPH-oxidases
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Ânion superóxido
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONOO <sup>-</sup>	Peroxinitrito
P.A.	Pureza analítica
p/v	Peso por volume
PBS	Tampão salina fosfato
pH	Potencial hidrogeniônico
PMSF	Fenilmetilsulfonil
PPGCF	Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas
Ppm	Partes por milhão
PPS	Preferência por sacarose
PVDF	Polifluoreto de Vinilideno
q.s.p.	Quantidade suficiente para
rpm	Rotações por minuto
SC	Suspensão de cauda
SDS	Dodecil sulfato de sódio
SH	Grupos sulfidríla
SNC	Sistema nervoso central
SOD	Superóxido dismutase
TBA	Ácido tiobarbitúrico

TBARS	Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico
TBS-T	Solução Salina Tampão Tris com Tween 20
TEMED	N,N,N',N'-Tetrametiletilenodiamina
TNB	2-nitro-5-tiobenzoato
TR	Tempo de retenção em minutos
TrkB	Receptor tirosina quinase B
Tris	Tris(hidroximetil)aminometano
U	Unidade
UFOP	Universidade Federal de Ouro Preto
UHPLC-MS-ESI-QTOF	Cromatografia Líquida de Ultra-Alta Eficiência Acoplada à Espectrometria de Massas
UNIFAL-MG	Universidade Federal de Alfenas
V	Volt

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>20</b>
2.1	TRANSTORNOS DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO .....	20
2.2	FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DO ENCÉFALO (BDNF) E TRANSTORNOS DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO .....	21
2.3	ESTRESSE OXIDATIVO E DEFESA ANTIOXIDANTE .....	23
2.4	ESTRESSE OXIDATIVO E TRANSTORNOS DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO .....	25
2.5	ANSIEDADE, DEPRESSÃO E ESTRESSE OXIDATIVO: IMPACTO DAS DIFERENÇAS SEXUAIS .....	27
2.6	ALECRIM-DO-CAMPO ( <i>Baccharis dracunculifolia</i> ) .....	28
2.7	EFEITO ANSIOLÍTICO E ANTIDEPRESSIVO DO ALECRIM-DO-CAMPO E DOS SEUS CONSTITUINTES QUÍMICOS .....	30
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>32</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>33</b>
4.1	OBJETIVO GERAL .....	33
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	33
<b>5</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>34</b>
5.1	EXTRATO DO ALECRIM-DO-CAMPO .....	34
5.1.1	Coleta do material vegetal e preparo do extrato .....	34
5.1.2	Determinação do teor de compostos fenólicos e flavonoides .....	35
5.1.3	Análise de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EMS) .....	35
5.1.4	Análise de cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (UHPLC-MS-ESI-QTOF) .....	36
5.2	ANIMAIS .....	38
5.3	TESTES COMPORTAMENTAIS .....	38
5.3.1	Labirinto em T elevado (LTE) .....	38
5.3.2	Campo aberto (CA) .....	40
5.3.3	Transição claro-escuro (CE) .....	41
5.3.4	Nado forçado (NF) .....	42
5.3.5	Preferência por sacarose (PPS) .....	43

5.4	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	44
5.4.1	Estudo do possível efeito ansiolítico do extrato de <i>B. dracunculifolia</i> .....	46
5.4.2	Estudo do possível efeito antidepressivo do extrato de <i>B. dracunculifolia</i> .....	47
5.5	ANÁLISES OXIDATIVAS .....	48
5.5.1	Determinação da concentração de proteína .....	48
5.5.2	Avaliação dos níveis de glutathione (GSH) .....	48
5.5.3	Avaliação da atividade tecidual da catalase (CAT) .....	49
5.5.4	Avaliação da atividade tecidual da superóxido dismutase (SOD).....	50
5.5.5	Avaliação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) .....	51
5.6	ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO BDNF POR WESTERN BLOTTING .....	52
5.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	55
6	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>56</b>
6.1	AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL RELACIONADA AO EFEITO ANSIOLÍTICO .....	56
6.2	AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL RELACIONADA AO EFEITO ANTIDEPRESSIVO .....	64
6.3	AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA RELACIONADA AO EFEITO ANTIOXIDANTE .....	68
6.4	AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DO BDNF RELACIONADA AO EFEITO NEUROPROTETOR.....	70
7	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>73</b>
8	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>84</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>85</b>
	<b>ANEXOS</b> .....	<b>102</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os transtornos de ansiedade e depressão estão entre as condições de saúde mental mais prevalentes na sociedade contemporânea. A depressão é uma doença severa e debilitante, caracterizada por uma ampla gama de sintomas que afetam negativamente a vida pessoal, social e profissional, além de ser um dos principais fatores de risco para o suicídio (Moitra *et al.*, 2022). Os transtornos de ansiedade, por sua vez, se manifestam por meio de sintomas como preocupações excessivas, medos sociais, ataques de pânico, ansiedade antecipatória e comportamentos de evitação (Szuhany; Simon, 2022). Em 2019, o renomado estudo *Global Burden of Diseases* (GBD) destacou que esses transtornos foram os mais incapacitantes, sendo classificados entre as 25 principais causas de fardo global (VOS *et al.*, 2020).

Posteriormente, um estudo conduzido entre 2020 e 2021, como parte do GBD de 2020, analisou o impacto da pandemia de coronavírus (COVID-19) na saúde mental global e identificou cerca de 76,2 milhões de casos de ansiedade e depressão em todo o mundo (Santomauro *et al.*, 2021). De fato, depois que a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou a pandemia de COVID-19 em 2019, houve um aumento considerável na prevalência de problemas de saúde mental globalmente, em que os índices de ansiedade e depressão aumentaram 25% no primeiro ano, conforme um resumo científico publicado pela mesma (WHO, 2022). No Brasil, uma pesquisa realizada com mais de 45 mil pessoas revelou que 40,4% delas frequentemente se sentiam tristes ou deprimidas, enquanto 52,6% relataram estar ansiosas durante a pandemia de COVID-19 (Barros *et al.*, 2020).

Os principais medicamentos utilizados para tratar transtornos de ansiedade e depressão incluem os inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS), os inibidores da recaptção de serotonina e noradrenalina (IRSN) e os benzodiazepínicos (Atack, 2003; Millan, 2006; Rush *et al.*, 2006; Bandelow *et al.*, 2023). No entanto, os ISRS e IRSN apresentam um período de latência de 2 a 4 semanas e, durante as primeiras 2 semanas, os efeitos adversos podem ser mais intensos, o que compromete a adesão dos pacientes ao tratamento (Bandelow; Michaelis; Wedekind, 2017). Além disso, o uso prolongado de benzodiazepínicos pode levar à dependência em alguns pacientes (Schweizer, 1990; Nelson; Chouinard, 1999; Bandelow; Michaelis; Wedekind, 2017). Ainda, é importante destacar que mais de um terço dos pacientes com depressão não responde adequadamente aos

antidepressivos de primeira linha, frequentemente enfrentando uma progressão mais grave da doença (Ruberto *et al.*, 2020). Visto isso, embora exista uma ampla variedade de antidepressivos e ansiolíticos disponíveis globalmente, os efeitos colaterais, as questões de tolerabilidade, complicações relacionadas à interrupção do tratamento e a dificuldade de acesso a esses medicamentos continuam a motivar a busca por alternativas mais eficazes, seguras e acessíveis (Strawn *et al.*, 2023; Singewald *et al.*, 2023; Nieto Camacho; Baca Ibarra; Huerta-Reyes, 2024).

Produtos naturais continuam a ser uma fonte crucial para o desenvolvimento de novos medicamentos. A revisão de Newman e Cragg (2020) destaca que, ao longo dos anos, muitos medicamentos aprovados foram originados de compostos naturais ou derivados de suas estruturas. Além disso, as plantas medicinais têm ganhado crescente reconhecimento como alternativas terapêuticas, como observado por Quetglas-Llabrés *et al.* (2022), reforçando a importância do estudo dessas fontes para a descoberta de novos tratamentos.

Um exemplo notável é *Baccharis dracunculifolia*, que tem demonstrado benefícios neuroprotetores. O estresse oxidativo, que compromete o sistema nervoso central (SNC) devido à maior suscetibilidade a danos causados por espécies reativas de oxigênio (ERO), está fortemente associado a transtornos de ansiedade e depressão (Ozcan *et al.*, 2004; Matsushita *et al.*, 2010; Hassan *et al.*, 2022), assim como a redução do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) (Chakrapani *et al.*, 2020; Yin *et al.*, 2022). França *et al.* (2022) observaram que o extrato de *B. dracunculifolia* aumentou as defesas antioxidantes no hipocampo e apresentou efeito antidepressivo em camundongos com colite ulcerativa. Adicionalmente, Laranjeira *et al.* (2024) relataram efeito antianedônico ao aumentar a preferência por sacarose em ratas com osteoartrite. O extrato de óleo de própolis, derivado da resina de *B. dracunculifolia* por *Apis mellifera*, também demonstrou ação ansiolítica, evidenciada por testes comportamentais e atividade antioxidante no soro de ratas (Guimarães *et al.*, 2012; Reis *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2017; Rodrigues *et al.*, 2020). Constituintes químicos da *B. dracunculifolia* aumentaram a expressão de BDNF no SNC e apresentaram efeitos ansiolíticos e antidepressivos em testes comportamentais (Díaz-Cantón *et al.*, 2024; Alkanat; Alkanat, 2024; Cao *et al.*, 2024). Diante desses achados, *B. dracunculifolia* consolida-se como uma promissora alternativa terapêutica no tratamento de transtornos de ansiedade e depressão, cuja fisiopatologia está relacionada ao estresse oxidativo e à redução da neuroproteção.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 TRANSTORNOS DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO

De acordo com a OMS, quase um bilhão de pessoas em todo o mundo sofriam de transtornos de ansiedade e depressão em 2019. O suicídio representou mais de 1% das mortes globais, sendo 58% desses casos entre pessoas com menos de 50 anos. Além do suicídio, esses transtornos estão associados a uma série de consequências, como redução da produtividade no trabalho, dificuldades econômicas, sociais e familiares, além do aumento no uso de substâncias psicoativas (Nemeroff *et al.*, 2007; Ménard *et al.*, 2016; WHO, 2022). Ademais, após a declaração da pandemia de COVID-19 pela OMS em 2019, houve um aumento significativo nos problemas de saúde mental globalmente, com um crescimento de 25% nos casos de ansiedade e depressão no primeiro ano (WHO, 2022).

A depressão é uma doença incapacitante e heterogênea, marcada por sintomas de tristeza recorrente, perda de interesse e prazer por atividades particulares e interpessoais, desesperança a respeito do futuro, alteração do sono e do apetite, pensamento recorrente e até mesmo o ato do suicídio. A patogênese da depressão envolve múltiplos mecanismos fisiológicos e neuroquímicos, como alterações na neurotransmissão de serotonina, dopamina e noradrenalina, além de disfunções no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e diminuição de fatores neurotróficos como BDNF. O estresse oxidativo e inflamações crônicas também contribuem para o avanço do transtorno, sugerindo que a homeostase redox influencia o humor e o comportamento (Pitsillou *et al.*, 2020; Dionisie *et al.*, 2021; Juszczak *et al.*, 2021).

A teoria monoaminérgica propõe que a depressão está fortemente associada à redução de neurotransmissores como serotonina, noradrenalina e dopamina. Essa teoria é suportada pelo fato de que muitos antidepressivos, como os ISRS e os IRSN, atuam diretamente nesse sistema (Planchez, Surget, Belzung, 2019). No contexto neuroendócrino, a desregulação do eixo HPA leva ao excesso de cortisol e à dessensibilização de seus receptores, contribuindo para comportamentos depressivos (Johnston *et al.*, 2023). Além disso, níveis reduzidos de BDNF e suas vias de sinalização comprometem a neuroplasticidade, resultando em perda neuronal e diminuição da neurogênese, características frequentemente observadas na depressão (Chakrapani *et al.*, 2020).

A ansiedade, em sua forma adaptativa, é uma resposta natural a ameaças imprevisíveis. No entanto, os transtornos de ansiedade patológica surgem quando esses sintomas interferem negativamente na vida cotidiana (Chavanne; Robinson, 2021). Esses transtornos são caracterizados por medo intenso, ansiedade prolongada, angústia e episódios de pânico, estando relacionados a disfunções nos circuitos cerebrais que regulam as respostas ao perigo. Fatores genéticos, ambientais e suas interações epigenéticas desempenham um papel significativo no risco de desenvolver transtornos de ansiedade (Penninx; Pine; Holmes; Reif, 2021). Os transtornos de ansiedade, assim reconhecidos na quinta edição do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5), incluem transtorno de ansiedade por separação, mutismo seletivo, fobia específica, transtorno de ansiedade social, transtorno de pânico, agorafobia, transtorno de ansiedade generalizada, transtorno de ansiedade induzida por substância ou medicamento e transtorno de ansiedade devido a outra condição (APA *et al.*, 2014).

A patogênese dos transtornos de ansiedade é multifacetada, envolvendo fatores genéticos, ambientais e fisiológicos. São associados ao aumento de condições pró-inflamatórias e à ativação do eixo HPA, que afeta a síntese e a recaptação de neurotransmissores como noradrenalina, serotonina, dopamina e ácido gama-aminobutírico (GABA). Desequilíbrios entre o neurotransmissor inibitório GABA e o excitatório glutamato no cérebro são considerados importantes. Além disso, a neuroplasticidade, relacionada ao BDNF, aos glicocorticoides e à inflamação, e novos mecanismos patológicos, como disfunções em canais iônicos, estresse oxidativo e alterações no circuito neural, estão sendo investigados com o avanço das tecnologias (Zhao *et al.*, 2023). O tratamento de primeira linha para transtornos de ansiedade inclui ISRS e IRSN. Os benzodiazepínicos, também utilizados para tratar transtornos de ansiedade, se ligam ao receptor GABA-A e reduzem a excitabilidade neuronal ao aumentar a entrada de íons cloreto, mas seu uso prolongado pode causar dependência (Bandelow, 2020).

## 2.2 FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DO ENCÉFALO (BDNF) E TRANSTORNOS DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO

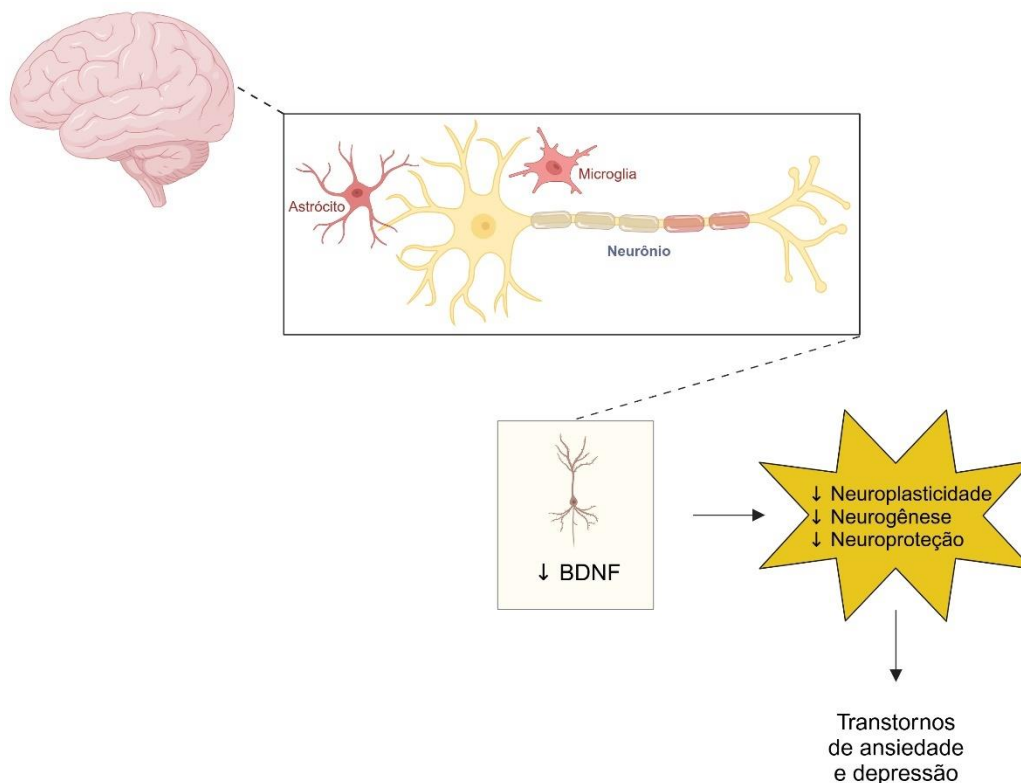
As neurotrofinas, proteínas sintetizadas pelo cérebro, desempenham um papel essencial na manutenção da função neuronal e estão implicadas na fisiopatologia de

diversas doenças neuropsiquiátricas. Dentre elas, o BDNF destaca-se como a mais abundante e amplamente distribuída no SNC, sendo fundamental para a plasticidade neuronal (Ateaque; Merkouris; Barde, 2023). Essa neurotrofina regula processos como crescimento, diferenciação, sobrevivência e reparo neuronal, além de desempenhar um papel central na plasticidade sináptica e na manutenção da integridade estrutural e funcional dos neurônios (Lewin; Barde, 1996; Zarza-Rebollo *et al.*, 2024; De Assis; Murawska-Cialowicz, 2024). Suas maiores concentrações estão no hipocampo e no córtex cerebral, regiões essenciais para a regulação cognitiva e emocional e frequentemente associadas à fisiopatologia de transtornos como ansiedade e depressão (Hofer *et al.*, 1990; Tsai, 2018; Zelada *et al.*, 2023).

A expressão do BDNF é controlada por um gene composto por 11 exons e regulado por nove promotores distintos, permitindo um refinado mecanismo de modulação da sua síntese e função no SNC (Pruunsild *et al.*, 2007; Lin; Huang, 2020). Seus efeitos são mediados pelo receptor tirosina quinase B (TrkB), cuja ativação desencadeia cascatas de sinalização intracelulares envolvidas na neuroplasticidade e na neurogênese (Nagappan; Lu, 2005; Tsai, 2018). Essas vias não apenas garantem a manutenção da integridade neuronal, mas também desempenham um papel crucial na resposta do SNC a estímulos ambientais e ao estresse (Lin; Huang, 2020).

Evidências sugerem que a redução dos níveis de BDNF está associada à fisiopatologia da ansiedade e da depressão, particularmente no hipocampo e no córtex pré-frontal, áreas essenciais para a regulação emocional e a adaptação neuronal (Chakrapani *et al.*, 2020; Yin *et al.*, 2022; Zhao *et al.*, 2023) (Figura 1). Esse achado destaca o BDNF como um potencial biomarcador e alvo terapêutico para essas condições.

Figura 1 – Mecanismo do BDNF no SNC e seu possível envolvimento nos transtornos de ansiedade e depressão



Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

### 2.3 ESTRESSE OXIDATIVO E DEFESA ANTIOXIDANTE

O estresse oxidativo, conforme definido por Helmut Sies, ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e a capacidade antioxidante do organismo, o que pode causar danos celulares (Cadenas; Sies, 1985; Forman; Zhang, 2021). Esse desequilíbrio afeta macromoléculas essenciais, como ácidos nucleicos, lipídios e proteínas, promovendo mudanças em sua estrutura e função. A peroxidação lipídica, por exemplo, resulta na formação de subprodutos como o malondialdeído (MDA) e o 4-hidroxinonenal (4-HNE). Já a oxidação de proteínas, como os grupos tiol, pode comprometer suas funções biológicas (Pisoschi; Pop, 2015; Hassan *et al.*, 2022).

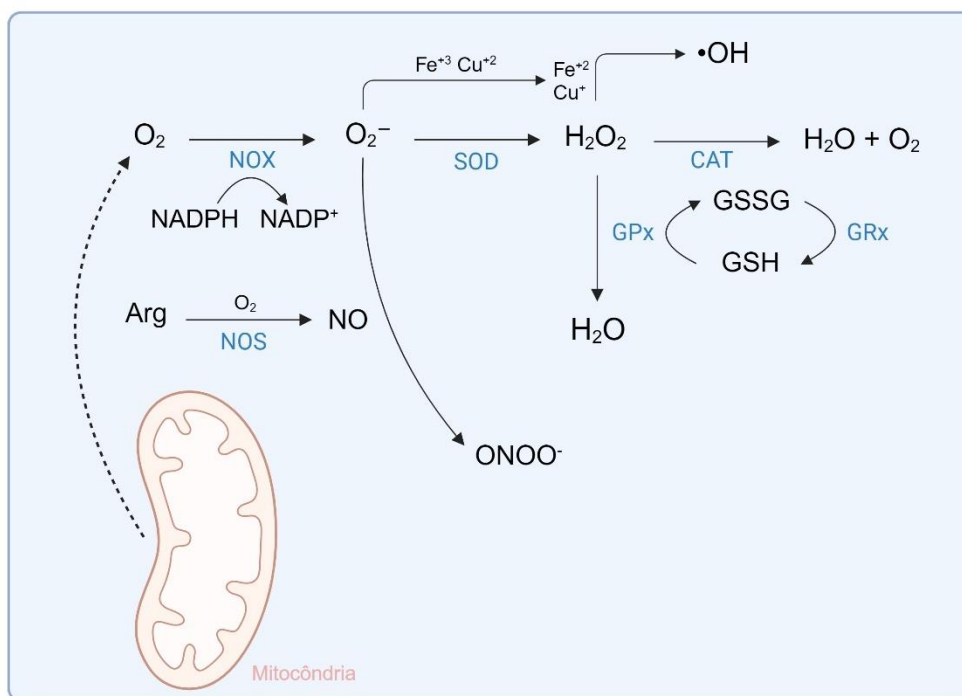
A fosforilação oxidativa, que ocorre nas mitocôndrias, é essencial para a produção de trifosfato de adenosina (ATP), mas também gera radicais livres, como ERO, espécies reativas de nitrogênio (ERN) e radicais centrados em carbono e

enxofre. As principais ERO incluem o ânion superóxido ( $O_2^-$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxila ( $\bullet OH$ ), o qual é extremamente reativo e pode ser produzido tanto pela reação de Fenton, envolvendo água e íons ferrosos ou cúpricos, quanto pela reação de Haber-Weiss, que ocorre entre  $O_2^-$  e  $H_2O_2$  na presença de metais. Entre as diversas fontes de ERO, as NADPH-oxidases (NOX) se destacam, gerando  $O_2^-$  ao transferirem elétrons do fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida (NADPH) para o oxigênio molecular. Além disso, o óxido nítrico (NO), ERN importante, é sintetizado a partir da L-arginina pela óxido nítrico sintase (NOS), processo que requer cofatores como NADPH, oxigênio e tetraidrobiopterina. O peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), formado pela reação entre  $O_2^-$  e NO, também é considerado uma ERN relevante (Pero *et al.*, 1990; Valko *et al.*, 2007; Martemucci *et al.*, 2022).

Embora sejam fundamentais para a sinalização celular e a defesa contra patógenos, radicais livres em excesso podem danificar lipídios, proteínas e ácido desoxirribonucleico (DNA), resultando em morte celular (Black *et al.*, 2015). Para manter a homeostasia, os antioxidantes desempenham um papel essencial como mecanismos de defesa, podendo ser enzimáticos ou não enzimáticos. Os antioxidantes enzimáticos incluem a superóxido dismutase (SOD), a glutathione peroxidase (GPx), glutathione redutase (GRx) e a catalase (CAT). Entre os antioxidantes não enzimáticos, destacam-se ácido lipóico, glutathione (GSH), L-arginina, ácido úrico, bilirrubina e nutrientes antioxidantes (Tauffenberger; Magistretti, 2021; Martemucci *et al.*, 2022).

A enzima SOD, primeira linha de defesa antioxidante, catalisa a dismutação do  $O_2^-$ , convertendo-o em  $H_2O_2$  e oxigênio. A CAT, em seguida, decompõe o  $H_2O_2$  gerado nessa reação. Paralelamente, a GSH desempenha um papel crucial na detoxificação de ERO pela GPx, que converte em glutathione oxidada (GSSG), sendo restaurada pela GRx, garantindo o equilíbrio redox (Nuhu *et al.*, 2020; Ali *et al.*, 2020) (Figura 2).

Figura 2 – Esquema da formação de radicais livres e da defesa antioxidante



Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

## 2.4 ESTRESSE OXIDATIVO E TRANSTORNOS DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO

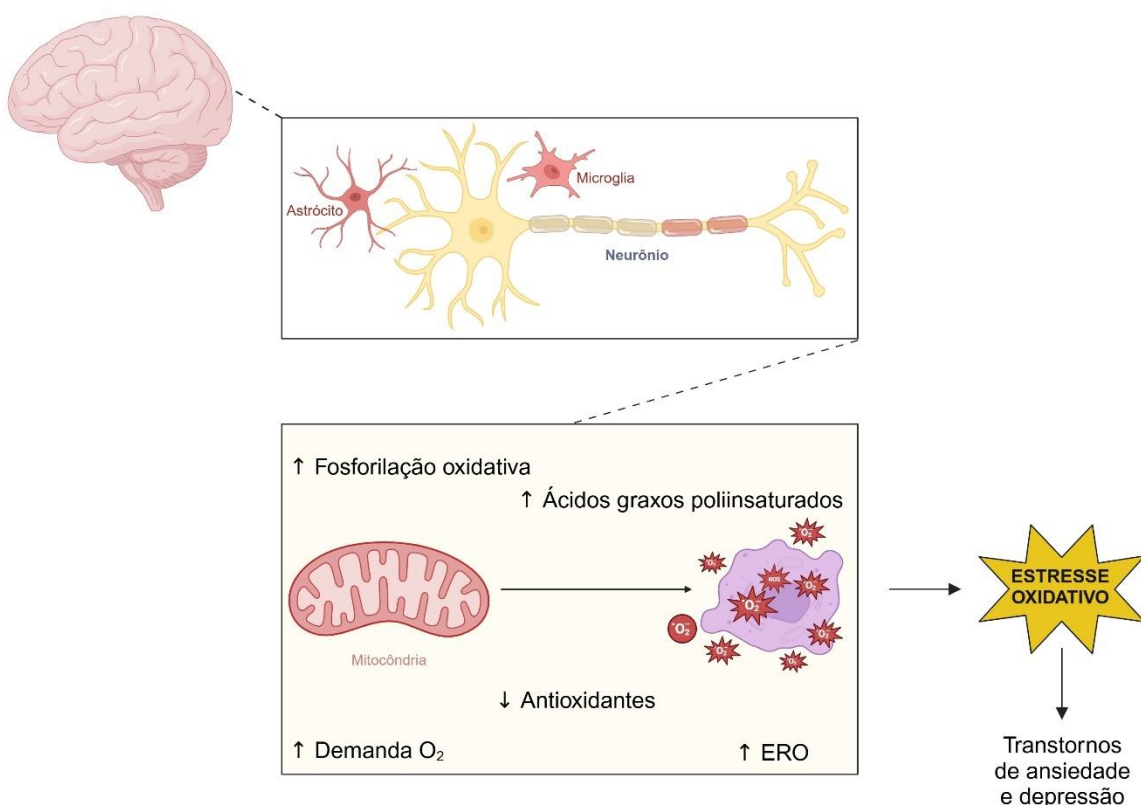
Neurônios, astrócitos e células da microglia, por serem ricos em mitocôndrias e enzimas NOX, são grandes produtores de ERO (Nayernia; Jaquet; Krause, 2014; Culmsee *et al.*, 2018; Ji *et al.*, 2023). Além disso, o cérebro, com sua elevada demanda de oxigênio e sua superfície cortical rica em ácidos graxos poliinsaturados, torna-se altamente vulnerável ao estresse oxidativo. Essa vulnerabilidade é agravada pela baixa presença de antioxidantes, o que compromete sua capacidade de defesa contra danos oxidativos (Patel, 2016; Cobley; Fiorello; Bailey, 2018; Bhatt; Nagappa; Patil, 2020; Hassan *et al.*, 2022; Ji *et al.*, 2023) (Figura 3).

O equilíbrio entre processos oxidativos e antioxidantes em indivíduos com transtornos de ansiedade e depressão encontra-se comprometido, evidenciado no aumento das ERO e na disfunção de enzimas antioxidantes, como a SOD, CAT e GPx. A incapacidade dessas enzimas de neutralizar eficazmente os radicais livres gerados pelo metabolismo celular resulta no acúmulo de espécies reativas, o que pode comprometer a estrutura e função cerebral, contribuindo, assim, para a patogênese

de transtornos de ansiedade e depressão (Vaváková; Ďuračková; Trebatická, 2015; Wang *et al.*, 2023).

De fato, estudos apontam um desequilíbrio nos níveis de marcadores oxidativos, como MDA, SOD, CAT, GSH e GSSG, no hipocampo e córtex pré-frontal de roedores com comportamento ansioso e depressivo. Assim, o estresse oxidativo desempenha um papel central na fisiopatologia desses transtornos, destacando a importância de intervenções que restaurem o equilíbrio redox como estratégia terapêutica (Tang *et al.*, 2015; Mokhtari-Zaer *et al.*, 2018; Martín-Hernández *et al.*, 2018; Bashiri *et al.*, 2020; Famitafreshi; Karimian, 2020; Ergenc *et al.*, 2022).

Figura 3 – Mecanismo do estresse oxidativo no SNC e seu possível envolvimento nos transtornos de ansiedade e depressão



Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

## 2.5 ANSIEDADE, DEPRESSÃO E ESTRESSE OXIDATIVO: IMPACTO DAS DIFERENÇAS SEXUAIS

Transtornos psiquiátricos, como ansiedade e depressão, são mais frequentes em mulheres, que também apresentam maior sensibilidade a psicofármacos (Ekhart *et al.*, 2018; Lovick; Zangrossi JR, 2021; Ferrari *et al.*, 2024). No entanto, estudos em modelos animais têm sido predominantemente realizados com machos (McCarthy; Woolley; Arnold, 2017; Hughes, 2019). Para reduzir esse viés, o *National Institutes of Health* (NIH) estabeleceu diretrizes para equilibrar o uso dos sexos, mas ainda há lacunas na inclusão de fêmeas (Clayton; Collins, 2014; Lovick; Zangrossi JR, 2021).

A dificuldade em utilizar modelos animais femininos em pesquisas é associada à variabilidade gerada pelas flutuações hormonais durante o ciclo estral. Esses hormônios, estrogênio ( $17\beta$  estradiol) e progesterona, por sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica, criam um ambiente cerebral em constante mudança, o que impacta a neuroquímica cerebral e é relevante para o desenvolvimento de tratamentos específicos (Lovick; Zangrossi JR, 2021).

Quanto aos testes comportamentais, o LTE apresenta comparações limitadas entre machos e fêmeas, sem diferenças significativas na esQUIVA inibitória ou na fuga em ratos Wistar (Gouveia JR *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2014). No CA, fêmeas exibem maior atividade exploratória, indicando menor nível de ansiedade ao acessar a zona central (Archer, 1975; Masur; Schutz; Boerngen, 1980). No CE, a maioria dos estudos não observa diferenças significativas entre os sexos (Amodeo *et al.*, 2018; Yohn *et al.*, 2019). No NF, fêmeas apresentam menor imobilidade que machos, efeito influenciado pelos níveis de estrogênio e progesterona (Alonso *et al.*, 1991; Barros; Ferigolo, 1998; Contreras; Martínez-Mota; Saavedra, 1998; Galea; Wide; Barr, 2001; Andrade *et al.*, 2010; Gómez *et al.*, 2014; Fernández-Guasti *et al.*, 2017). No teste de PPS, machos e fêmeas apresentam desempenho semelhante (Fonseca-Rodrigues *et al.*, 2022).

Por outro lado, estudos tanto clínicos quanto experimentais indicam que os homens tendem a apresentar níveis mais elevados de estresse oxidativo em comparação às mulheres (Ide *et al.*, 2002; Borrás *et al.*, 2003; Miller *et al.*, 2007; Khalifa *et al.*, 2017; Tenkorang; Snyder; Cunningham, 2018).

Visto isso, compreender essas diferenças é essencial para o desenvolvimento de terapias mais eficazes, levando em conta a influência do sexo na resposta aos transtornos psiquiátricos e ao estresse oxidativo.

## 2.6 ALECRIM-DO-CAMPO (*Baccharis dracunculifolia*)

*B. dracunculifolia*, descrita pelo botânico suíço Augustin Pyramus de Candolle em 1836, pertence à família Asteraceae e é amplamente encontrado na América do Sul, com destaque para países como Argentina, Brasil, Bolívia, Paraguai e Uruguai. No Brasil, essa planta medicinal é conhecida por diversos nomes populares, incluindo "alecrim-bassoura", "vassoura", "vassourinha", "vassoureira", "vassourão", "bassoura branca" e "erva-de-São-João-Maria" (Alves *et al.*, 2018; Casagrande *et al.*, 2018; Bonin *et al.*, 2020; Minteguiaga *et al.*, 2021; Gazim *et al.*, 2022) (Figura 4).

Sua composição química está intimamente ligada à própolis verde brasileira, produzida a partir da resina coletada por abelhas *Apis mellifera* dos fragmentos vegetativos da planta, como brotos e folhas jovens. Essa resina, ao ser misturada com cera e secreções glandulares nas colmeias, resulta em própolis verde, que contém elevados níveis dos mesmos compostos resinosos, como flavonoides e derivados do ácido cumárico, encontrados na *B. dracunculifolia* (Bankova *et al.*, 1999; Lima *et al.*, 2014; Rodrigues *et al.*, 2020).

Além de interagir com abelhas, *B. dracunculifolia* também está associada a insetos galhadores, como *Baccharophema dracunculifoliae* (Hemiptera, Psyllidae), que infestam suas folhas nos estágios imaturos (Espírito-Santo; Fernandes, 1998; Arduin; Fernandes; Kraus, 2005; Rodrigues *et al.*, 2020). A presença desses insetos pode alterar a qualidade dos compostos secundários da planta, influenciando sua resposta a fatores abióticos e bióticos, como a taxa de visitação das abelhas, e, conseqüentemente, a produção de própolis verde (Bastos *et al.*, 2011; Rodrigues *et al.*, 2020).

Pesquisas com interesse na caracterização química da planta revelam a presença de diversos compostos, incluindo fenólicos, flavonoides, terpenos, esteroides e alcaloides (Park *et al.*, 2004; De Sousa *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2010; Rocha *et al.*, 2024). Entre esses, os compostos fenólicos se destacam por sua abundância e por estarem diretamente associados aos efeitos biológicos (Rodrigues *et al.*, 2020). No grupo dos fenólicos, ácidos como o p-cumárico, ferúlico, cafeico e cinâmico são os mais prevalentes (Gazim *et al.*, 2022). Esses ácidos fenólicos podem gerar diversos derivados, como a artepelina C, que é um composto oriundo do ácido cinâmico (Shahinozzaman *et al.*, 2020). Além de seu potencial biológico, este composto é considerado um importante marcador químico da própolis verde (De

Almeida-Junior *et al.*, 2023).

Estudos indicam que *B. dracunculifolia* possui uma ampla gama de atividades biológicas, como propriedades anti-inflamatórias (Dos Santos *et al.*, 2010; Brandenburg *et al.*, 2020; França *et al.*, 2022; Gazim *et al.*, 2022), antiulcerogênicas (Klopell *et al.*, 2007; Lemos *et al.*, 2007; Massignani *et al.*, 2009; Costa *et al.*, 2019; Boeing *et al.*, 2021; Gazim *et al.*, 2022), imunomoduladoras (Burgos *et al.*, 2022; Gazim *et al.*, 2022), neuroprotetoras (França *et al.*, 2022; Gazim *et al.*, 2022), antioxidantes (Veiga *et al.*, 2017; Casagrande *et al.*, 2018; Tomazzoli *et al.*, 2021; Luchesi *et al.*, 2022; Da Silva Monteiro *et al.*, 2022; Gazim *et al.*, 2022), antimicrobianas (Veiga *et al.*, 2017; Casagrande *et al.*, 2018; Salazar *et al.*, 2018; Cazella *et al.*, 2019; Pedrotti; Da Silva Ribeiro; Schwambach, 2019; Bonin *et al.*, 2020; Timbé *et al.*, 2021; Barbosa *et al.*, 2022; Bernardes *et al.*, 2022; Da Silva Monteiro *et al.*, 2022; Gazim *et al.*, 2022), antifitopatogênicas (Luchesi *et al.*, 2022; Gazim *et al.*, 2022) e inseticidas (Chaaban *et al.*, 2018; Cazella *et al.*, 2019; Gazim *et al.*, 2022).

Figura 4 – Alecrim-do-campo



Fonte: *Rapid Reference Collection*, (c) *Field Museum of Natural History* - CC BY-NC 4.0. Modificado pela autora.

## 2.7 EFEITO ANSIOLÍTICO E ANTIDEPRESSIVO DO ALECRIM-DO-CAMPO E DOS SEUS CONSTITUINTES QUÍMICOS

Nos últimos anos, a busca por alternativas naturais no tratamento de distúrbios neurológicos tem atraído a atenção de pesquisadores. Entre as plantas medicinais com potencial terapêutico, *B. dracunculifolia* destaca-se por suas diversas propriedades farmacológicas, incluindo neuroprotetora. Um estudo com camundongos portadores de colite ulcerativa demonstrou que o tratamento crônico com extrato de *B. dracunculifolia* apresentou efeito antidepressivo, evidenciado pelo teste de suspensão de cauda (SC), além de ação antioxidante, ao aumentar a atividade da enzima SOD e os níveis de GSH no hipocampo (França *et al.*, 2022). Posteriormente, foi possível evidenciar o efeito antianedônico do tratamento crônico com extrato de *B. dracunculifolia* por meio do teste de preferência por sacarose (PPS) em ratas fêmeas ovariectomizadas osteoartríticas (Laranjeira *et al.*, 2024).

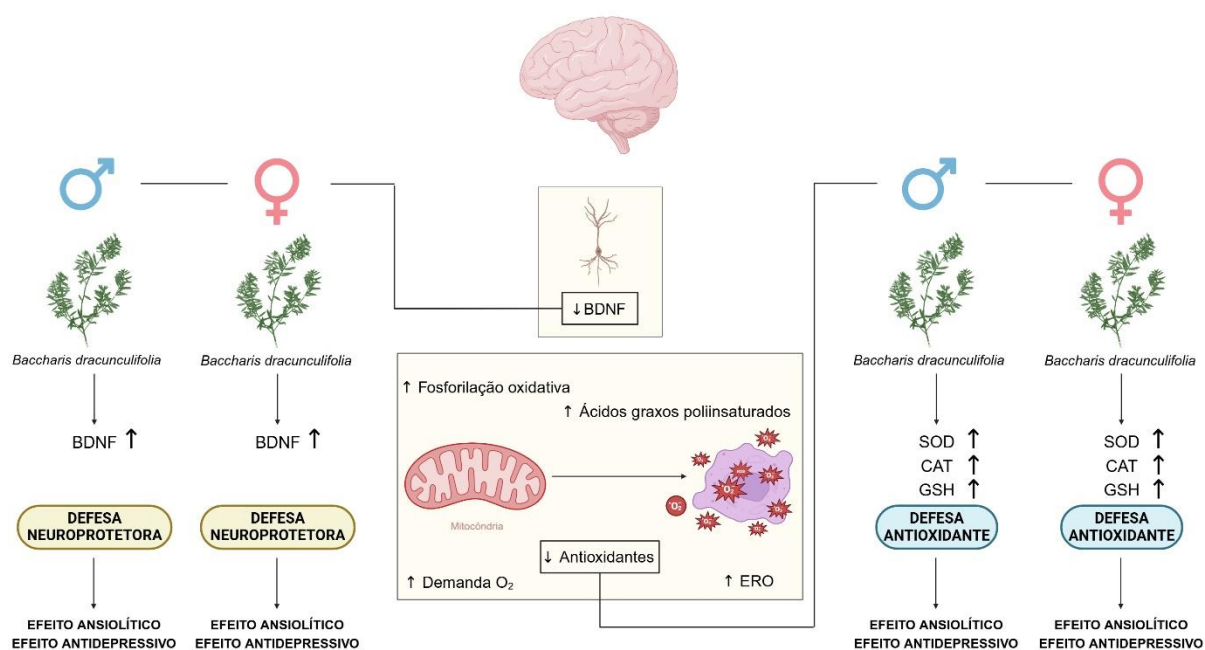
Os compostos fenólicos e terpenoides presentes em *B. dracunculifolia* têm sido destacados como principais responsáveis por suas atividades no SNC. Estudos sugerem que o ácido p-cumárico exerce um efeito neuroprotetor significativo, principalmente por sua capacidade de inibir o estresse oxidativo (Chen *et al.*, 2024). Ainda, pesquisas demonstraram que o ácido cafeico apresentou efeitos ansiolíticos e antidepressivos em camundongos submetidos a estresse crônico nos testes comportamentais labirinto em cruz elevado (LCE), transição claro-escuro (CE), nado forçado (NF) e SC (Lee *et al.*, 2014; Toratani *et al.*, 2014; Kulkarni *et al.*, 2021). Ademais, um estudo com  $\beta$ -pineno demonstrou aumento de BDNF no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos, resultando em efeitos ansiolíticos no teste de LCE e antidepressivos no NF (Díaz-Cantón *et al.*, 2024). Em ratos submetidos a estresse crônico de contenção, o D-limoneno elevou o BDNF no hipocampo e apresentou efeito antidepressivo no teste de PPS (Alkanat; Alkanat, 2024). Da mesma forma, o ácido p-cumárico aumentou o BDNF no hipocampo de camundongos com estresse de restrição crônico e apresentou efeito antidepressivo no teste de SC (Cao *et al.*, 2024).

Ainda, devido à similaridade entre a composição de *B. dracunculifolia* e a própolis verde, estudos com a própolis verde também demonstraram efeito ansiolítico e antidepressivo em animais. Li *et al.* (2012) relataram que o óleo essencial de própolis atenuou o comportamento ansioso, além de reduzir MDA e aumentar a atividade de SOD no cérebro de camundongos submetidos ao estresse de contenção. Em outro

estudo, a administração aguda de extrato de própolis verde demonstrou efeitos ansiolíticos e antidepressivos, aumentando a locomoção central e as entradas nos braços abertos nos testes de campo aberto (CA) e LCE, além de reduzir o tempo de imobilidade no NF e diminuir os níveis de NO no soro de ratas Wistar (Reis *et al.*, 2014).

Assim, a hipótese deste estudo propõe que o tratamento crônico com o extrato de *B. dracunculifolia* promova efeitos ansiolíticos e antidepressivos em modelo animal, mediados pelo aumento da expressão de BDNF e das defesas antioxidantes no SNC (Figura 5).

Figura 5 – Esquema da hipótese do estudo



Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

### 3 JUSTIFICATIVA

A ansiedade e a depressão estão entre os transtornos mais prevalentes e debilitantes, frequentemente associados ao aumento de estresse oxidativo e à redução da expressão do BDNF no SNC. A busca por tratamentos que não apenas aliviem os sintomas, mas também atuem na redução do dano oxidativo e na promoção da neuroproteção tem ganhado destaque. Nesse contexto, *B. dracunculifolia* emerge como uma planta medicinal promissora, devido às suas propriedades antioxidantes e neuroprotetoras, que podem modular mecanismos-chave envolvidos na fisiopatologia desses transtornos. Estudos sugerem que a redução do estresse oxidativo e o aumento dos níveis de BDNF representam estratégias terapêuticas relevantes no tratamento da ansiedade e depressão, reforçando a importância de investigar o potencial ansiolítico e antidepressivo do extrato dessa planta em modelos animais. Além disso, a avaliação dos efeitos do extrato em machos e fêmeas é essencial, considerando as diferenças biológicas e neuroendócrinas entre os sexos, que podem influenciar a resposta aos tratamentos. Dessa forma, esta pesquisa visa preencher lacunas no conhecimento sobre terapias fitoterápicas, contribuindo para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas mais eficazes e abrangentes no manejo desses transtornos. Assim, a hipótese deste trabalho é que o extrato de *B. dracunculifolia* exerça efeito ansiolítico e antidepressivo em ratos machos e fêmeas, mediado por sua ação neuroprotetora e antioxidante.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito ansiolítico, antidepressivo e antioxidante do extrato de *B. dracunculifolia* em modelo animal.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar o efeito do tipo ansiolítico em ratos Wistar machos e fêmeas tratados com extrato de *B. dracunculifolia* em testes comportamentais (labirinto em T elevado (LTE), CA e CE).
- b) Avaliar o efeito do tipo antidepressivo em ratos Wistar machos e fêmeas tratados com extrato de *B. dracunculifolia* em testes comportamentais (NF e PPS).
- c) Avaliar o efeito antioxidante nos encéfalos de ratos Wistar machos e fêmeas tratados com extrato de *B. dracunculifolia* através de análises oxidativas de GSH, CAT, SOD e espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).
- d) Avaliar o efeito neuroprotetor em estruturas cerebrais de ratos Wistar machos e fêmeas tratados com extrato de *B. dracunculifolia* através de análises da expressão de BDNF pela técnica de *Western blotting*.

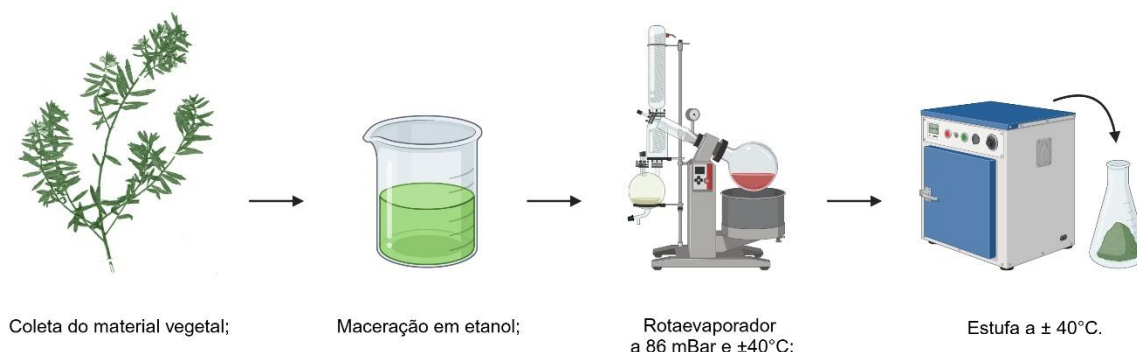
## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 EXTRATO DO ALECRIM-DO-CAMPO

#### 5.1.1 Coleta do material vegetal e preparo do extrato

Folhas de *B. dracunculifolia* foram coletadas em uma região de cultivo da planta, dentro da propriedade da mineradora Samarco S. A. A coleta foi realizada no período da manhã, entre 7 e 11 horas, durante a estação de verão, armazenadas em sacos plásticos e transportadas para o Laboratório de Fisiologia Endócrina e Cardiovascular (LFEC) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) no Campus Morro do Cruzeiro, para seleção, lavagem e pesagem. Uma vez pesadas, as folhas foram imersas em etanol 95 a 97% P.A., em uma proporção 1:1,5 (folhas:etanol) e permaneceram no processo de maceração por 10 dias, em temperatura ambiente e ao abrigo de luz. A fase líquida foi filtrada e um novo lote de etanol 95 a 97% P.A. foi adicionado às folhas até total imersão, sempre na mesma proporção 1:1,5. Uma terceira maceração foi realizada, seguindo os mesmos procedimentos anteriores. As frações líquidas foram reunidas, misturadas e o etanol foi evaporado em rota evaporador a 86 mBar de pressão e  $\pm 40^{\circ}\text{C}$  (Grance *et al.*, 2008) (Figura 6). O fluido resultante foi seco em estufa a  $\pm 40^{\circ}\text{C}$ , gerando o extrato etanólico de *B. dracunculifolia*, com rendimento de 31,4% (Batista, 2024).

Figura 6 – Preparo do extrato



Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

### 5.1.2 Determinação do teor de compostos fenólicos e flavonoides

As análises fitoquímicas iniciais do extrato etanólico de *B. dracunculifolia* foram realizadas por meio da dosagem de compostos fenólicos totais e flavonoides. Para dosagem dos compostos fenólicos totais foi utilizada a técnica de Folin-Ciocateau, que consiste na solubilização de 0,0025 g do extrato etanólico de *B. dracunculifolia* em 2,5 mL de etanol P.A, com preparo de soluções de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 1,5% p/v com volume final de 10 mL em água Milli Q e 10 mL de ácido gálico na concentração de 1 mg/mL, pesando 0,1 g de ácido gálico em 10 mL de etanol P.A. A leitura da análise foi realizada através do equipamento de leitor de microplaca (*Molecular Devices*) a 640 nm (Da Silva *et al.*, 2014). Em conjunto, foi realizada a dosagem de flavonoides por meio da técnica da reação de cloreto de alumínio. O preparo consiste na pesagem de 0,0025 g do extrato etanólico de *B. dracunculifolia*, solubilizado em 2,0 mL de etanol P.A, com as soluções de cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ) 10% p/v com volume final de 10 mL em água Milli Q. Acetato de potássio ( $\text{CH}_3\text{COOK}$ ) 1 mol por litro em volume final de 10 mL de água Milli Q. Com o preparo da solução padrão de quercetina 0,2 mg/mL com volume final de 10 mL de água Milli Q. A leitura foi realizada através do equipamento de leitor de microplaca (*Molecular Devices*) a 450 nm. Todas as dosagens foram realizadas em triplicata com uso de placa de cultura de células de 96 poços (Bezerra *et al.*, 2018).

De acordo com os resultados obtidos, o teor de compostos fenólicos foi 17,8%  $\mu\text{g}/\text{mg}$  e de flavonoides foi 14%  $\mu\text{g}/\text{mg}$  (Batista, 2024).

### 5.1.3 Análise de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EMS)

Para identificação de compostos por meio da técnica de CG-EMS, foi realizado o fracionamento do extrato de *B. dracunculifolia*, utilizando 5 g para obter as frações polares e apolares. Para tanto, o extrato foi solubilizado em metanol e água na proporção de 7:3 (metanol:água) e foi alocado ao equipamento de ultrassom (*Gnatus*) durante 30 minutos. Assim que solubilizado, o extrato foi adicionado a um funil de separação e foi acrescentado hexano na proporção de 7:3:5 (metanol:água:hexano). Esse processo de fracionamento por hexano foi realizado três vezes, mantendo sempre a proporção. Por fim, o fracionamento gerou as frações apolares (hexanica),

ambas as frações foram armazenadas no dissecador para garantir a completa remoção dos solventes e assim acondicionadas a temperatura de  $\pm 4^{\circ}\text{C}$  (Singh *et al.*, 2007). O preparo das amostras que foram injetadas no equipamento, consistiu ressuspender as frações hexânicas em hexano grau cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e coletar de cada uma das frações hexânicas, 300  $\mu\text{L}$  que foram armazenadas em tubos vials com limitadores de volume. Com as amostras secas, todas foram ressuspensas com piridina na proporção de 3:1 (frações do extrato:piridina) e injetadas ao equipamento *Shimadzu GC-2010* acoplado ao espectrômetro de massas *QP-2010 Plus*, equipado com uma coluna *DB5-MS* (30 m x 0,25 mm; espessura do filme de 0,25  $\mu\text{m}$ ). A configuração utilizada: temperatura do injetor,  $250^{\circ}\text{C}$ ; temperatura da interface,  $280^{\circ}\text{C}$ ; programa de aquecimento da coluna:  $60^{\circ}\text{C}$  (3 minutos), depois  $6^{\circ}\text{C}$  por minuto até  $280^{\circ}\text{C}$  (5 minutos); utilizando o hélio como gás transportador; as injeções foram realizadas no volume de 1,0  $\mu\text{L}$ , por meio de um injetor automático *Shimadzu AOC-20i* (Besten *et al.*, 2015) (Figura 7). As análises dos espectros de CG-EMS foram realizadas por meio do *software CG-EMS Postrun Analysis* disponibilizado pelo Laboratório de Caracterização Molecular e Espectrometria de Massas (LABMASSAS) da UFOP. A identificação dos compostos foi realizada por meio da biblioteca *NIST MS Search 2.0*. Para computar qualitativamente os compostos presentes nas frações do extrato, foram utilizados alguns parâmetros, como intensidade mínima dos picos de 200.000. Ademais, só foram identificados compostos com similaridade superior a 80% (Batista, 2024). Tempo de retenção em minutos (TR); Massa molecular (MM); Estruturas químicas produzidas pelo *software ACD/ChemSketch* (ANEXO A).

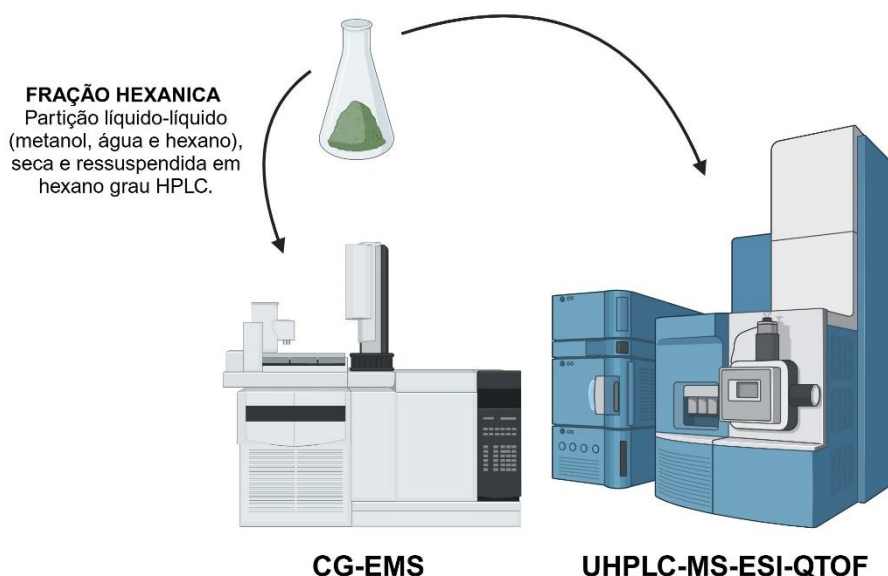
#### **5.1.4 Análise de cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (UHPLC-MS-ESI-QTOF)**

Análises de espectrometria de massa de alta resolução foram realizadas de acordo com o método descrito por Da Cruz *et al.* (2022). Foi utilizado um sistema *Nexera UHPLC* (*Shimadzu, Kyoto, Japão*) combinado com um espectrômetro de massa *ESI QTOF* de alta resolução *maXis* (*Bruker*) controlado pelo pacote de *software Compass 1.7* (*Bruker*). Uma amostra de 5  $\mu\text{g}$  foi injetada em uma coluna *Shimadzu Shim-Pack XR-ODS-III* (C18, 2,2  $\mu\text{m}$ , 2,0 x 150 mm) a  $40^{\circ}\text{C}$ , com vazão de 400  $\mu\text{L}/\text{minuto}$ . As fases móveis A e B (0,1% de ácido fórmico em água MilliQ e acetoni-

trila, respectivamente) formaram um gradiente de eluente de 5 minutos iniciais de 5% de B a 100% de B em 40 minutos, com retenção em 100% de B por 5 minutos. Após a detecção UV-PDA (190-450 nm), os espectros de massa foram adquiridos em modo positivo a uma taxa de 5 Hz. Os parâmetros da fonte de íons foram ajustados para deslocamento da placa terminal de 500 V, tensão capilar de 4.500 V, pressão do nebulizador de 3,0 Bar e fluxo e temperatura de gás seco de 8 L/minuto e 200°C, respectivamente. Os espectros de fragmentos dependentes de dados foram registrados usando uma faixa de energia de colisão entre 15 e 60 V. As configurações do resfriador de íons foram otimizadas para uma faixa m/z de 100 a 1500, usando uma solução calibrada de formato de sódio 1 mm em 2-propanol a 50%. A calibração de massa foi obtida pela infusão inicial da fonte de íons de 20 µL de solução calibrante e recalibração pós-aquisição dos dados brutos. A detecção do composto foi obtida por dissecação cromatográfica do pico com subsequente determinação da fórmula de acordo com a massa exata e o padrão isotópico (Figura 7). A identificação putativa foi baseada na comparação de espectros de fragmentos de compostos com espectros de referência de um banco de dados interno de compostos padrão, do banco de dados de espectro público *MassBank* e espectros de fragmentos *in-silico* gerados a partir do Produto Natural Universal. Banco de dados (Allard *et al.*, 2010). Número de compostos identificados (N\*), Tempo de retenção em minutos (TR); Massa Molecular (MM); Estruturas químicas produzidas pelo *software ACD/ChemSketch* (ANEXO B).

Observação: A coleta do material vegetal, o preparo do extrato e a caracterização fitoquímica aqui descritos foram realizados em colaboração com a UFOP e os resultados destas análises fazem parte de uma tese de doutorado do grupo do Prof. Dr. Leonardo Máximo Cardoso (Batista, 2024).

Figura 7 – Análise do extrato com CG-EMS e UHPLC-MS-ESI-QTOF



Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

## 5.2 ANIMAIS

Foram utilizados 120 ratos Wistar, 60 machos e 60 fêmeas, com 8 semanas e peso de 200 g, provenientes do biotério da Universidade Federal de Alfenas. Os animais foram retirados do biotério 5 dias antes da data de início do experimento para ambientação, mantidos em caixas de polietileno, com água e ração fornecidas *ad libitum*, sob temperatura controlada (22-25°C) e ciclo claro/escuro de 12 horas. Protocolo experimental submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UNIFAL-MG (0014/2023) (ANEXO C).

## 5.3 TESTES COMPORTAMENTAIS

### 5.3.1 Labirinto em T elevado (LTE)

Baseado em um princípio semelhante ao do LCE, o LTE explora a aversão inata dos roedores a espaços abertos e altos (Graeff; Viana; Tomaz, 1993). Como os transtornos de ansiedade são heterogêneos e os modelos comportamentais tradicionais não discriminam subtipos específicos, o LTE foi desenvolvido para

diferenciar esses transtornos. O aparato é composto por três braços elevados: um fechado e dois abertos. A esQUIVA inibitória, associada ao medo aprendido e ao transtorno de ansiedade generalizada, é medida pelo tempo que o animal leva para sair do braço fechado em três tentativas consecutivas. Já a fuga, relacionada ao medo incondicionado e ao transtorno de pânico, é avaliada pelo tempo que o animal demora para escapar do braço aberto, também em três tentativas (Graeff; Netto; Zangrossi, 1998). Sob efeito ansiolítico, o animal tende a apresentar uma redução na latência da esQUIVA inibitória, enquanto, sob efeito panicolítico, observa-se um aumento na latência de fuga (Zangrossi; Graeff, 2014).

O aparato é de MDF e contém três braços com dimensões iguais (50 x 12 cm). Um braço, fechado por uma parede de 40 cm de altura, está perpendicular aos outros dois braços abertos opostos. Para evitar quedas, os braços abertos estão circundados por um aro de acrílico de 1 cm de altura. Todo o aparato está a 50 cm acima do chão.

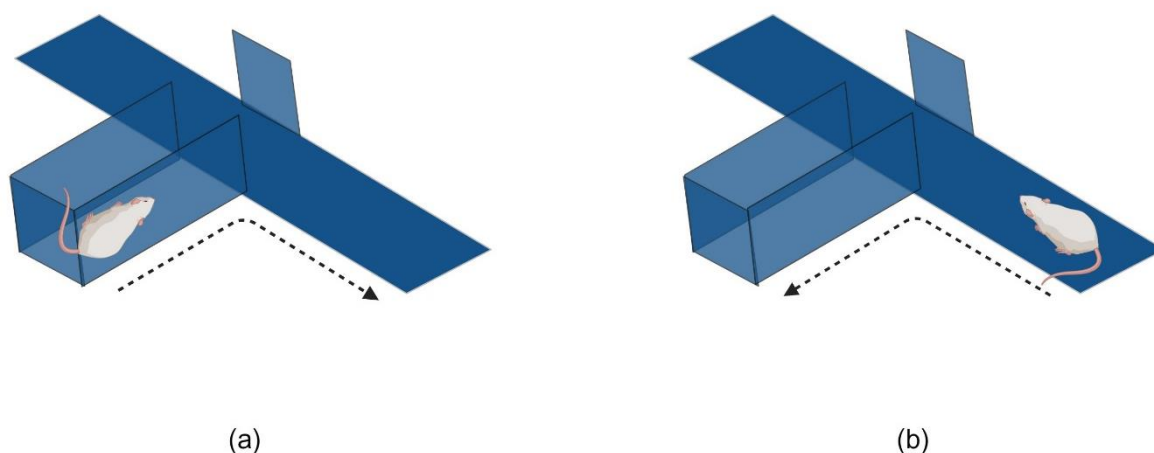
Um dia antes do teste comportamental, os ratos foram expostos a um dos braços abertos do LTE por 30 minutos. Uma barreira foi colocada no limite da área central e o fim proximal do braço aberto, isolando, assim, este braço do resto do aparato.

No dia do experimento, os animais foram primeiro testados para esQUIVA inibitória. Cada animal foi colocado no final distal do braço fechado do aparato de frente para a intersecção entre os braços. O tempo necessário para o animal deixar este braço com as 4 patas foi registrado (latência basal). A mesma medida foi repetida em duas tentativas subsequentes (esQUIVA 1 e esQUIVA 2) em intervalos de 30 segundos (Figura 8a).

Após 30 segundos da terceira tentativa de esQUIVA inibitória, o rato foi colocado no final do mesmo braço aberto que ele previamente experienciou e a latência para deixar esse braço com as 4 patas foi registrada 3 vezes (fuga 1, 2 e 3) com um intervalo de 30 segundos entre cada tentativa (Figura 8b).

Um período de corte de 300 segundos foi estabelecido para as latências de esQUIVA inibitória e fuga. Após as 3 tentativas de esQUIVA inibitória e 3 tentativas de fuga de cada animal, o aparato foi limpo com uma solução de álcool 5% antes da introdução do próximo animal, a fim de evitar possíveis rastros de odor. O teste de cada animal foi gravado em vídeo e analisado posteriormente.

Figura 8 – LTE



Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

Legenda: LTE; (a) esquiva inibitória e (b) fuga.

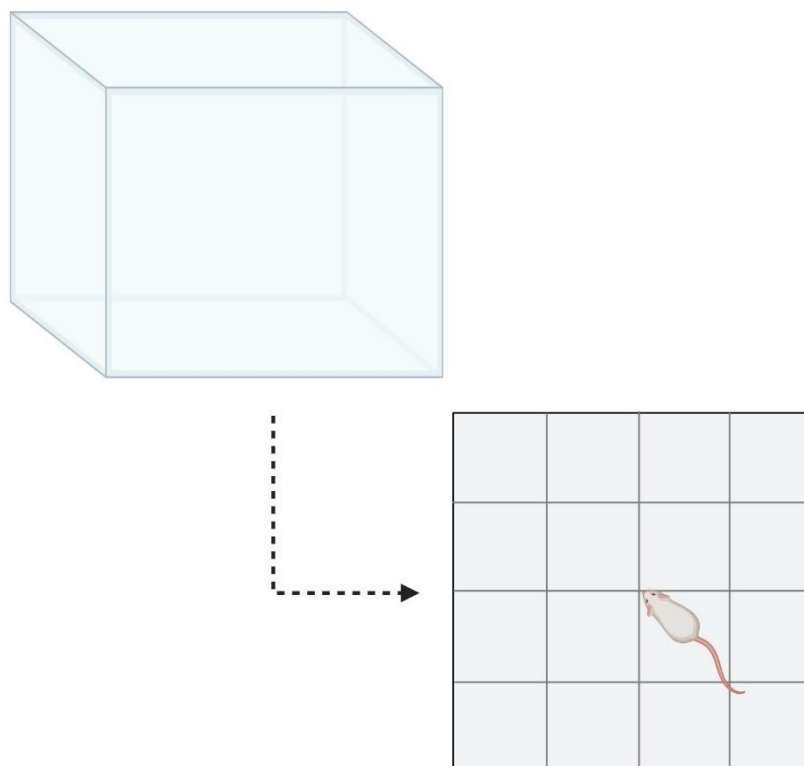
### 5.3.2 Campo aberto (CA)

Desenvolvido por Hall (1934), baseia-se na avaliação da atividade locomotora do animal como indicadora do seu estado emocional. O teste possibilita observar comportamentos relacionados à ansiedade devido ao conflito do animal entre o estímulo de explorar um ambiente novo e o medo gerado por espaços abertos e claros. A avaliação é feita através da comparação entre a exploração da área central (região aversiva) e da área periférica (região segura). Tratamento com ansiolítico tende a aumentar o tempo do animal na área central (Archer, 1973).

O aparato consiste em uma arena quadrada (60 x 60 cm) de acrílico, dividida em 16 quadrantes, com paredes de 30 cm de altura (Figura 9). Cada animal foi colocado, individualmente, no centro da arena e observado por um período de 10 minutos. Após cada observação, o aparato foi limpo com uma solução de álcool 5% antes da introdução do próximo animal, a fim de evitar possíveis rastros de odor.

O teste de cada animal foi gravado em vídeo e analisado pelo *software Any Maze Stoelting* (EUA), que quantificou os seguintes parâmetros: distância total percorrida (cm) na área total (representada pelos 16 quadrantes), tempo (s) e número de entradas na área central (representada pelos 4 quadrantes centrais), tempo na área periférica (s) (representada pelos 12 quadrantes adjacentes às paredes da arena).

Figura 9 – CA



Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

### 5.3.3 Transição claro-escuro (CE)

Este modelo animal caracteriza-se na aversão inata dos roedores a locais com luz forte. Os animais podem explorar livremente um novo ambiente composto por dois compartimentos diferentes: protegido (escuro) e desprotegido (iluminado). É gerado um conflito entre o impulso exploratório e desinteresse pelo compartimento iluminado. Sob efeito ansiolítico, os animais tendem a permanecer mais tempo no compartimento iluminado (Crawley *et al.*, 1980).

O aparato consiste em uma caixa feita em acrílico com as seguintes dimensões: 48 x 24 x 27 cm. A caixa é dividida por uma barreira contendo uma porta (10 x 10 cm), através da qual cada animal poderá atravessar de uma câmara para outra, com tamanhos iguais (24 x 24 x 27 cm): uma de acrílico branco e iluminada, com uma fonte de luz de 50 lux, e outra de acrílico preto, não iluminada (Figura 10).

O animal foi individualmente colocado no meio do compartimento claro de frente

para a passagem que separa os dois compartimentos. Após a primeira transição para o compartimento escuro, o comportamento do animal foi registrado por um período de 5 minutos. Durante este período, o tempo total em que o animal ficou no campo claro, no campo escuro e o número de transições entre os dois compartimentos foram mensurados. Após cada observação, o aparato foi limpo com uma solução de álcool 5% antes da introdução do próximo animal, a fim de evitar possíveis rastros de odor. O teste de cada animal foi gravado em vídeo e analisado posteriormente.

Figura 10 – CE



Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

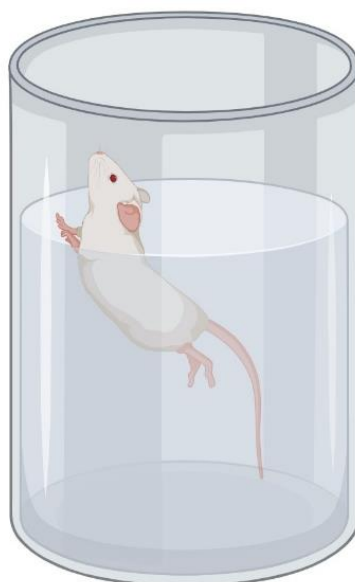
#### 5.3.4 Nado forçado (NF)

Baseia-se na observação de que um roedor, quando confrontado com a necessidade de nadar em uma situação sem saída, após um período inicial de intensa atividade, acabará por cessar o movimento, limitando-se a fazer apenas o essencial para manter a cabeça acima da água. Essa imobilidade comportamental sugere um estado de desespero, em que o animal reconhece a impossibilidade de fuga e se conforma com as condições experimentais. O uso de antidepressivos geralmente diminui o tempo de imobilidade (Porsolt *et al.*, 1977).

O animal foi colocado em um cilindro de vidro, com profundidade mínima de 30 cm, preenchido com água (temperatura de aproximadamente  $28\pm 29^{\circ}\text{C}$ ), durante 5 minutos (Figura 11). O comportamento de cada animal foi filmado, para posterior análise dos parâmetros de nado e imobilidade. Após 5 minutos de teste, o animal foi retirado da água, secado com uma toalha e a água foi trocada para o próximo animal.

Vale ressaltar que cada animal foi submetido a uma exposição prévia de 10 minutos ao NF, 24 horas antes do teste propriamente dito.

Figura 11 – NF



Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

### 5.3.5 Preferência por sacarose (PPS)

A anedonia é definida como uma incapacidade de sentir prazer diante de um estímulo prazeroso e trata-se de um dos sintomas descritos na depressão. Em modelo animal, esse comportamento pode ser investigado por meio do teste de PPS, já que soluções adocicadas geralmente provocam uma resposta hedônica (prazerosa) em roedores. Portanto, um animal sob efeito de um tratamento antidepressivo tende a demonstrar um aumento na preferência por sacarose, indicando uma recuperação do comportamento hedônico (Willner *et al.*, 1987; Leeb *et al.*, 1991).

O protocolo seguiu como descrito no artigo de Fonseca-Rodrigues *et al.* (2022). Uma semana antes do teste, os animais, em suas caixas, foram pré-expostos a duas garrafas, uma contendo água e outra solução de sacarose 2%, por duas horas e foram observados para garantir que todos os animais experimentassem a solução de sacarose. No dia do teste, por volta das 18 horas e 45 minutos, os animais foram transferidos para caixas individuais, idênticas às que estão habituados e, então, foram

oferecidas para eles duas garrafas graduadas (água e sacarose), que ficaram disponibilizadas durante o período ativo (19 horas - 7 horas) (Figura 12). Às 7 horas, as garrafas foram retiradas e foi verificado o volume de água e sacarose ingeridos. A PPS foi obtida considerando a seguinte fórmula:

$$\text{Preferência por sacarose (\%)} = \frac{\text{Ingestão de sacarose}}{\text{Ingestão total (sacarose + água)}} \times 100$$

Observação: Não houve restrição de ração, portanto, ela continuou disponível durante todo o período.

Figura 12 – PPS



Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

#### 5.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Dada a colaboração com a UFOP, a escolha da dose do extrato de *B. dracunculifolia* para o tratamento seguiu os resultados da tese de doutorado do grupo de pesquisa do Prof. Dr. Leonardo Máximo Cardoso (Carlos Batista *et al.*, 2024), enquanto o tempo de tratamento foi definido baseado em um estudo que utilizou extrato da mesma planta e testes semelhantes (França *et al.*, 2022).

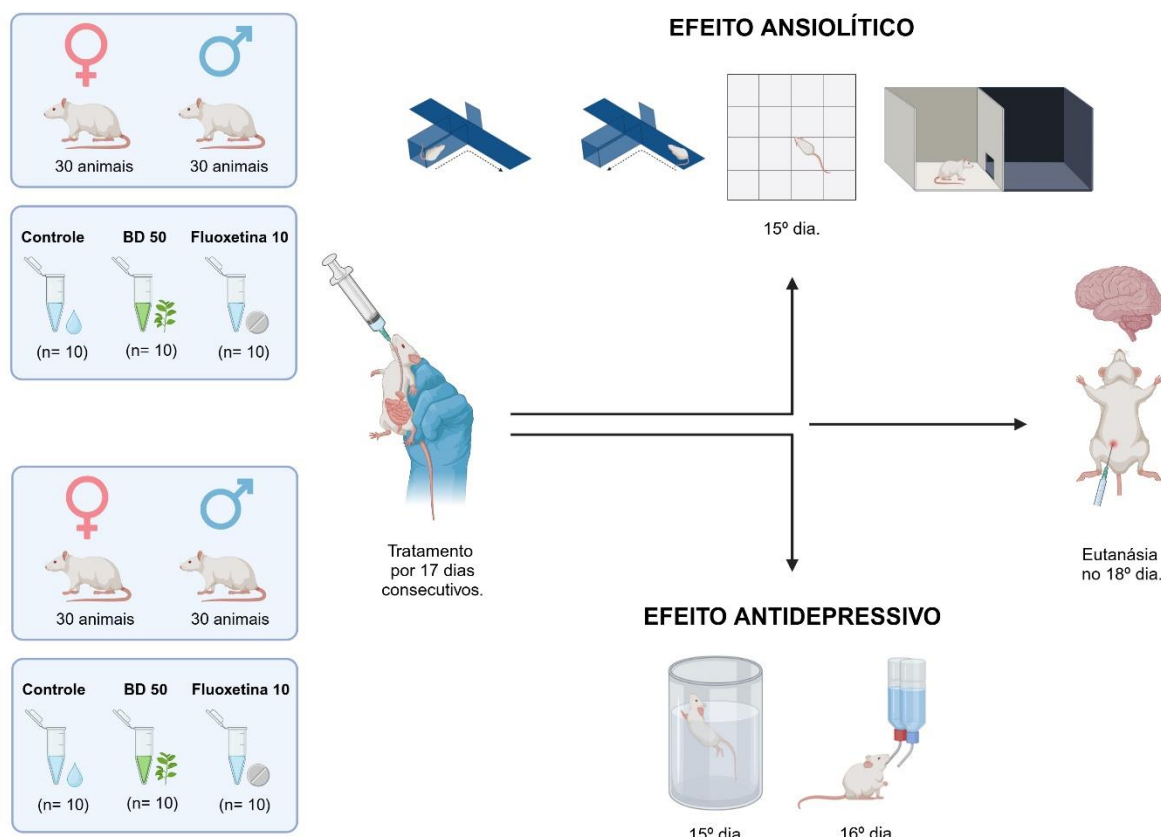
A escolha da dose e do tempo de tratamento do controle positivo, fluoxetina (10 mg/kg), tanto para avaliar efeito ansiolítico quanto para antidepressivo, foi baseada em resultados de estudos anteriores (Mezadri *et al.*, 2011; Ma *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2022; Jahromy; Baghchesara; Javanshir, 2022; Liu *et al.*, 2023; Patil; Aswar; Vyas, 2023).

O tratamento foi realizado ao longo de 17 dias consecutivos, com a administração de 50 mg/kg do extrato de *B. dracunculifolia* (BD 50) e 10 mg/kg de fluoxetina. Para investigar o potencial efeito ansiolítico, os animais foram submetidos aos testes comportamentais de LTE, CA e CE. Além disso, para avaliar o possível efeito antidepressivo do tratamento com BD 50, foram realizados os testes de NF e PPS. Posteriormente, os animais foram eutanasiados e os encéfalos dissecados (Figura 13).

Os animais foram divididos em 3 grupos experimentais, tanto para o estudo do possível efeito ansiolítico (30 machos e 30 fêmeas) quanto antidepressivo (30 machos e 30 fêmeas):

1. **Controle (n= 10):** água destilada (veículo), administrada diariamente, no período da manhã, por via oral em volume não superior a 1 mL, via gavagem, durante 17 dias consecutivos.
2. **BD 50 (n= 10):** solução com extrato de *B. dracunculifolia* 50 mg/kg, administrada diariamente, no período da manhã, por via oral em volume não superior a 1 mL, via gavagem, durante 17 dias consecutivos.
3. **Fluoxetina (n= 10):** solução com fluoxetina (10 mg/kg), administrada diariamente, no período da manhã, por via oral em volume não superior a 1 mL, via gavagem, durante 17 dias consecutivos.

Figura 13 – Delineamento experimental



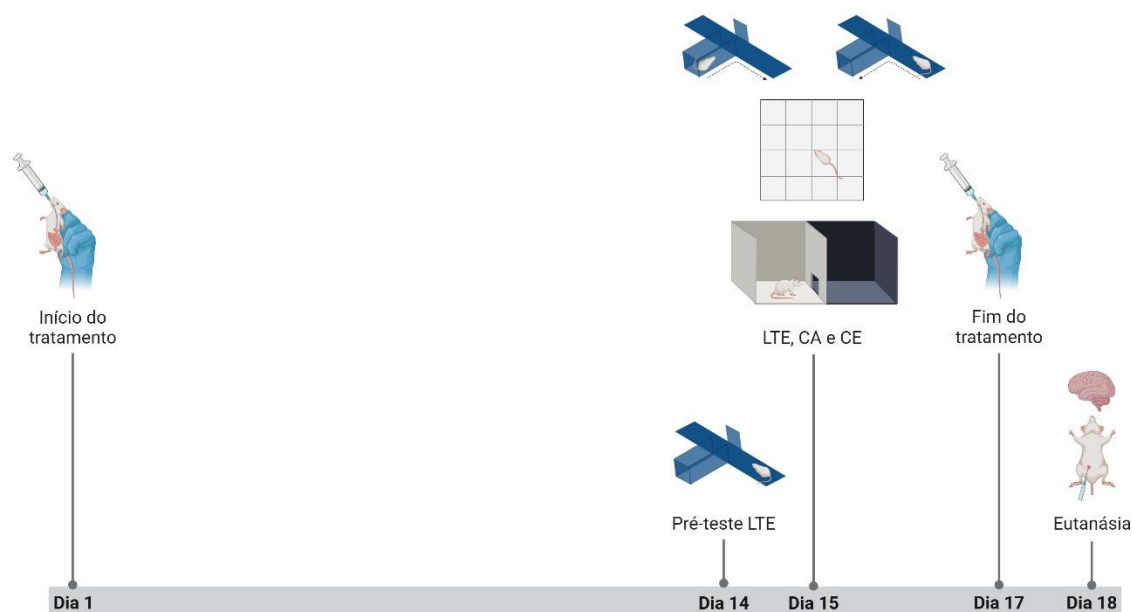
Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

#### 5.4.1 Estudo do possível efeito ansiolítico do extrato de *B. dracunculifolia*

O tratamento com veículo, BD 50 e fluoxetina foi feito por 17 dias consecutivos. No décimo quarto dia de tratamento, os animais foram expostos a um dos braços abertos isolado do LTE por 30 minutos. No dia seguinte, décimo quinto dia de tratamento, foram realizados os testes comportamentais para verificar um possível efeito ansiolítico do BD 50. Primeiramente, foi feito o teste de LTE, com três tentativas de esquiva inibitória e três tentativas de fuga, em seguida o CA por 10 minutos e, por fim, o teste de CE por 5 minutos.

Após o CE, os animais foram tratados por mais dois dias consecutivos, a fim de eliminar a variável dos testes comportamentais nas análises oxidativas. No décimo oitavo dia, os animais foram eutanasiados com cetamina (300 mg/kg) e xilazina (30 mg/kg) e foi feita a retirada dos encéfalos para posteriores análises (Figura 14).

Figura 14 – Linha experimental para estudo do efeito ansiolítico



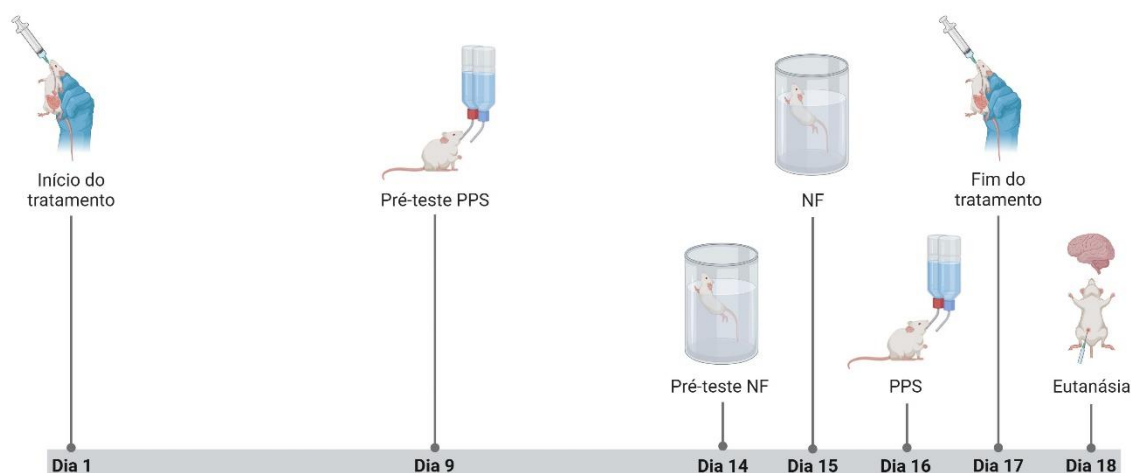
Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

#### 5.4.2 Estudo do possível efeito antidepressivo do extrato de *B. dracunculifolia*

O tratamento com veículo, BD 50 e fluoxetina foi feito por 17 dias consecutivos. No décimo quarto dia de tratamento, os ratos foram expostos ao pré-teste do NF por 10 minutos, sendo que no dia seguinte foi realizado o teste propriamente dito. No décimo sexto dia, no período da noite, foi iniciado o teste de PPS que finalizou no dia seguinte, pela manhã, sendo que o pré-teste foi realizado na semana anterior, no nono dia de tratamento.

Os animais foram tratados no décimo sétimo dia a fim de eliminar a variável dos testes comportamentais nas análises oxidativas. No décimo oitavo dia, os animais foram eutanasiados com cetamina (300 mg/kg) e xilazina (30 mg/kg) e foi feita a retirada dos encéfalos para posteriores análises (Figura 15).

Figura 15 – Linha experimental para estudo do efeito antidepressivo



Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

## 5.5 ANÁLISES OXIDATIVAS

### 5.5.1 Determinação da concentração de proteína

Para os experimentos a seguir, a concentração de proteínas nas amostras foi determinada utilizando o ensaio colorimétrico de Bradford (*Sigma-Science*). Foram pipetados 5  $\mu\text{L}$  de cada amostra, previamente homogeneizada e centrifugada, conforme descrito para cada ensaio abaixo, e 200  $\mu\text{L}$  do reagente de Bradford em uma placa de Elisa de 96 poços. Para a calibração do ensaio, uma curva padrão de albumina de soro bovino (BSA) foi criada com as seguintes concentrações: 0,0625 mg/dL, 0,125 mg/dL, 0,250 mg/dL, 0,5 mg/dL, 1,0 mg/dL e 2,0 mg/dL (Figura 13). A diluição ideal foi selecionada com base na amostra cuja absorvância mais se aproximou do valor médio da curva padrão.

### 5.5.2 Avaliação dos níveis de glutathiona (GSH)

O teste de GSH utiliza o ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico) (DTNB) e fundamenta-se na reação entre a GSH e o DTNB, resultando na formação de um produto colorido. Nesta reação, o DTNB, que contém um grupo sulfidríla (SH), interage

com a GSH presente na amostra, transformando-se em 2-nitro-5-tiobenzoato (TNB). Esse processo ocorre em meio aquoso e resulta em uma coloração amarelada. A intensidade da coloração gerada é diretamente proporcional à concentração de GSH na amostra (Rahman; Kode; Biswas, 2006).

Os encéfalos foram homogeneizados em PBS 10x (pH 7,4) (4 g de NaCl, 0,58 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,1 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,1 g de KCl e q.s.p. 50 mL de água destilada), sendo diluído para 1x no momento do uso. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 3500 rpm por 30 minutos a 4°C. Os sobrenadantes resultantes foram utilizados para o ensaio de GSH. Para medir os níveis de GSH, 100 µL do sobrenadante de cada amostra foi misturado com 100 µL de ácido tricloroacético (0,0125%), agitado em vórtex e mantido no gelo por 30 minutos. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos a 4°C, e o sobrenadante foi transferido para *Eppendorfs* identificados. Posteriormente, 80 µL de cada amostra foi combinado com 200 µL de tampão Tris (pH 8,0) e 5 µL de DTNB em uma placa de Elisa de 96 poços e a absorbância foi medida a um comprimento de onda de 415 nm (Figura 16). Os resultados foram expressos em µg de GSH/mg de proteína, após a normalização com a concentração proteica.

### 5.5.3 Avaliação da atividade tecidual da catalase (CAT)

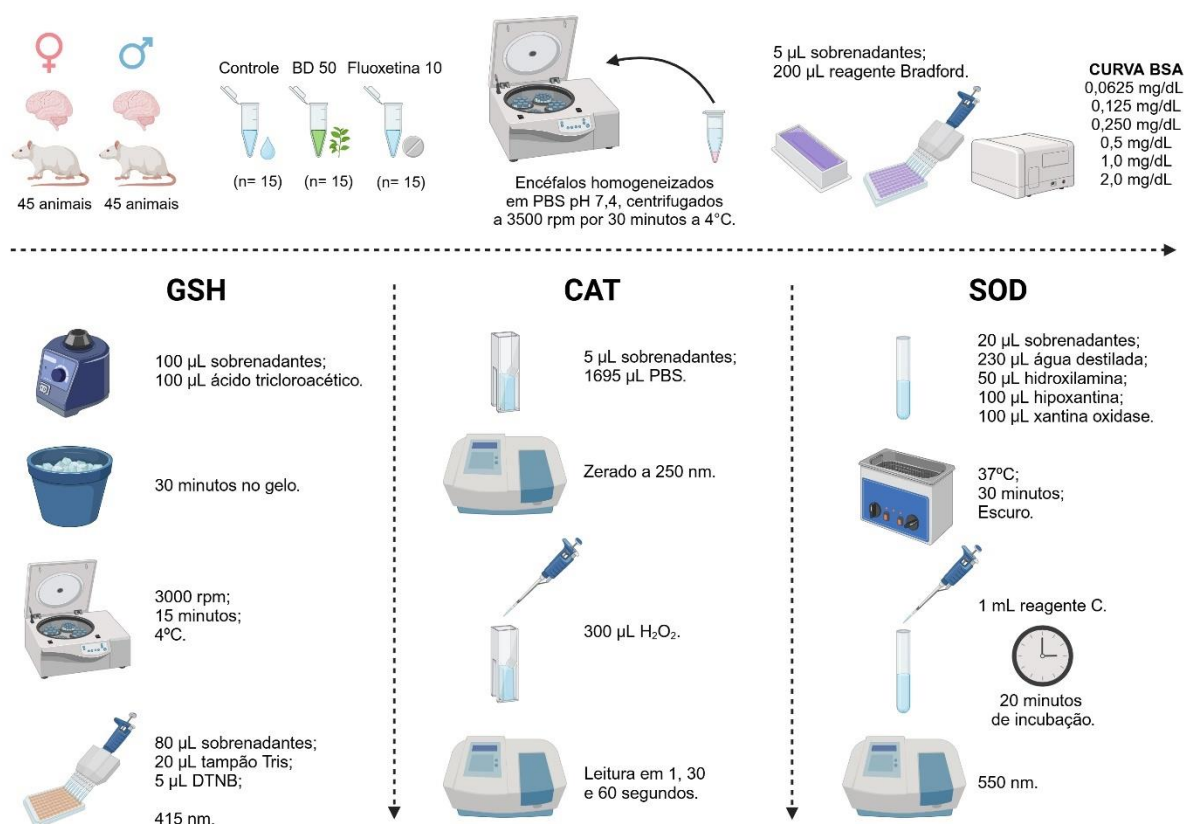
O método quantifica a velocidade de decomposição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pela enzima CAT presente na amostra. Os encéfalos foram homogeneizados em PBS 10x (pH 7,4) (4 g de NaCl, 0,58 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,1 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,1 g de KCl e q.s.p. 50 mL de água destilada), sendo diluído para 1x no momento do uso. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 3500 rpm por 30 minutos a 4°C. Então, foi adicionado 5 µL do sobrenadante de cada amostra a 1695 µL de PBS (pH 7,4) em uma cubeta de quartzo e zerado o espectrofotômetro a 250 nm. Em seguida, adicionou-se 300 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> com agitador magnético e, imediatamente após homogeneização, verificou-se a velocidade de decomposição em um período de 1, 30 e 60 segundos (Figura 16). Para os cálculos, subtraiu-se o valor inicial do valor final de absorbância, expressando os resultados em unidades CAT/mg de proteína (Aebi, 1984).

#### 5.5.4 Avaliação da atividade tecidual da superóxido dismutase (SOD)

O  $O_2^-$  gerado pela ação da xantina oxidase sobre a hipoxantina, reage com hidroxilamina para formar íon nítrico. Este íon, por sua vez, interage com  $\alpha$ -naftilenodiamino e ácido sulfanílico (reagente C), resultando em um produto colorido cuja intensidade é proporcional à quantidade de  $O_2^-$  produzido. A atividade da SOD na amostra inibe a reação do  $O_2^-$ , já que o radical é dismutado em  $H_2O_2$  (Öyanagui, 1984).

Os encéfalos foram homogeneizados em PBS 10x (pH 7,4) (4 g de NaCl, 0,58 g de  $Na_2HPO_4$ , 0,1 g de  $KH_2PO_4$ , 0,1 g de KCl e q.s.p. 50 mL de água destilada), sendo diluído para 1x no momento do uso. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 3500 rpm por 30 minutos a 4°C. Para a análise, 20  $\mu$ L do sobrenadante, selecionado por testes preliminares, foram utilizados. Cada tubo de ensaio recebeu 20  $\mu$ L da amostra, 230  $\mu$ L de água destilada, 50  $\mu$ L de hidroxilamina, 100  $\mu$ L de hipoxantina e 100  $\mu$ L de xantina oxidase. As amostras foram para banho-maria a 37°C por 30 minutos no escuro. Após esse período, 1 mL de reagente C foi adicionado e os tubos foram incubados à temperatura ambiente por 20 minutos. A leitura foi realizada no espectrofotômetro a 550 nm (Figura 16). Os valores foram expressos em U/mg de proteína, sendo que 1 U corresponde à atividade enzimática necessária para promover a dismutação de 50% dos radicais superóxido.

Figura 16 – Esquema das análises de GSH, CAT e SOD



Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

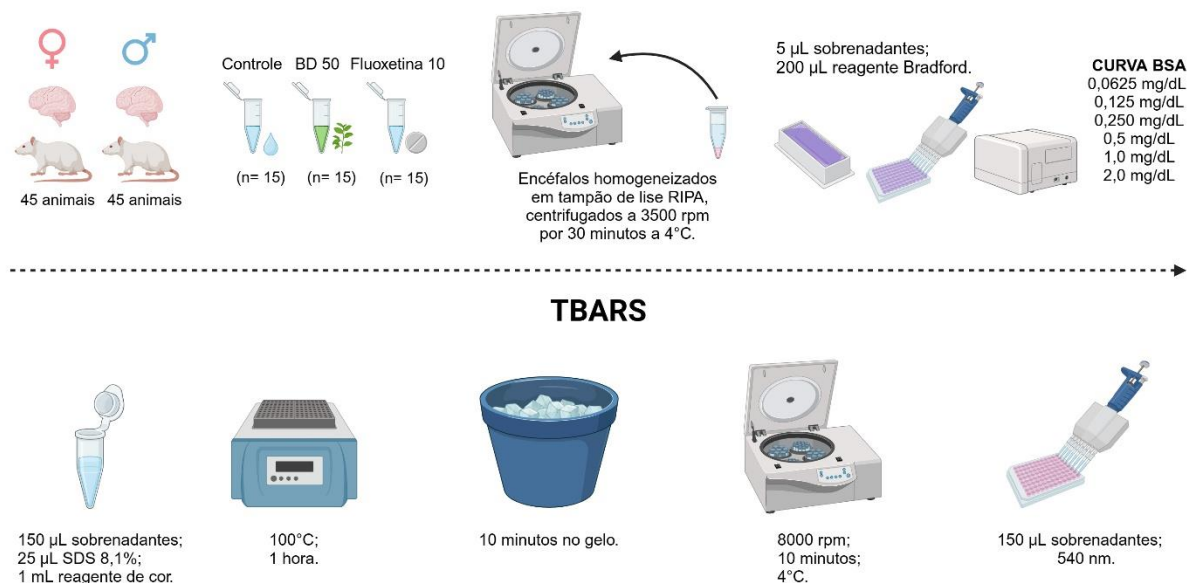
### 5.5.5 Avaliação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A técnica de TBARS fundamenta-se na reação entre o MDA, um produto gerado pela peroxidação lipídica, e o ácido tiobarbitúrico (TBA) sob condições de aquecimento. Durante a peroxidação lipídica, o MDA é formado e, ao interagir com o TBA em meio ácido, resulta na formação de um aduto estável que apresenta coloração rosa. A intensidade dessa coloração é diretamente proporcional à concentração de MDA na amostra, permitindo a quantificação (De Leon; Borges, 2020).

Para o ensaio, os encéfalos foram homogeneizados em tampão de lise RIPA (1 mL de PBS 10x; 0,1 mL de IGEPAL; 0,05 g de deoxicolato de sódio; 0,1 mL de SDS 10%; água destilada q.s.p. 10 mL; 4 µL de PMSF e 5 µL do inibidor de protease) e centrifugados por 30 minutos a 3500 rpm e 4°C. Foram utilizados 150 µL de amostra, 25 µL de SDS 8,1% e 1 mL de reagente de cor (50% ácido acético, 50% hidróxido de sódio e TBA), aquecidos em banho seco a 100°C por 1 hora, seguidos de resfriamento

em gelo por 10 minutos e centrifugação a 8000 rpm por 10 minutos a 4°C. Após isso, 150 µL das amostras e da curva padrão foram aplicados em uma placa de Elisa e lidos a 540 nm em um leitor de microplacas (Figura 17).

Figura 17 – Esquema da análise de TBARS



Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

## 5.6 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO BDNF POR WESTERN BLOTTING

*Western blotting* é uma técnica amplamente utilizada para detectar ou semiquantificar proteínas específicas em misturas complexas de proteínas extraídas de células ou tecidos (Sule; Rivera; Gomes, 2023). Neste estudo, essa técnica foi aplicada para avaliar os níveis proteicos de BDNF em estruturas cerebrais, incluindo córtex pré-frontal, corpo estriado, hipocampo e hipotálamo.

Os tecidos foram inicialmente homogeneizados em tampão de lise RIPA (1 mL de PBS 10x, 0,1 mL de IGEPAL, 0,05 g de deoxicolato de sódio, 0,1 mL de SDS 10%, água destilada q.s.p. 10 mL, 20 µL de PMSF e 10 µL de inibidor de protease). As amostras foram centrifugadas a 3500 rpm por 15 minutos a 4°C, e o sobrenadante foi coletado para análise.

Para a separação das proteínas, utilizou-se um gel de poliacrilamida em duas fases: um gel de corrida a 12,5% (4 géis: 12,72 mL de água destilada, 16,68 mL de

acrilamida 30% + bis-acrilamida 0,8%, 10 mL de Tris 1,5 M pH 8,8, 400 µL de SDS 10%, 400 µL de APS e 28 µL de TEMED) e um gel de empilhamento a 4% (4 géis: 6 mL de água destilada, 1,34 mL de acrilamida 30% + bis-acrilamida 0,8%, 2,5 mL de Tris 0,5 M pH 6,8, 100 µL de SDS 10%, 200 µL de APS e 15 µL de TEMED). O gel de corrida foi vertido entre placas de vidro (*Bio-Rad*), e 1 mL de isopropanol 50% foi adicionado para assegurar uma polimerização uniforme. Após a formação do gel, o isopropanol foi descartado, o gel de empilhamento foi adicionado e um pente de 15 poços foi posicionado.

Os sobrenadantes foram diluídos em tampão de amostra (2,3 mL de Tris 2,0 M (pH 6,8), 15 mL de SDS 10%, 7,5 mg de azul de bromofenol, q.s.p. 25 mL de glicerol e 5 mL de β-mercaptoetanol). Em seguida, as amostras foram desnaturadas em banho-seco a 90°C por 5 minutos. Para a corrida eletroforética, foram carregados 75 µg de proteína de cada amostra dos machos e 100 µg de proteína das amostras das fêmeas nos poços do gel, juntamente com 3 µL de marcador de peso molecular (*PageRuler Plus Prestained Protein Ladder, 26619, Thermo Scientific*). A corrida foi conduzida utilizando equipamento da *Bio-Rad* e tampão de corrida 10x (30,08 g de Tris base, 144,12 g de glicina, 10 g de SDS, q.s.p. 1000 mL de água destilada), previamente diluído para 1x no dia do experimento. O procedimento foi realizado com uma voltagem de 80 V por 20 minutos para empilhamento das proteínas e 90 V por 2 horas para sua separação.

Após a corrida, as proteínas foram transferidas para uma membrana de PVDF previamente ativada em metanol. A transferência foi realizada em sistema úmido com equipamento da *Bio-Rad*, utilizando tampão de transferência (3,03 g de Tris base, 14,4 g de glicina, 200 mL de metanol, q.s.p. 1000 mL de água destilada) a 100 V por 1 hora e 20 minutos. A eficiência da transferência foi confirmada pela coloração das membranas com solução de Ponceau 10x (2 g de Ponceau 2%, 30 g de ácido tricloroacético 30%, 30 g de ácido sulfosalicílico 30%, q.s.p. 100 mL de água destilada), diluída para 1x, por 3 minutos sob agitação. Após a confirmação, as membranas foram lavadas com TBS-T (12,11 g de Tris base, 9 g de NaCl, 1000 µL de Tween 20, q.s.p. 1000 mL de água destilada) para a remoção do corante.

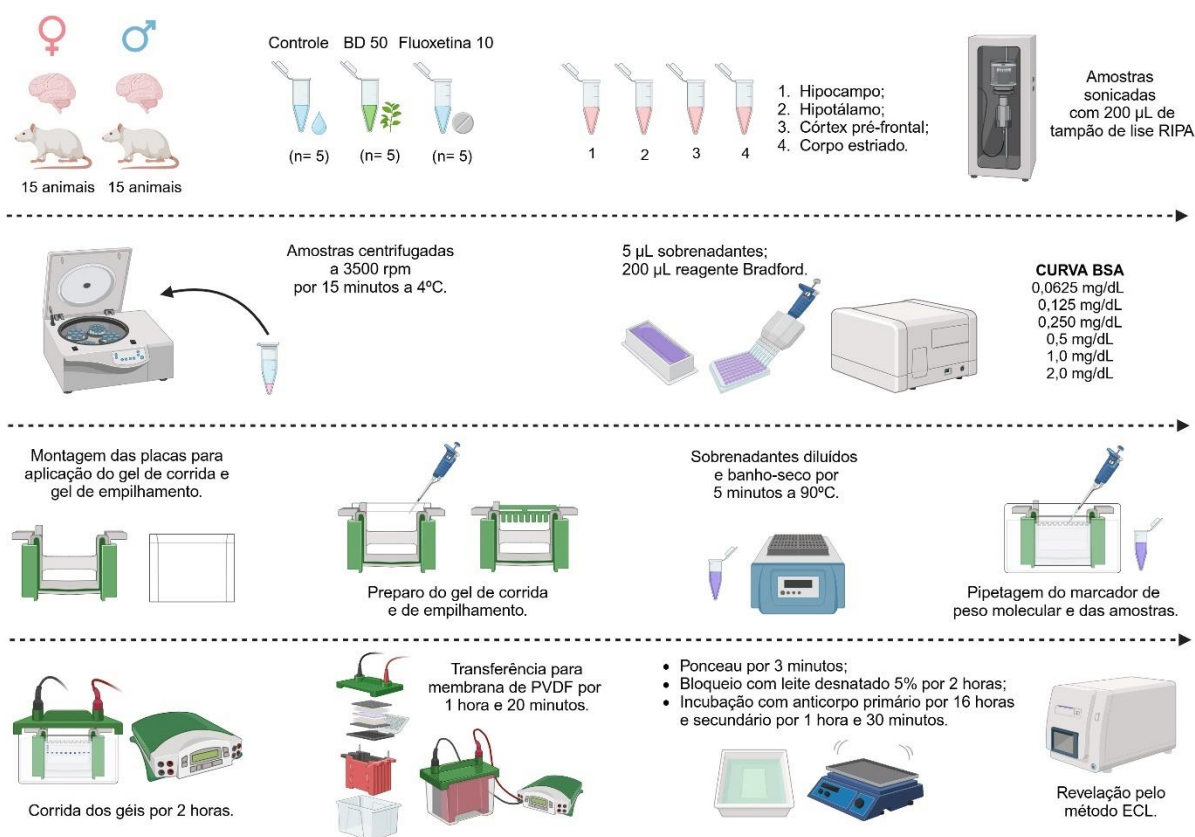
O bloqueio das membranas foi realizado com leite desnatado Molico 5% diluído em TBS-T por 2 horas e 30 minutos à temperatura ambiente, sob agitação constante, para evitar ligações inespecíficas. Após cinco lavagens com TBS-T por 5 minutos cada, as membranas foram incubadas *overnight* (16 horas) a 4°C com o anticorpo

primários anti-BDNF (*BDNF Recombinant Rabbit Monoclonal Antibody (ARC0303), MA5-35595, Thermo Fisher Scientific*) diluído na proporção de 1:1000 em TBS-T. Em seguida, as membranas foram novamente lavadas cinco vezes por 5 minutos cada e incubadas com o anticorpo secundário anti-rabbit (*ECL<sup>TM</sup> Anti-Rabbit IgG, Horseradish Peroxidase-Linked Whole Antibody (from donkey), NA9934, GE Healthcare*), diluído na proporção de 1:2000 em TBS-T, por 1 hora e 30 minutos à temperatura ambiente. Após nova série de cinco lavagens por 5 minutos cada, a proteína de interesse foi detectada por quimioluminescência (ECL) e as imagens capturadas no sistema de imagem *ImageQuant LAS 500*.

Após a detecção do alvo primário, as membranas foram submetidas ao processo de *stripping* utilizando tampão específico (15 g de glicina, 1 g de SDS, 20 mL de Tween 20 e q.s.p. 1000 mL de água destilada) em duas etapas de 10 minutos cada, seguidas por tratamento com tampão PBS pH 7,2 10x (82 g de NaCl, 10,5 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3,55 g de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e q.s.p. 1000 mL de água destilada), diluído para 1x, também em duas etapas de 10 minutos cada. As membranas foram então lavadas duas vezes por 5 minutos cada com TBS-T.

Em seguida, as membranas foram novamente bloqueadas com leite desnatado Molico 5% em TBS-T e incubadas com o anticorpo primário anti-tubulina (*alpha Tubulin Monoclonal Antibody (236-10501), A21371, Thermo Fisher Scientific*), diluído na proporção de 1:1000, overnight (16 horas) a 4°C. Após o mesmo protocolo de incubação com anticorpo secundário, anti-mouse (*ECL<sup>TM</sup> Anti-Mouse IgG, Horseradish Peroxidase Linked Whole Antibody (from sheep), NA931, GE Healthcare*), e detecção descrito anteriormente, as bandas obtidas foram quantificadas por densitometria utilizando o software *ImageQuant TL*. Os níveis proteicos foram normalizados pela expressão da tubulina, utilizada como controle endógeno (Figura 18).

Figura 18 – Esquema da análise de BDNF pela técnica *Western blotting*



Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

## 5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram analisados utilizando o software *GraphPad Prism 8*. Foi empregada a análise de variância de uma via (*one-way ANOVA*) ou duas vias para medidas repetidas (*two-way RM ANOVA*), seguida pelo pós-teste de *Tukey* para comparações múltiplas quando apropriado. Foram considerados estatisticamente diferentes valores com  $p < 0,05$ . Os gráficos foram representados com média + erro padrão da média.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL RELACIONADA AO EFEITO ANSIOLÍTICO

Nos machos, a *two-way RM ANOVA* revelou efeitos significativos tanto para o tratamento ( $F(2,78)= 11,09$ ,  $p < 0,0001$ ) quanto para as tentativas ( $F(2,78)= 11,87$ ,  $p < 0,0001$ ) na esQUIVA inibitória. Contudo, não foi observada interação entre esses fatores ( $F(4,78)= 0,07971$ ,  $p= 0,9883$ ). As latências da linha de base, esQUIVA 1 e esQUIVA 2 para os machos estão ilustradas na Figura 19 (a). O pós-teste de *Tukey* indicou que a administração crônica de BD 50 durante 14 dias reduziu significativamente a latência de esQUIVA 1 ( $p < 0,05$ ) em comparação com o grupo controle. A administração de fluoxetina (10 mg/kg) também diminuiu as latências da linha de base ( $p < 0,05$ ), esQUIVA 1 ( $p < 0,05$ ) e esQUIVA 2 ( $p < 0,05$ ) em relação ao grupo controle, indicando um claro efeito ansiolítico.

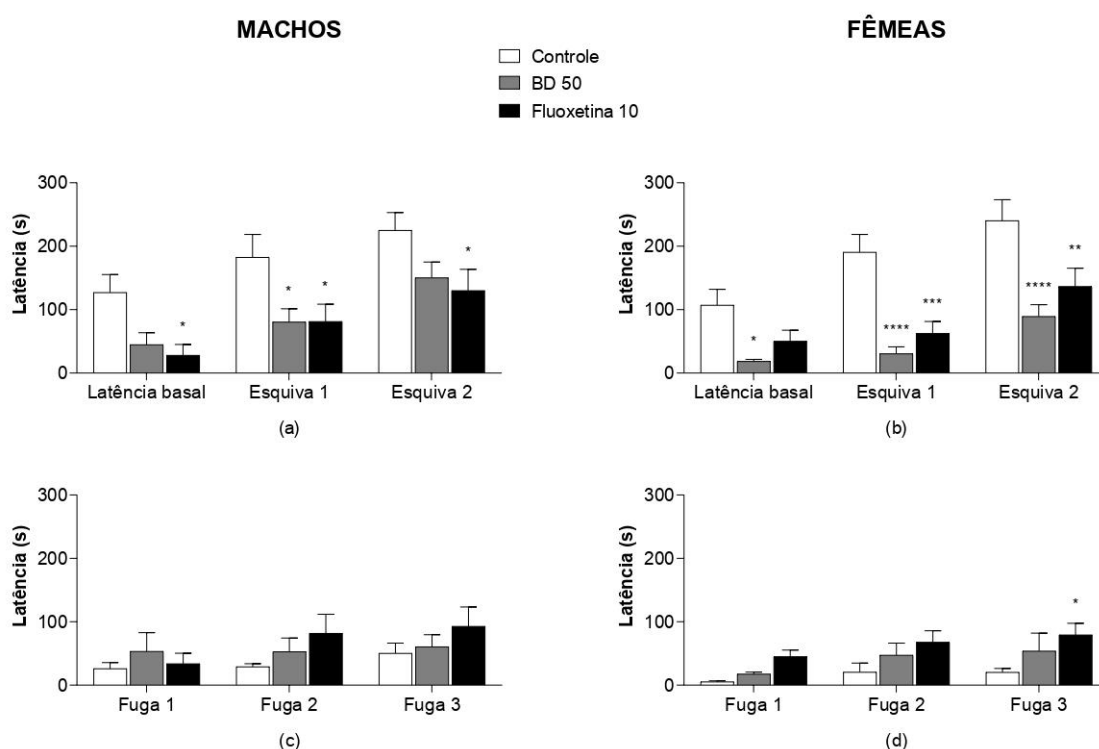
Nas fêmeas, a *two-way RM ANOVA* indicou efeitos significativos tanto para o tratamento ( $F(2,78)= 15,18$ ,  $p < 0,0001$ ) quanto para as tentativas ( $F(2,78)= 29,16$ ,  $p < 0,0001$ ) na esQUIVA inibitória. No entanto, não foi observada interação entre esses fatores ( $F(4,78)= 0,9983$ ,  $p= 0,4137$ ). As latências da linha de base, esQUIVA 1 e esQUIVA 2 para as fêmeas estão apresentadas na Figura 19 (b). O pós-teste de *Tukey* revelou que o tratamento crônico com BD 50 por 14 dias reduziu significativamente as latências da linha de base ( $p < 0,05$ ), esQUIVA 1 ( $p < 0,0001$ ) e esQUIVA 2 ( $p < 0,0001$ ) em comparação com o grupo controle. De forma semelhante, o grupo tratado com fluoxetina (10 mg/kg) apresentou reduções significativas nas latências de esQUIVA 1 ( $p < 0,001$ ) e esQUIVA 2 ( $p < 0,01$ ) em relação ao grupo controle, reforçando o efeito ansiolítico observado.

Em relação à análise de fuga nos machos, a *two-way RM ANOVA* não revelou efeitos significativos para o tratamento ( $F(2,78)= 1,396$ ,  $p= 0,2536$ ) e para as tentativas ( $F(2,78)= 1,774$ ,  $p= 0,1764$ ). Além disso, não foi detectada interação entre esses fatores ( $F(4,78)= 0,5134$ ,  $p= 0,7261$ ). As latências de fuga 1, fuga 2 e fuga 3 dos machos estão resumidas na Figura 19 (c).

No caso das fêmeas, a *two-way RM ANOVA* revelou um efeito significativo do fator tentativa na análise de fuga ( $F(2,78)= 6,846$ ,  $p= 0,0018$ ). Entretanto, não foram observados efeitos significativos no tratamento ( $F(2,78)= 2,662$ ,  $p= 0,0761$ ) e na interação entre os fatores ( $F(4,78)= 0,1401$ ,  $p= 0,9668$ ). A Figura 19 (d) ilustra os

resultados da análise de fuga das fêmeas. O pós-teste de *Tukey* revelou que o tratamento crônico com BD 50 durante 14 dias não resultou em diferenças estatisticamente significativas nas latências de fuga 1, fuga 2 e fuga 3 em comparação com o grupo controle ( $p > 0,05$ ). Por outro lado, o grupo tratado com fluoxetina (10 mg/kg) apresentou um aumento significativo na latência de fuga 3 ( $p < 0,05$ ) em relação ao grupo controle, sugerindo um efeito panicolítico nos animais tratados.

Figura 19 – Efeitos do BD 50 nos animais no teste do LTE



Fonte: Da autora. Criado em *GraphPad Prism 8*.

Legenda: Efeitos do BD 50 nos animais no teste do LTE. Representação dos parâmetros de esquiva inibitória nos machos (a) e nas fêmeas (b), bem como de fuga nos machos (c) e nas fêmeas (d) de ratos Wistar avaliados no teste do LTE. Os dados são apresentados como média + erro padrão da média (EPM), com 9 a 10 animais por grupo: controle (n= 9), BD 50 (n= 10) e fluoxetina (10 mg/kg) (n= 10). Diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle tratado com água destilada: \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ . Análise realizada por *two-way RM ANOVA* seguida de pós-teste de *Tukey*.

No teste do CA, a atividade locomotora durante 10 minutos dos grupos de machos é apresentada na Figura 20 (a). A *one-way ANOVA* revelou um efeito significativo do tratamento ( $F(2, 26) = 6,557$ ,  $p = 0,0049$ ) na distância percorrida. No pós-teste de *Tukey*, a administração crônica de BD 50 por 14 dias resultou em um aumento significativo na distância percorrida na arena ( $p < 0,05$ ), com efeito semelhante ao observado no controle positivo fluoxetina (10 mg/kg) ( $p < 0,01$ ).

Em relação às fêmeas, a atividade locomotora durante o mesmo intervalo de tempo está ilustrada na Figura 20 (b). A *one-way ANOVA* indicou um efeito significativo do tratamento ( $F(2, 26) = 5,585$ ,  $p = 0,0096$ ) na distância percorrida. O pós-teste de *Tukey* revelou que o tratamento crônico com BD 50 por 14 dias também promoveu um aumento significativo na distância percorrida ( $p < 0,05$ ), com resultados comparáveis aos observados no grupo controle positivo fluoxetina (10 mg/kg) ( $p < 0,01$ ).

O número de entradas na área central do CA pelos machos ao longo de 10 minutos é apresentado na Figura 20 (c). A *one-way ANOVA* revelou um efeito significativo do tratamento ( $F(2, 26) = 15,45$ ,  $p < 0,0001$ ) no número de entradas. O pós-teste de *Tukey* indicou que o tratamento crônico com BD 50 por 14 dias aumentou significativamente o número de entradas na área central em comparação com o grupo controle ( $p < 0,0001$ ), com efeito semelhante ao do controle positivo fluoxetina (10 mg/kg) ( $p < 0,001$ ).

Para as fêmeas, a *one-way ANOVA* revelou um efeito significativo do tratamento no número de entradas na área central ( $F(2, 26) = 7,953$ ,  $p = 0,0020$ ). No pós-teste de *Tukey*, observou-se que o tratamento crônico com BD 50 por 14 dias não resultou em um aumento significativo no número de entradas na área central ( $p > 0,05$ ). Em contraste, o controle positivo fluoxetina (10 mg/kg) resultou em um aumento significativo nas entradas na área central em comparação com o grupo controle ( $p < 0,01$ ), como ilustrado na Figura 20 (d).

A *one-way ANOVA* também revelou um efeito significativo do tratamento no tempo gasto pelos machos na área central do CA ( $F(2, 26) = 13,38$ ,  $p = 0,0001$ ). No pós-teste de *Tukey*, verificou-se que o tratamento crônico com BD 50 por 14 dias aumentou significativamente o tempo gasto na área central ( $p < 0,001$ ) em comparação com o grupo controle. Da mesma forma, o controle positivo fluoxetina (10 mg/kg) também promoveu um aumento significativo no tempo gasto na área central, com resultados semelhantes aos observados no grupo tratado com BD 50 ( $p < 0,001$ ), conforme mostrado na Figura 20 (e).

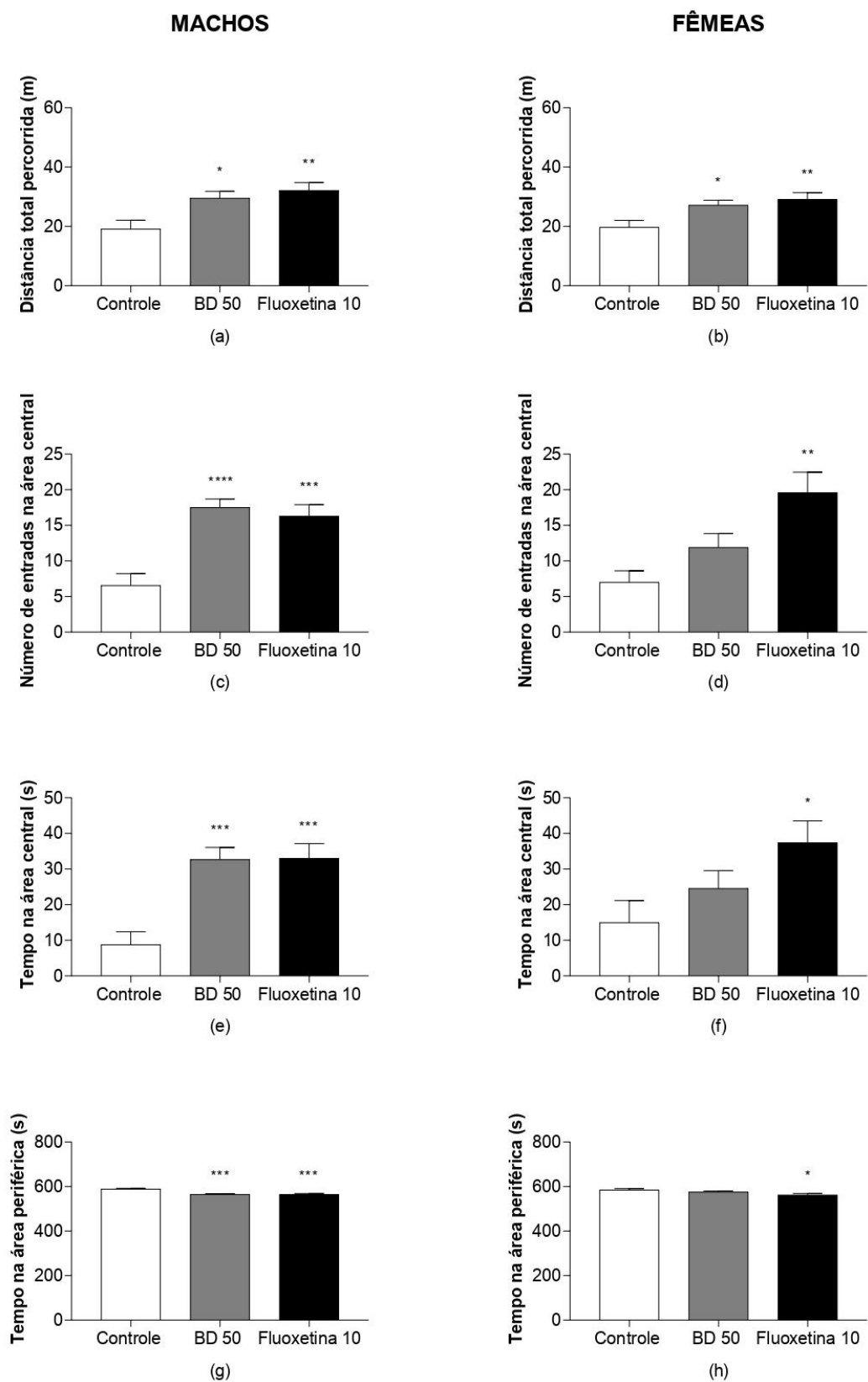
No caso das fêmeas, a *one-way ANOVA* indicou um efeito significativo do tratamento no tempo gasto na área central do CA ( $F(2, 26) = 3,765$ ,  $p = 0,0366$ ). No pós-teste de *Tukey*, o tratamento crônico com BD 50 por 14 dias não resultou em aumento significativo no tempo gasto na área central ( $p > 0,05$ ) quando comparado ao grupo controle. Por outro lado, o controle positivo fluoxetina (10 mg/kg) resultou em um aumento significativo no tempo gasto na área central ( $p < 0,05$ ) em comparação com o grupo controle, conforme apresentado na Figura 20 (f).

Em relação ao tempo gasto pelos machos na área periférica da arena do CA, a *one-way ANOVA* indicou um efeito significativo do tratamento ( $F(2, 26) = 13,78$ ,  $p < 0,0001$ ). O pós-teste de *Tukey* revelou que o tratamento crônico com BD 50 por 14 dias reduziu significativamente o tempo gasto na área periférica em comparação com o grupo controle ( $p < 0,001$ ). Da mesma forma, o controle positivo fluoxetina (10 mg/kg) também resultou em uma redução significativa no tempo gasto na área periférica ( $p < 0,001$ ), como apresentado na Figura 20 (g).

Quanto às fêmeas, a *one-way ANOVA* revelou um efeito significativo do tratamento no tempo gasto na área periférica do CA ( $F(2, 26) = 3,765$ ,  $p = 0,0366$ ). No pós-teste de *Tukey*, observou-se que o tratamento crônico com BD 50 por 14 dias não resultou em uma redução significativa no tempo gasto na área periférica em comparação com o grupo controle ( $p > 0,05$ ). Em contrapartida, o controle positivo fluoxetina (10 mg/kg) promoveu uma redução significativa no tempo gasto na área periférica ( $p < 0,05$ ) em comparação ao grupo controle, conforme mostrado na Figura 20 (h).

Por fim, a atividade locomotora total, central e periférica dos machos e fêmeas pode ser visualizada na Figura 21, por meio de gráficos que ilustram a posição do ponto central dos animais durante o teste, gerados pelo *software AnyMaze (Stoelting, EUA)*. Considerando os parâmetros analisados no teste de CA, os resultados demonstram um claro efeito ansiolítico do BD 50, similar ao do controle positivo fluoxetina (10 mg/kg), para os animais machos, mas não tão evidente para as fêmeas.

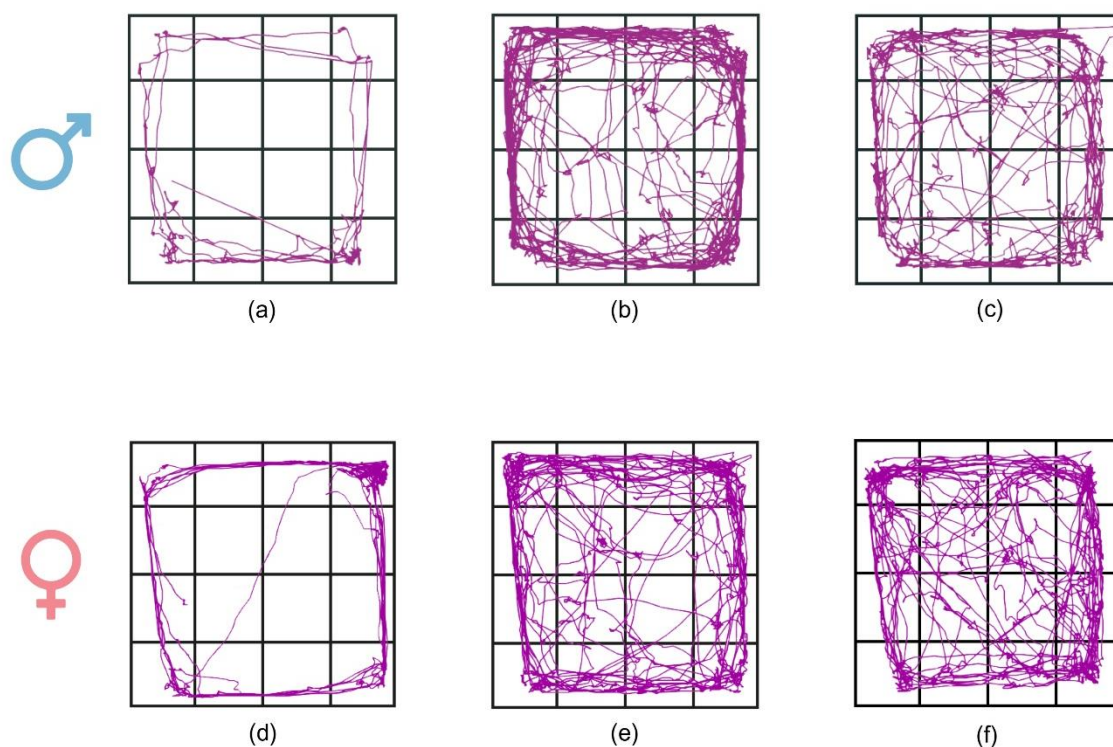
Figura 20 – Efeitos do BD 50 nos animais no teste do CA



Fonte: Da autora. Criado em *GraphPad Prism 8*.

Legenda: Efeitos do BD 50 nos animais no teste de CA. Representação dos parâmetros de distância percorrida pelos machos (a) e fêmeas (b), número de entradas na área central pelos machos (c) e fêmeas (d), tempo na área central pelos machos (e) e fêmeas (f), e tempo na área periférica pelos machos (g) e fêmeas (h) de ratos Wistar avaliados durante 10 minutos no teste de CA. Os dados são apresentados como média + erro padrão da média (EPM), com 9 a 10 animais por grupo: controle (n= 9), BD 50 (n= 10) e fluoxetina (10 mg/kg) (n= 10). Diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle tratado com água destilada: \*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001; \*\*\*\*p < 0,0001. Análise realizada por *one-way ANOVA* seguida de pós-teste de *Tukey*.

Figura 21 – Gráficos da posição do ponto central de cada animal no teste do CA fornecidos pelo *software Any Maze Stoelting* (EUA)



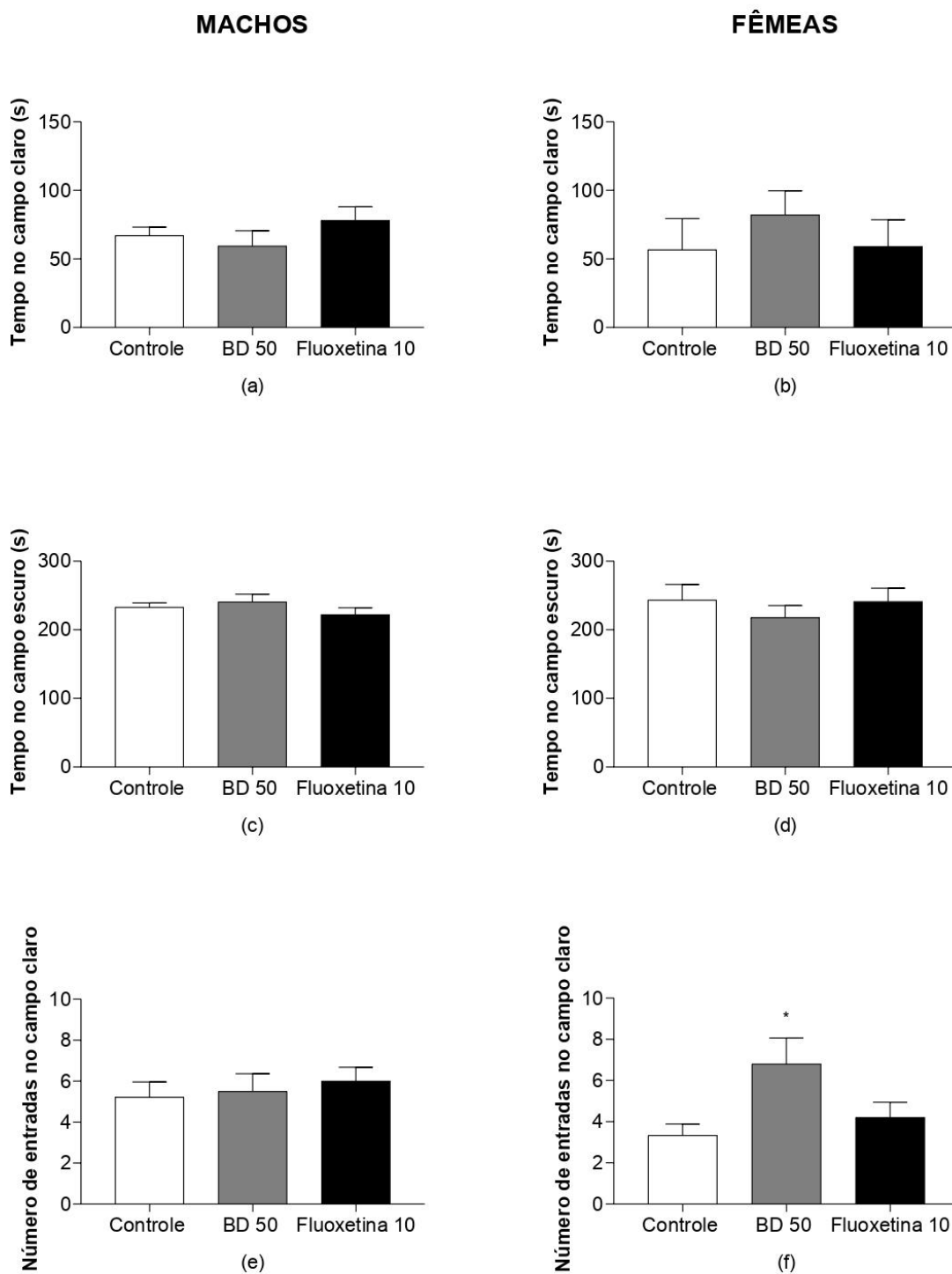
Fonte: Da autora. Criado em *Any Maze Stoelting* (EUA).

Legenda: Gráficos da posição do ponto central de um animal representativo de cada grupo de ratos Wistar avaliados durante 10 minutos no teste de CA fornecidos pelo *software Any Maze Stoelting* (EUA). Grupos de machos: controle (a), BD 50 (b) e controle positivo fluoxetina (10 mg/kg) (c). Grupos de fêmeas: controle (d), BD 50 (e) e controle positivo fluoxetina (10 mg/kg) (f).

O tempo gasto pelos machos no campo claro (a), no campo escuro (c) e o número de entradas no campo claro (e) durante o teste de CE por 5 minutos estão apresentados na Figura 22. A *one-way ANOVA* indicou que não houve efeito significativo no tratamento em relação ao tempo no campo claro ( $F(2, 26) = 0,9809$ ,  $p = 0,3884$ ), ao tempo no campo escuro ( $F(2, 26) = 0,9791$ ,  $p = 0,3891$ ) e ao número de entradas no campo claro ( $F(2, 26) = 0,2616$ ,  $p = 0,7718$ ). O pós-teste de *Tukey* confirmou que a administração crônica de BD 50, assim como a do controle positivo fluoxetina (10 mg/kg) por 14 dias, não resultou em diferenças estatisticamente significativas no número de entradas ou no tempo gasto no campo claro em comparação com o grupo controle ( $p > 0,05$ ). Da mesma forma, não houve redução significativa no tempo gasto no campo escuro em relação ao controle ( $p > 0,05$ ).

Nos resultados das fêmeas, o tempo gasto no campo claro (b), o tempo no campo escuro (d) e o número de entradas no campo claro (f) durante o teste de CE por 5 minutos estão apresentados na Figura 22. A análise *one-way ANOVA* indicou que não houve diferença significativa entre os tratamentos em relação ao tempo no campo claro ( $F(2,26) = 0,5088$ ,  $p = 0,6071$ ), assim como no tempo gasto no campo escuro ( $F(2,26) = 0,5088$ ,  $p = 0,6071$ ). No entanto, em relação ao número de entradas no campo claro, a *one-way ANOVA* indicou efeito significativo no tratamento ( $F(2, 26) = 3,802$ ,  $p = 0,0356$ ). O pós-teste de *Tukey* mostrou que o tratamento crônico com BD 50 por 14 dias aumentou significativamente o número de entradas no campo claro em comparação com o grupo controle ( $p < 0,05$ ), sugerindo maior atividade exploratória e possivelmente um efeito ansiolítico. Por outro lado, a fluoxetina (10 mg/kg) não apresentou diferenças significativas em relação ao grupo controle nos três parâmetros analisados ( $p > 0,05$ ).

Figura 22 – Efeitos do BD 50 nos animais no teste de CE



Fonte: Da autora. Criado em *GraphPad Prism 8*.

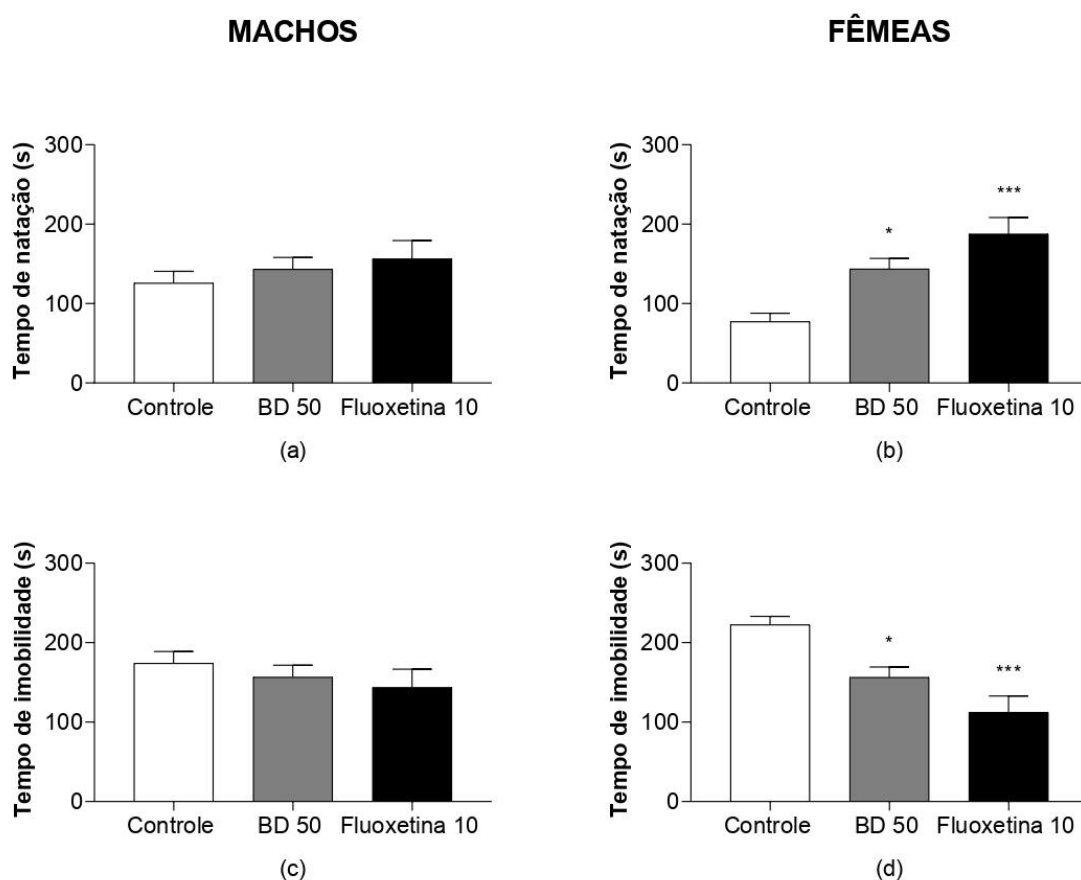
Legenda: Efeitos do BD 50 nos animais no teste de CE. Tempo no campo claro para os machos (a) e para as fêmeas (b), tempo no campo escuro para os machos (c) e para as fêmeas (d), número de entradas no campo claro para os machos (e) e para as fêmeas (f) de ratos Wistar avaliados durante 5 minutos no teste de CE. Os dados são apresentados como média + erro padrão da média (EPM), com 9 a 10 animais por grupo: controle (n= 9), BD 50 (n= 10) e fluoxetina (10 mg/kg) (n= 10). Significância estatística em relação ao grupo controle tratado com água destilada: \*p < 0,05. Análise realizada por *one-way ANOVA* seguida de pós-teste de *Tukey*.

## 6.2 AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL RELACIONADA AO EFEITO ANTIDEPRESSIVO

No teste de NF, os parâmetros analisados estão apresentados na Figura 23. A *one-way ANOVA* indicou que, nos machos, o tratamento não teve efeito significativo sobre o tempo de natação ( $F(2,26)= 0,6968$ ,  $p= 0,5073$ ) e o tempo de imobilidade ( $F(2,26)= 0,6968$ ,  $p= 0,5073$ ). Esses resultados sugerem que o tratamento crônico com BD 50 e fluoxetina (10 mg/kg) não apresentou efeito antidepressivo nos machos neste modelo experimental.

Nas fêmeas, a *one-way ANOVA* revelou efeito significativo tanto no tempo de natação ( $F(2, 26)= 12,26$ ,  $p= 0,0002$ ) quanto no tempo de imobilidade ( $F(2, 26)= 12,26$ ,  $p= 0,0002$ ) no tratamento. O pós-teste de *Tukey* mostrou que o grupo tratado com BD 50 por 14 dias apresentou um aumento significativo no tempo de natação (Figura 23, b) e uma redução no tempo de imobilidade (Figura 23, d) em comparação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ), sugerindo um efeito antidepressivo. O controle positivo, fluoxetina (10 mg/kg), resultou em um aumento significativo no tempo de natação (Figura 23, b) ( $p < 0,001$ ) e uma redução acentuada no tempo de imobilidade (Figura 23, d) ( $p < 0,001$ ), confirmando seu efeito antidepressivo e mostrando uma similaridade parcial com o grupo tratado com BD 50.

Figura 23 – Efeitos do BD 50 nos animais no teste do NF



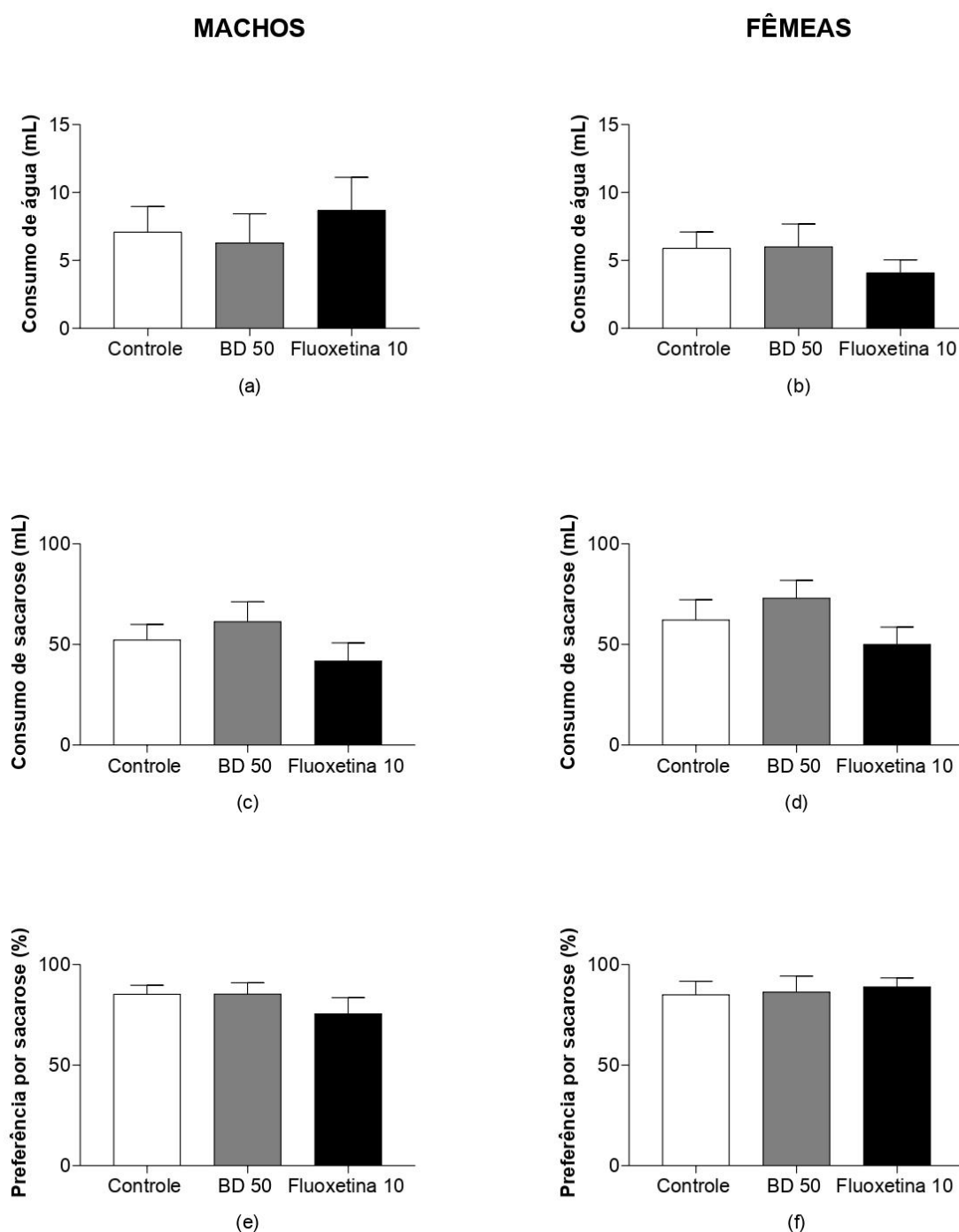
Fonte: Da autora. Criado em *GraphPad Prism 8*.

Legenda: Efeitos do BD 50 nos animais no teste de NF. Tempo de natação dos machos (a) e das fêmeas (b), e tempo de imobilidade dos machos (c) e das fêmeas (d) de ratos Wistar avaliados durante 5 minutos no teste de NF. Os dados são expressos como média + erro padrão da média (EPM). Grupos: controle (n= 9), BD 50 (n= 10) e fluoxetina (10 mg/kg) (n= 10). Diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle tratado com água destilada são indicadas por \*p < 0,05 e \*\*\*p < 0,001. Análise realizada por *one-way ANOVA* seguida de pós teste de *Tukey*.

No teste de PPS, os resultados referentes ao consumo de água (a), consumo de solução de sacarose (c) e a porcentagem de preferência por sacarose (e) nos machos estão apresentados na Figura 24. A *one-way ANOVA* não revelou efeito significativo do tratamento sobre os parâmetros avaliados: consumo de água ( $F(2, 27) = 0,3233$ ,  $p = 0,7265$ ), consumo de sacarose ( $F(2, 27) = 1,224$ ,  $p = 0,3099$ ) e preferência por sacarose ( $F(2, 27) = 0,8395$ ,  $p = 0,4429$ ), sugerindo a ausência de efeito antianedônico de BD 50 e da fluoxetina (10 mg/kg) nos machos tratados.

Para as fêmeas, os parâmetros de consumo de água (b), consumo de solução de sacarose (d) e a porcentagem de preferência por sacarose (f) estão ilustrados na Figura 24. A *one-way ANOVA* também não demonstrou diferença significativa no tratamento nos parâmetros avaliados: consumo de água ( $F(2, 27) = 0,6627$ ,  $p = 0,5236$ ), consumo de sacarose ( $F(2, 27) = 1,567$ ,  $p = 0,2270$ ) e preferência por sacarose ( $F(2, 27) = 0,09505$ ,  $p = 0,9096$ ). Isso indica que a administração crônica de BD 50 e fluoxetina (10 mg/kg) não resultou em diferenças significativas em relação ao grupo controle nos três parâmetros avaliados, sugerindo que nenhum dos dois tratamentos exerceu efeito antianedônico nas fêmeas neste modelo experimental.

Figura 24 – Efeitos do BD 50 nos animais no teste de PPS



Fonte: Da autora. Criado em *GraphPad Prism 8*.

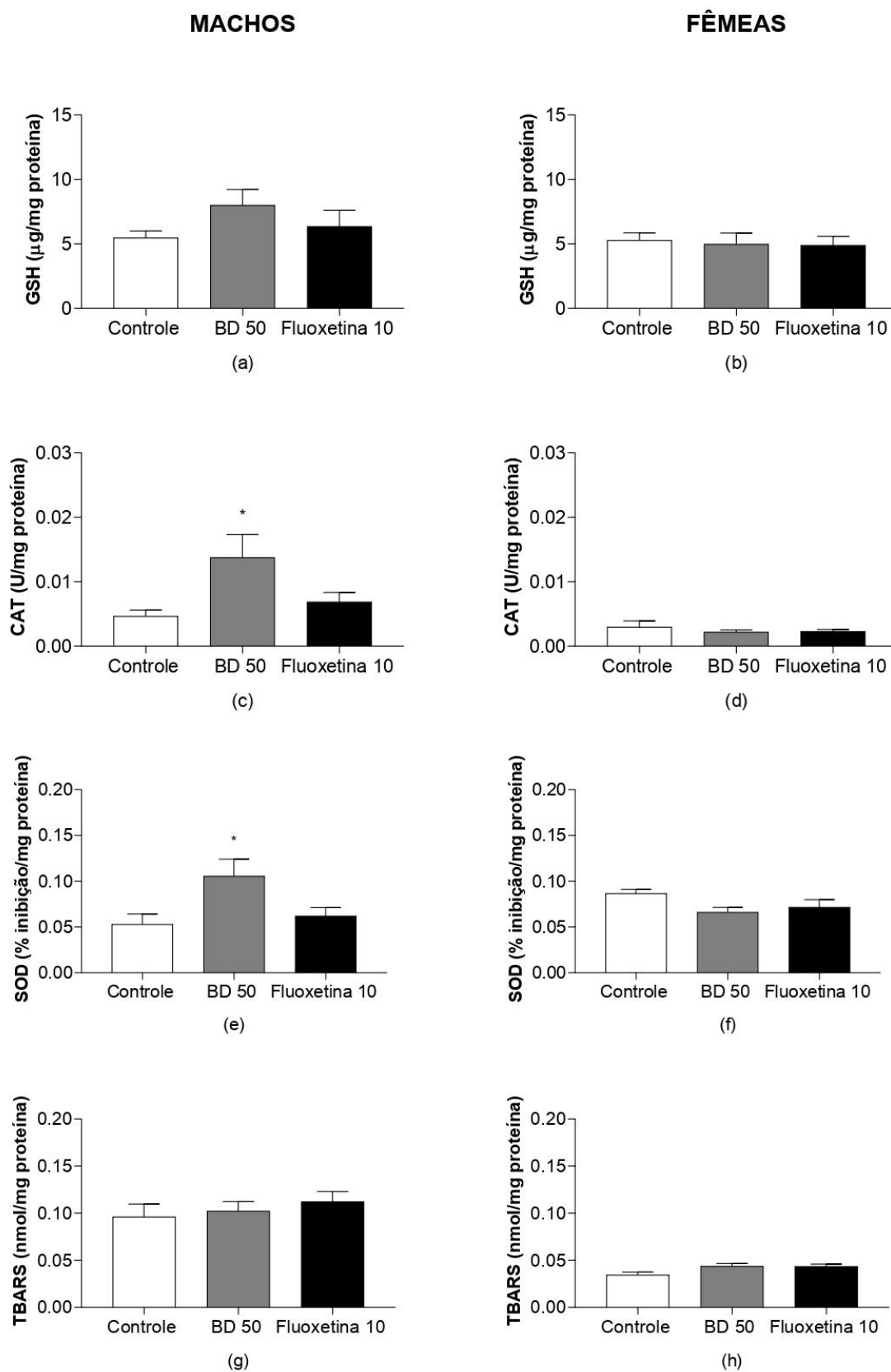
Legenda: Efeitos do BD 50 nos animais no teste de PPS. Consumo de água (a) e de sacarose (c) em machos, e consumo de água (b) e de sacarose (d) em fêmeas, além da preferência por sacarose (e) em machos e (f) em fêmeas, de ratos Wistar no PPS por 12 horas. Os dados são apresentados como média + erro padrão da média (EPM). Grupos: controle (n= 10), BD 50 (n= 10) e fluoxetina (10 mg/kg) (n= 10). Análise realizada por *one-way ANOVA* seguida de pós-teste de *Tukey*.

### 6.3 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA RELACIONADA AO EFEITO ANTIOXIDANTE

Nos machos, a *one-way ANOVA* revelou que, para os níveis de GSH, não houve diferença significativa entre os tratamentos ( $F(2, 32) = 1,377$ ,  $p = 0,2669$ ). Por outro lado, foram observadas diferenças significativas nos tratamentos em relação à atividade de CAT ( $F(2, 30) = 3,655$ ,  $p = 0,0380$ ) e SOD ( $F(2, 23) = 4,409$ ,  $p = 0,0239$ ), enquanto a produção de TBARS não apresentou diferença significativa ( $F(2, 33) = 0,4917$ ,  $p = 0,6160$ ). No pós-teste de *Tukey*, a Figura 25 (a) ilustra que não houve aumento significativo nos níveis de GSH nos encéfalos dos machos tratados cronicamente com BD 50 ou fluoxetina (10 mg/kg) em comparação com o grupo controle ( $p > 0,05$ ). No entanto, conforme demonstrado na Figura 25 (c) e (e), observou-se um aumento significativo na atividade das enzimas antioxidantes CAT e SOD nos encéfalos dos machos tratados com BD 50, em relação ao controle ( $p < 0,05$ ), indicando um efeito antioxidante do extrato na dose de 50 mg/kg. Por outro lado, o tratamento com fluoxetina (10 mg/kg) não resultou em aumento significativo na atividade de CAT ou SOD em comparação com o grupo controle. A Figura 25 (g) demonstra que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados (controle, BD 50 e fluoxetina 10 mg/kg) em relação à produção de TBARS, indicando que tanto o tratamento com BD 50 quanto com fluoxetina (10 mg/kg) não provocaram alterações na peroxidação lipídica nos encéfalos dos machos.

Em relação às fêmeas, a *one-way ANOVA* revelou que não houve diferença significativa nos níveis de GSH ( $F(2, 33) = 0,07537$ ,  $p = 0,9276$ ), na atividade de CAT ( $F(2, 33) = 0,4970$ ,  $p = 0,6128$ ) e de SOD ( $F(2, 31) = 2,525$ ,  $p = 0,0964$ ). No entanto, a produção de TBARS apresentou efeito significativo no tratamento ( $F(2, 29) = 3,810$ ,  $p = 0,0340$ ). O pós-teste de *Tukey* revelou que o tratamento crônico com BD 50 ou fluoxetina (10 mg/kg) não provocou aumento nos níveis de GSH ( $p > 0,05$ ), nem na atividade das enzimas antioxidantes CAT ( $p > 0,05$ ) e SOD ( $p > 0,05$ ), além de não ter gerado diferenças significativas na produção de TBARS ( $p > 0,05$ ) nos encéfalos das fêmeas, conforme ilustrado na Figura 25 (b), (d), (f) e (h). Esses resultados indicam a ausência de efeitos antioxidantes ou alterações na peroxidação lipídica em resposta aos tratamentos no SNC das fêmeas.

Figura 25 – Efeitos do BD 50 nos animais nos parâmetros de estresse oxidativo



Fonte: Da autora. Criado em *GraphPad Prism 8*.

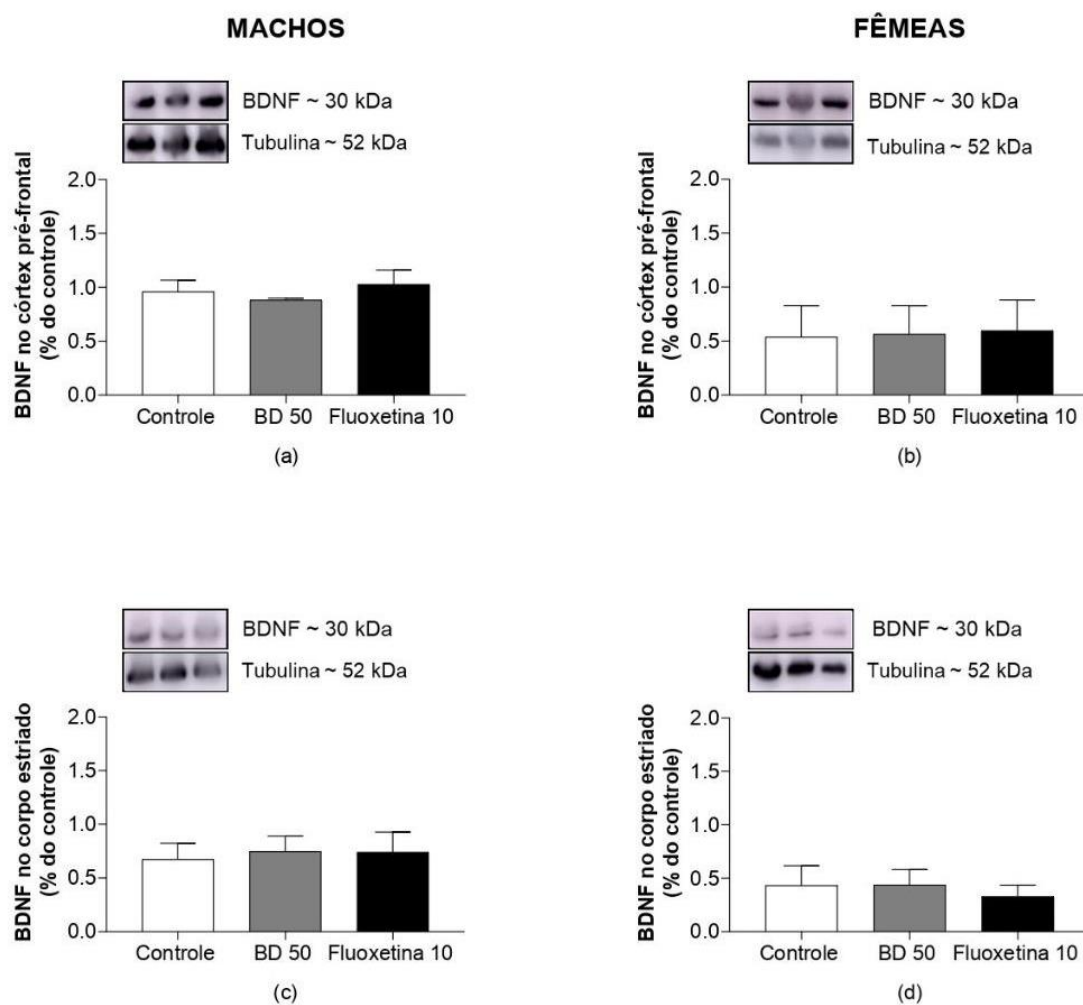
Legenda: Efeitos do BD 50 nos parâmetros de estresse oxidativo no encéfalo de ratos Wistar machos e fêmeas. Níveis de GSH nos machos (a) e nas fêmeas (b), atividade de CAT nos machos (c) e nas fêmeas (d), atividade de SOD nos machos (e) e nas fêmeas (f), e produção de TBARS nos machos (g) e nas fêmeas (h) após tratamento crônico de 17 dias com BD 50. Cada valor representa a média + erro padrão da média (EPM) de 8 a 12 animais. \* $p < 0,05$  comparado ao grupo controle tratado com água destilada. Grupos: controle, BD 50 e fluoxetina (10 mg/kg). Análise realizada por *one-way ANOVA* seguida de pós-teste de *Tukey*.

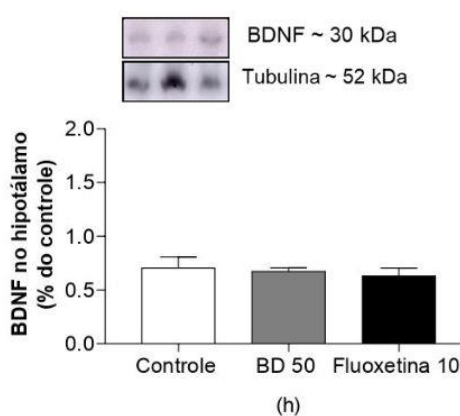
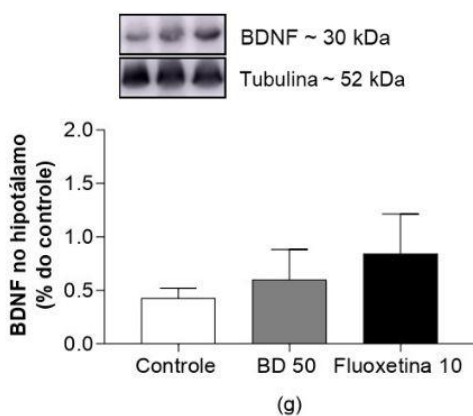
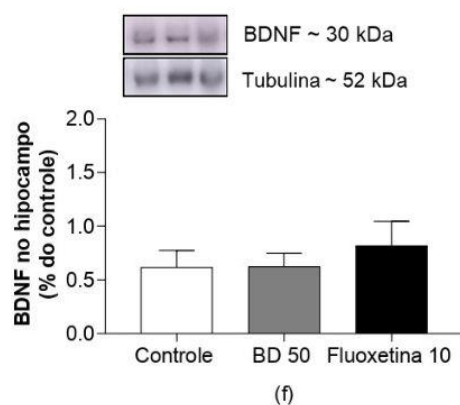
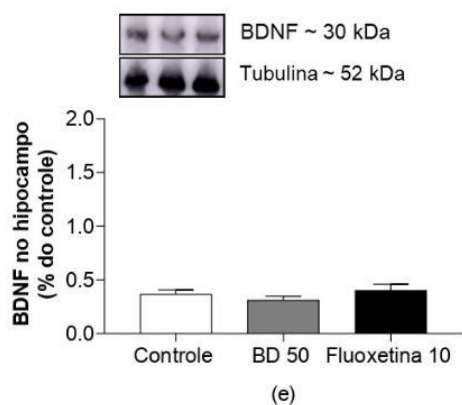
#### 6.4 AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DO BDNF RELACIONADA AO EFEITO NEUROPROTETOR

Nos machos, a *one-way ANOVA* não revelou diferenças significativas entre os tratamentos nas regiões cerebrais analisadas: córtex pré-frontal ( $F(2, 12) = 0,5474$ ,  $p = 0,5922$ ), corpo estriado ( $F(2, 12) = 0,06226$ ,  $p = 0,9399$ ), hipocampo ( $F(2, 12) = 1,048$ ,  $p = 0,3806$ ) e hipotálamo ( $F(2, 12) = 0,5640$ ,  $p = 0,5833$ ), conforme ilustrado na Figura 26 (a), (c), (e) e (g). Não houve aumento significativo na expressão de BDNF nas regiões analisadas nos machos tratados com BD 50 ou fluoxetina (10 mg/kg) em comparação ao grupo controle, sugerindo a ausência de efeitos significativos sobre a expressão de BDNF.

De forma análoga, nas fêmeas, a *one-way ANOVA* demonstrou que não houve diferença significativa entre os tratamentos nas regiões cerebrais analisadas: córtex pré-frontal ( $F(2, 12) = 0,01068$ ,  $p = 0,9894$ ), corpo estriado ( $F(2, 12) = 0,1755$ ,  $p = 0,8411$ ), hipocampo ( $F(2, 12) = 0,4201$ ,  $p = 0,6663$ ) e hipotálamo ( $F(2, 12) = 0,2401$ ,  $p = 0,7902$ ). Esses resultados sugerem a ausência de efeito neuroprotetor, uma vez que não foi observada alteração significativa na expressão de BDNF nas regiões analisadas após o tratamento crônico com BD 50 ou fluoxetina (10 mg/kg), conforme ilustrado na Figura 26 (b), (d), (f) e (h).

Figura 26 – Efeitos do BD 50 nos animais na expressão de BDNF





Fonte: Da autora. Criado em *GraphPad Prism 8*.

Legenda: Efeitos do BD 50 na expressão de BDNF em estruturas cerebrais de ratos Wistar machos e fêmeas. Expressão de BDNF no córtex pré-frontal nos machos (a) e nas fêmeas (b), expressão de BDNF no corpo estriado nos machos (c) e nas fêmeas (d), expressão de BDNF no hipocampo nos machos (e) e nas fêmeas (f), e expressão de BDNF no hipotálamo machos (g) e nas fêmeas (h) após tratamento crônico de 17 dias com BD 50. Cada valor representa a média + erro padrão da média (EPM) de 5 animais. Grupos: controle, BD 50 e fluoxetina (10 mg/kg). Análise realizada por *one-way ANOVA* seguida de pós-teste de *Tukey*.

## 7 DISCUSSÃO

No presente trabalho, a análise fitoquímica dos compostos voláteis na fração hexânica do extrato de *B. dracunculifolia*, realizada por CG-EMS, identificou 7 compostos, sendo 5 deles terpenoides (ANEXO A). Além disso, a técnica de UHPLC-MS-ESI-QTOF revelou a presença de 29 compostos fenólicos, dos quais 20 são flavonoides, além de dois compostos cumarínicos (ANEXO B). O potencial biológico de *B. dracunculifolia* está amplamente associado à presença de compostos fenólicos e terpenoides (Minteguiaga *et al.*, 2022), com estudos demonstrando que esses compostos exercem efeitos antioxidantes, neuroprotetores, ansiolíticos e antidepressivos em modelos animais (Nakazawa *et al.*, 2003; Bouayed *et al.*, 2007; Guzmán-Gutiérrez *et al.*, 2012; Toratani *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2014; Piccinelli *et al.*, 2015; Holzmann *et al.*, 2015; Takashima; Ichihara; Hirata, 2019; Boiangiu *et al.*, 2020; Shahinozzaman *et al.*, 2020; Kaur *et al.*, 2021; Kulkarni *et al.*, 2021; Alghamdi *et al.*, 2022; Bijani *et al.*, 2022; Sur; Lee, 2022; Li *et al.*, 2022; Olubodun-Obadun *et al.*, 2023; Mokhtari; Lu; El-Kenawy, 2023; Díaz-Cantón *et al.*, 2024; Nieto Camacho; Baca Ibarra; Herta-Reyes, 2024; Chen *et al.*, 2024; Alkanat; Alkanat, 2024; Cao *et al.*, 2024).

A administração crônica de BD 50 por 14 dias consecutivos em ratos Wistar machos resultou em efeitos comportamentais que sugerem uma ação ansiolítica nos testes LTE e CA, embora não tenham sido observados efeitos no teste de CE. A fluoxetina, utilizada como controle positivo, é um antidepressivo da classe dos ISRS, reconhecida também por sua eficácia no tratamento de transtornos de ansiedade (Rush *et al.*, 2006; Bandelow *et al.*, 2020). No presente estudo, a fluoxetina (10 mg/kg) demonstrou efeitos ansiolíticos significativos nos testes LTE e CA, mas não produziu resultados no CE, de forma similar ao extrato de BD 50. Em contraste, as fêmeas tratadas com BD 50 durante 14 dias consecutivos apresentaram um efeito ansiolítico em todos os testes comportamentais (LTE, CA e CE). Por sua vez, as fêmeas tratadas com fluoxetina (10 mg/kg) apresentaram efeito ansiolítico nos testes LTE e CA, mas não no CE, além de um efeito panicolítico no LTE, evidenciado pela redução na resposta de fuga.

No LTE, foi observada uma redução significativa na latência de esquia inibitória nos machos tratados com BD 50 e fluoxetina (10 mg/kg) em comparação com o controle, sem alteração na latência de fuga, sugerindo um efeito ansiolítico, mas não panicolítico (Zangrossi; Graeff, 2014). Os resultados de Sur e Lee (2022)

corroboram nossos dados, mostrando um efeito ansiolítico no LCE, evidenciado pelo aumento da exploração dos braços abertos em ratos submetidos a estresse prolongado após 14 dias de tratamento com luteolina, um composto presente em nosso extrato. Contudo, essa comparação é limitada, pois, enquanto a luteolina é um composto isolado, o extrato da planta contém múltiplas substâncias bioativas que podem interagir de forma sinérgica ou antagônica. Além disso, embora o modelo experimental seja diferente, Gomes *et al.* (2009) demonstraram que uma dose mais alta de fluoxetina (40 mg/kg) reduziu a latência de esquiva inibitória em camundongos Swiss, reforçando nossos achados. No entanto, diferentemente do que observamos, Lemes *et al.* (2023) relataram um efeito panicolítico da fluoxetina (10 mg/kg) após 21 dias de tratamento em ratos Wistar, o que pode estar relacionado à maior duração do tratamento.

Nas fêmeas, o tratamento crônico com BD 50 reduziu significativamente a latência basal, esquiva 1 e esquiva 2 no LTE, evidenciando um efeito ansiolítico robusto, mas sem efeito panicolítico na fuga. Em contrapartida, a fluoxetina (10 mg/kg), utilizada como controle positivo, apresentou efeitos ansiolíticos e panicolíticos no LTE. Esses achados são consistentes com o estudo de Reis *et al.* (2014), que, devido à similaridade metodológica entre os testes LCE e LTE e à composição química semelhante entre a própolis verde e *B. dracunculifolia*, relataram efeitos ansiolíticos do extrato de própolis verde em ratas Wistar, evidenciados pelo aumento de entradas nos braços abertos no LCE. De forma complementar, Lapmanee, Charoenphandhu e Charoenphandhu (2013) relataram que ratos Wistar machos submetidos ao estresse por contenção e tratados com fluoxetina (10 mg/kg) durante quatro semanas apresentaram redução na latência de esquiva inibitória no LTE, reforçando os efeitos ansiolíticos observados em nosso estudo com o controle positivo. Além disso, Zanoveli *et al.* (2010) demonstraram efeitos panicolíticos em ratos Wistar machos tratados com fluoxetina (10 mg/kg) por 21 dias, o que corrobora nossos achados, apesar das diferenças no sexo dos animais e nas condições experimentais.

Ademais, nos machos, o tratamento crônico com BD 50 resultou em aumento significativo na distância percorrida no teste de CA, maior tempo e número de entradas na área central, além de redução no tempo gasto na área periférica, o que caracteriza um claro efeito ansiolítico. Este achado é consistente com estudos que investigaram compostos presentes no extrato de *B. dracunculifolia*, como o  $\beta$ -pineno e o ácido clorogênico, que também demonstraram efeito ansiolítico em camundongos no teste

de CA (Bouayed *et al.*, 2007; Díaz-Cantón *et al.*, 2024). Quanto ao controle positivo, um estudo demonstrou que a administração de fluoxetina (1 e 5 mg/kg) por 7 dias resultou em efeitos ansiolíticos no CA em ratos Wistar, evidenciados pelo aumento da atividade locomotora e pelo maior tempo gasto na área central (Farhan; Haleem, 2016). De acordo com Prut e Belzung (2003), ansiolíticos induzem aumento da locomoção central, e os resultados do presente estudo confirmam que tanto o BD 50 quanto a fluoxetina (10 mg/kg) promoveram aumento da atividade locomotora central no CA.

Recentemente, Laranjeira *et al.* (2024) investigaram a administração crônica do extrato de *B. dracunculifolia* (50 e 100 mg/kg), de composição semelhante à utilizada neste estudo, em ratas Wistar com osteoartrite, mas não observaram efeito ansiolítico no teste de CA. Em contraste, em nosso experimento, o tratamento com BD 50 não aumentou o tempo ou o número de entradas no centro do CA, mas elevou a distância percorrida e a atividade locomotora em comparação com o grupo controle, o que é um indicativo de efeito ansiolítico, colaborado com os resultados no LTE. Esse efeito está em consonância com o estudo de Reis *et al.* (2014), que avaliou um extrato de própolis verde contendo compostos bioativos, como kaempferida, isosakuranetina e artepilina C, e observou um aumento na distância percorrida por ratas Wistar no teste de CA, reforçando a hipótese de que esses compostos desempenham um papel na modulação da atividade locomotora e na redução de comportamentos relacionados à ansiedade. Adicionalmente, as fêmeas tratadas com o controle positivo, fluoxetina (10 mg/kg), apresentaram aumento na distância percorrida, no número de entradas e no tempo gasto na área central, acompanhado por uma redução do tempo na área periférica, evidenciando um claro efeito ansiolítico da fluoxetina, em concordância com estudos prévios, como o de Farhan e Haleem (2016).

Toratani *et al.* (2014) mostraram que o ácido cafeico, presente no extrato de *B. dracunculifolia*, apresentou efeito ansiolítico em camundongos estressados após 14 dias de tratamento no teste de CE, ao aumentar o tempo no campo claro. Em contraste, a fluvoxamina (3 µmol/kg), antidepressivo ISRS utilizado como controle positivo no estudo, só demonstrou efeito ansiolítico após 21 dias. Esses resultados divergem dos nossos, visto que BD 50 e fluoxetina (10 mg/kg) não produziram efeito ansiolítico no teste CE em ratos Wistar machos após 14 dias de tratamento, o que sugere que o período de tratamento tenha sido insuficiente para manifestar efeitos ansiolíticos. Além disso, Bouayed *et al.* (2007) também observaram que o ácido

clorogênico, outro composto presente no extrato, produziu efeito ansiolítico em camundongos no teste de CE, o que não ocorreu em nosso estudo com ratos, sugerindo também que a resposta ao tratamento pode variar entre as espécies. Ademais, um estudo com ratos Wistar diabéticos, que utilizou fluoxetina na dose de 10 mg/kg por 23 dias como controle positivo, não conseguiu desencadear efeito ansiolítico no CE, indicando que a dose relativamente baixa pode ter limitado os efeitos ansiolíticos esperados (Pereira *et al.*, 2018).

O teste de CE baseia-se na aversão inata de roedores a áreas muito iluminadas e no seu comportamento exploratório espontâneo em situações estressantes, como a exposição a um ambiente novo e à luz intensa (Crawley; Goodwin, 1980). A eficácia de um composto ansiolítico em estimular a atividade exploratória pode variar conforme o nível basal desse comportamento no grupo controle (Hascoët; Bourin; Dhonnchadha, 2001). Nos resultados obtidos, observou-se que as fêmeas apresentaram um comportamento distinto em relação aos machos, com um aumento significativo no número de entradas no campo claro após o tratamento com BD 50, o que sugere uma maior atividade exploratória, estando em concordância com os resultados observados no CA. No entanto, não foram observadas alterações no tempo de permanência no campo claro ou escuro, o que também contrasta com os achados de Toratani *et al.* (2014) e Bouayed *et al.* (2007), que relataram aumento no tempo gasto no campo claro por camundongos tratados com ácido cafeico e ácido clorogênico, respectivamente. Por sua vez, a fluoxetina (10 mg/kg) não levou a alterações nos parâmetros analisados no teste CE, corroborando os resultados obtidos nos machos e reforçando as observações de Pereira *et al.* (2018) sobre a possível limitação da dose utilizada nesse modelo experimental.

Além disso, no presente estudo, a administração crônica de BD 50 por 14 e 15 dias não resultou em efeitos antidepressivos significativos nos testes NF e PPS realizados com ratos Wistar machos. Esses achados sugerem que, embora o BD 50 tenha demonstrado propriedades ansiolíticas nos machos, ele não foi capaz de reverter comportamentos semelhantes à depressão nesses animais. De forma semelhante, o tratamento crônico com fluoxetina (10 mg/kg), controle positivo utilizado, também não promoveu efeitos antidepressivos nos testes comportamentais aplicados. A ausência de respostas significativas pode estar associada a fatores como a dose utilizada, a duração do tratamento ou diferenças nos mecanismos neurobiológicos envolvidos nos efeitos ansiolíticos e antidepressivos. Por outro lado,

nas fêmeas, o tratamento com BD 50 e fluoxetina (10 mg/kg) resultou em um efeito antidepressivo significativo no teste de NF, embora não tenha sido observado o mesmo resultado no PPS. Essa divergência entre os sexos pode estar relacionada a variações hormonais, metabólicas ou neuroquímicas que modulam a resposta aos compostos, destacando a relevância de considerar o dimorfismo sexual em estudos farmacológicos.

No teste de NF, os machos tratados com BD 50 não apresentaram redução no tempo de imobilidade em comparação ao grupo controle, um indicativo clássico de efeito antidepressivo. Esse resultado difere dos achados em estudos com  $\beta$ -pineno, kaempferol, quercetina e apigenina, compostos presentes no extrato, que demonstraram efeito antidepressivo em camundongos sem comorbidades, com depressão induzida por estreptozotocina e fêmeas com falência ovariana submetidos ao NF (Nakazawa *et al.*, 2003; Guzmán-Gutiérrez *et al.*, 2012; Bijani *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2022; Olubodun-Obadun *et al.*, 2023), ressaltando a influência do modelo experimental e do sexo na resposta ao tratamento. Além disso, estudos com fluoxetina (10 mg/kg) como controle positivo demonstraram efeito antidepressivo no NF em ratos e camundongos após 21 dias de tratamento, sugerindo que o período de 14 dias adotado neste estudo pode ter sido insuficiente para induzir um efeito robusto, dado o tempo de latência típico dos ISRS (2 a 4 semanas) (Bandelow; Michaelis; Wedekind, 2017; Jahromy; Baghchesara; Javanshir, 2022; Liu *et al.*, 2023).

Por outro lado, as fêmeas tratadas com BD 50 e fluoxetina (10 mg/kg) por 14 dias apresentaram um efeito antidepressivo claro no teste de NF, com redução significativa do tempo de imobilidade em comparação ao grupo controle. Esse achado está em concordância com Reis *et al.* (2014), que também observaram efeito antidepressivo em ratas Wistar tratadas com própolis verde. Além disso, contrasta com Laranjeira *et al.* (2024), que não observaram efeito antidepressivo no NF após a administração crônica por 5 semanas do extrato de *B. dracunculifolia* (100 mg/kg), de composição semelhante à deste estudo, em ratas Wistar com osteoartrite. Diferentemente dos achados de Lifschytz *et al.* (2006), que relataram redução da imobilidade em machos, mas não em fêmeas, após 7 dias de fluoxetina (10 mg/kg), nossos resultados mostram que o tratamento por 14 dias reduziu a imobilidade nas fêmeas, mas não nos machos. Essa discrepância pode estar relacionada à duração do tratamento ou a mecanismos distintos de resposta entre os sexos, destacando a complexidade do dimorfismo sexual na eficácia de antidepressivos.

Quanto ao teste de PPS, a preferência pela solução de sacarose não foi alterada nos ratos machos tratados com BD 50 e fluoxetina (10 mg/kg), apontando ausência de impacto na anedonia. A anedonia, caracterizada pela perda de interesse ou prazer em atividades previamente prazerosas, é um dos principais sintomas dos transtornos depressivos (Rutherford; Mcdougale, 2023). Em modelos animais, este comportamento pode ser avaliado pelo teste de PPS, já que soluções adocicadas geralmente provocam uma resposta hedônica em roedores (Leeb *et al.*, 1991; Primo *et al.*, 2023). Sendo assim, Alghamdi *et al.* (2022) demonstraram que o tratamento com apigenina, um dos compostos presentes no extrato, promoveu efeito antianedônico no teste de PPS em camundongos submetidos a estresse crônico leve, o que contrasta com os resultados do presente estudo, sugerindo que essa divergência possa estar relacionada a fatores como o modelo experimental adotado, por exemplo. Quanto ao controle positivo, o resultado pode ter correlação com o tempo de tratamento, visto que estudos com fluoxetina na mesma dose, mas com um período de administração maior, evidenciaram efeito antianedônico em ratos (Huang *et al.*, 2022; Patil; Aswar; Vyas, 2023).

De maneira semelhante, nas fêmeas, também não foi observada alteração na preferência pela solução de sacarose após o tratamento crônico com BD 50 e fluoxetina (10 mg/kg). Esses resultados contrastam com os de Laranjeira *et al.* (2024), que relataram efeito antianedônico com o tratamento com extrato de *B. dracunculifolia* (100 mg/kg) por 5 semanas em ratas Wistar com osteoartrite, sugerindo que a dose e a duração do tratamento no presente estudo podem ter sido insuficientes para evidenciar esse efeito. Além disso, em relação ao controle positivo, como já mencionado anteriormente, pesquisas mostraram que a administração de fluoxetina na mesma dose, mas durante um período mais prolongado, promoveu um efeito antianedônico em ratos, reforçando que o tempo de tratamento pode ter sido insuficiente (Huang *et al.*, 2022; Patil; Aswar; Vyas, 2023).

Entre os diversos mecanismos que podem estar envolvidos na ação ansiolítica e antidepressiva do BD 50 e de seus componentes, destaca-se a possível ativação das defesas antioxidantes no SNC. Para investigar suas propriedades antioxidantes, foram analisados biomarcadores importantes do estresse oxidativo, como CAT, SOD, GSH e TBARS, avaliando o impacto no sistema antioxidante e na oxidação lipídica no encéfalo de ratos Wistar machos e fêmeas. Os resultados demonstraram que o tratamento com BD 50 induziu efeitos distintos entre os sexos. Nos machos, observou-

se um aumento significativo na atividade das enzimas antioxidantes CAT e SOD, indicando um efeito antioxidante no SNC, embora não tenha sido detectada alteração nos níveis de GSH ou TBARS. Por outro lado, nas fêmeas, não houve mudanças significativas nos níveis de CAT, SOD, GSH ou TBARS.

Em relação ao aumento da atividade das enzimas antioxidantes CAT e SOD no encéfalo dos machos tratados com BD 50, a literatura sugere que compostos presentes no extrato de *B. dracunculifolia* podem estar diretamente envolvidos nesse efeito. O estudo de Li *et al.* (2022) demonstrou que o kaempferol, um flavonoide presente no extrato, elevou a expressão de SOD2 no hipocampo de camundongos fêmeas com modelo de falência ovariana, indicando um potencial mecanismo de ação semelhante. Adicionalmente, França *et al.* (2022) relataram que o tratamento crônico com extrato de *B. dracunculifolia* (300 mg/kg) aumentou a atividade de SOD no hipocampo de camundongos com colite ulcerativa, embora não tenha alterado a atividade de CAT, o que contrasta parcialmente com os resultados deste estudo. Outros compostos presentes no extrato, como a luteolina, o limoneno e o nerolidol, também foram associados ao aumento da atividade de SOD e CAT no cérebro de ratos com comorbidades, conforme observado em estudos anteriores (Boiangiu *et al.*, 2020; Kaur *et al.*, 2021; Mokhtari; Lu; El-Kenawy, 2023). Em relação à fluoxetina, um estudo não detectou aumento na atividade de CAT e SOD no tecido cerebral de ratos após tratamento crônico com a dose de 10 mg/kg durante 14 dias, resultado que é consistente com os nossos achados (Jasib Habeeb; Mohammed Selman; Jeafer Mehrath, 2022).

Por outro lado, o tratamento com BD 50 não induziu alterações na atividade das enzimas CAT e SOD nas fêmeas, divergindo de estudos anteriores que utilizaram extrato de *B. dracunculifolia* e seus constituintes, os quais observaram aumento na atividade dessas enzimas no SNC de animais tratados (Boiangiu *et al.*, 2020; Kaur *et al.*, 2021; Mokhtari *et al.*, 2023; França *et al.*, 2022). A ausência de efeito pode ser atribuída a diferenças hormonais e metabólicas nas fêmeas, que conferem um sistema antioxidante basal mais eficiente, reduzindo a necessidade de uma resposta robusta ao tratamento (Ide *et al.*, 2002; Borrás *et al.*, 2003; Miller *et al.*, 2007; Khalifa *et al.*, 2017; Tenkorang; Snyder; Cunningham, 2018). Estas diferenças nas respostas antioxidantes entre machos e fêmeas, também pode sugerir que mecanismos distintos, entre os sexos, estejam envolvidos nos efeitos comportamentais observados. Enquanto machos e fêmeas apresentaram efeito ansiolítico, apenas as

fêmeas exibiram efeito antidepressivo nos testes comportamentais. Segundo a literatura, o ácido cafeico, um dos compostos presentes no extrato, exerceu efeitos ansiolíticos e antidepressivos em camundongos fêmeas por meio da modulação de sistemas neurotransmissores, como os sistemas GABAérgico e monoaminérgico (Monteiro et al., 2020). Esses mecanismos, independentes da atividade antioxidante, podem explicar os efeitos comportamentais observados nas fêmeas, sugerindo que o BD 50 atua por vias distintas para promover seus efeitos ansiolíticos e antidepressivos, dependendo do sexo. Por fim, assim como nos machos, a fluoxetina (10 mg/kg) não aumentou a atividade de CAT e SOD nos encéfalos das fêmeas, resultado consistente com o estudo de Jasib Habeeb, Mohammed Selman e Jeafer Mehrath (2022).

Na presente pesquisa, a administração crônica de BD 50 não alterou os níveis de GSH no encéfalo de ratos Wistar machos. Esses achados contrastam com estudos anteriores que demonstraram que a apigenina, composto presente no extrato, aumentou os níveis de GSH no cérebro de camundongos comprometidos (Alghamdi et al., 2022; Bijani et al., 2022), o que sugere que o modelo experimental pode interferir na resposta do tratamento. Ainda, França et al. (2022) relataram aumento dos níveis de GSH no hipocampo de camundongos com colite ulcerativa tratados com extrato de *B. dracunculifolia* na dose de 300 mg/kg. No entanto, a estabilidade dos níveis de GSH observada em nosso estudo pode estar relacionada ao aumento da atividade da CAT. A CAT reduz o  $H_2O_2$ , que também é um substrato da GPx, e a GPx utiliza a GSH para converter o  $H_2O_2$  em água e oxigênio. Assim, o aumento da atividade da CAT pode ter reduzido a demanda da GPx para neutralização do  $H_2O_2$ , resultando na manutenção dos níveis de GSH (Martemucci et al., 2022). Vale destacar que, no estudo de França et al. (2022), não foi observado aumento da atividade de CAT no hipocampo, o que reforça a explicação para a estabilidade de GSH em nosso experimento. Além disso, o tratamento com fluoxetina (10 mg/kg) também não alterou os níveis de GSH, o que difere de um estudo em que fluoxetina (30 mg/kg) por 7 dias aumentou os níveis de GSH no hipocampo de camundongos com depressão induzida por lipopolissacarídeo (Dos Santos et al., 2023), sugerindo que a dose ou o modelo experimental possam ter influenciado os resultados.

De modo semelhante, a administração crônica de BD 50 também não alterou os níveis de GSH no encéfalo das fêmeas. Como citado anteriormente, a inexistência de efeito antioxidante nas fêmeas pode ser atribuída a diferenças intrínsecas entre os

sexos, que proporcionam um sistema antioxidante mais eficiente (Ide *et al.*, 2002; Borrás *et al.*, 2003; Miller *et al.*, 2007; Khalifa *et al.*, 2017; Tenkorang; Snyder; Cunningham, 2018). Além disso, a dose de BD 50 utilizada e o tempo de tratamento podem ter sido insuficientes para induzir mudanças significativas, uma vez que estudos anteriores, como o de França *et al.* (2022), observaram efeitos antioxidantes com o extrato de *B. dracunculifolia* com doses mais altas e períodos mais prolongados de administração. A influência do sexo e das condições experimentais na resposta ao tratamento é corroborada por estudos com apigenina, composto presente no extrato, que aumentou os níveis de GSH no cérebro de camundongos machos em modelos comprometidos (Alghamdi *et al.*, 2022; Bijani *et al.*, 2022). Ainda, a ausência de alterações nos níveis de GSH em resposta à fluoxetina (10 mg/kg), tanto em machos quanto em fêmeas, reforça a hipótese de que a dose ou o modelo experimental podem ter sido fatores limitantes para a detecção de efeitos significativos (Dos Santos *et al.*, 2023).

O estresse oxidativo induz a oxidação dos lipídios, resultando na formação de MDA, que pode ser quantificado pelo ensaio de TBARS, utilizado para detectar substâncias reativas ao TBA (De Leon; Borges, 2020). No estudo em questão, os ratos Wistar machos estavam em condições basais, livres de patologias que poderiam influenciar o estresse oxidativo, levando à expectativa de que os níveis de TBARS se mantivessem estáveis. Em contraste, no estudo de Mokhtari, Lu e El-Kenawy (2023), animais com dor neuropática crônica apresentaram um aumento significativo de MDA no hipocampo e córtex pré-frontal, que foi reduzido pelo tratamento com luteolina, um composto presente no extrato. No entanto, nossos resultados corroboraram a hipótese de estabilidade, visto que após a administração crônica de BD 50 não houve aumento na produção de TBARS. Esses achados sugerem que, embora o tratamento crônico com BD 50 tenha elevado a atividade antioxidante nos machos, não houve impacto na peroxidação lipídica, indicando que não ocorreram danos oxidativos adicionais às membranas celulares no encéfalo dos ratos. Fluoxetina (10 mg/kg) também não alterou significativamente os níveis de TBARS nos machos. Em outro estudo, fluoxetina (15 mg/kg) em ratos diabéticos reduziu a produção de TBARS após 4 semanas de tratamento, sugerindo que o efeito pode ser dependente da dose e da condição experimental (Rebai; Jasmin; Boudah, 2017).

De forma semelhante ao observado nos machos, a administração crônica de BD 50 não resultou em aumento na produção de TBARS no encéfalo das fêmeas,

confirmando a estabilidade dos níveis de peroxidação lipídica. Em contraponto, estudos com ratos e camundongos que apresentavam comorbidades evidenciaram aumento nos níveis de MDA no cérebro, os quais foram atenuados após o tratamento com compostos como ácido clorogênico, apigenina e limoneno, presentes no extrato (Boiangiu *et al.*, 2020; Alghamdi *et al.*, 2022; Bijani *et al.*, 2022; Nieto Camacho; Baca Ibarra; Herta-Reyes, 2024). Além disso, o tratamento com fluoxetina (10 mg/kg) não promoveu alterações significativas nos níveis de TBARS nas fêmeas, contrastando com os dados de Rebai, Jasmin e Boudah (2017) e reforçando que o efeito pode variar conforme a dose e as condições experimentais. Esses resultados sugerem que, tanto para machos quanto para fêmeas, o tratamento com BD 50 e fluoxetina não induziu danos oxidativos adicionais, preservando a integridade das membranas celulares no encéfalo.

Considerando a importância do BDNF na neuroplasticidade e neurogênese, investigamos se o tratamento crônico com BD 50 e fluoxetina (10 mg/kg) aumentaria a expressão dessa proteína em estruturas cerebrais, correlacionando esses achados com os comportamentos observados em ratos Wistar machos e fêmeas. Os resultados demonstraram que nem o BD 50 nem a fluoxetina (10 mg/kg) aumentaram a expressão de BDNF em regiões cerebrais como córtex pré-frontal, corpo estriado, hipocampo e hipotálamo em ambos os sexos.

Nos machos, o tratamento crônico com BD 50 não aumentou significativamente a expressão de BDNF nas regiões cerebrais analisadas. Esse resultado contrasta com estudos que utilizaram compostos isolados presentes no extrato, como  $\beta$ -pineno, que aumentou os níveis de BDNF no hipocampo e córtex pré-frontal de camundongos (Díaz-Cantón *et al.*, 2024), e ácido p-cumárico, que elevou o BDNF no hipocampo de camundongos submetidos a estresse por restrição (Cao *et al.*, 2024). Essa divergência pode ser atribuída a diferenças no modelo animal, uma vez que ratos e camundongos apresentam variações fisiológicas e metabólicas que influenciam a resposta aos tratamentos. Além disso, a ausência de comorbidades no presente estudo pode ter limitado a indução de alterações significativas na expressão de BDNF, enquanto em modelos com comorbidades, os compostos podem ter atuado de forma mais pronunciada devido ao estado de desequilíbrio neuroquímico. A complexidade do extrato bruto, que contém uma mistura de compostos bioativos com possíveis interações sinérgicas ou antagônicas, também pode explicar a diferença em relação aos efeitos específicos observados com constituintes isolados. Adicionalmente, o

tratamento com fluoxetina (10 mg/kg) também não aumentou a expressão de BDNF nas estruturas cerebrais dos machos, contrastando com o estudo de Zuo *et al.* (2024), que observou aumento de BDNF no hipocampo de camundongos com obesidade na mesma dose. Essa diferença pode ser justificada pelas variações no modelo animal e nas condições experimentais.

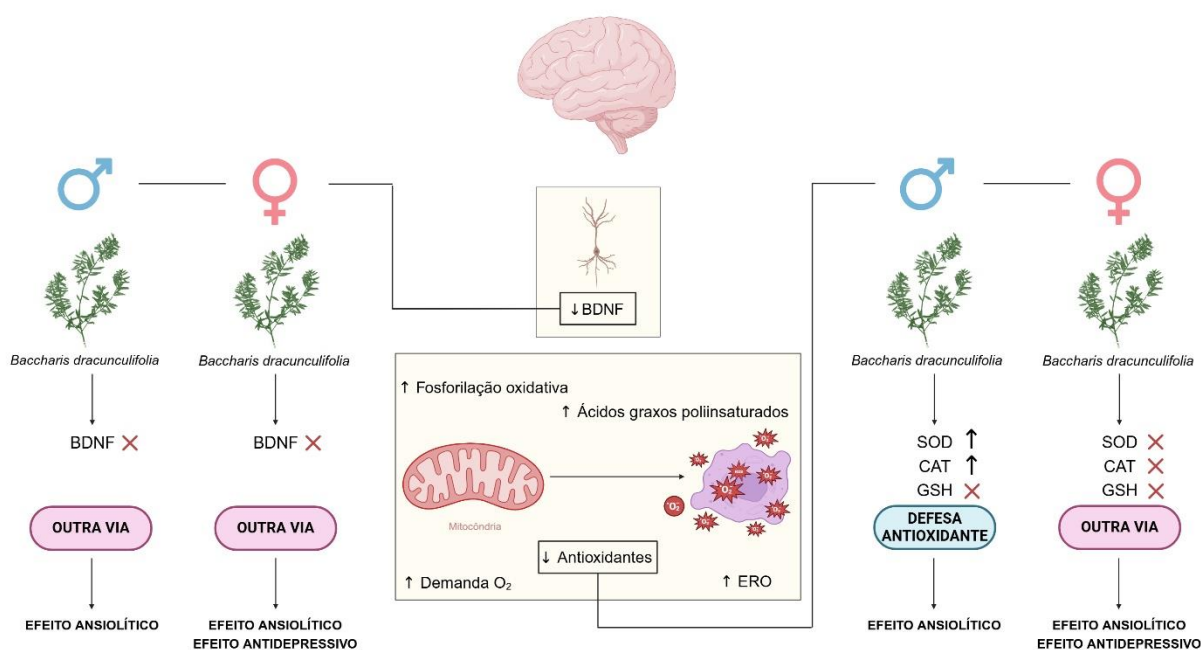
Em relação às fêmeas, o tratamento com BD 50 não aumentou a expressão de BDNF nas estruturas cerebrais analisadas, o que contrasta com o estudo de Alkanat e Alkanat (2024), no qual o D-limoneno, um composto presente no extrato, elevou os níveis de BDNF no hipocampo de ratos machos submetidos a estresse crônico por contenção. Essa discrepância pode ser explicada, em parte, pela ausência de comorbidades no presente estudo. Além disso, a utilização de compostos isolados pode resultar em efeitos mais específicos em comparação ao extrato bruto. Outro fator relevante é que a diferença no sexo dos animais também pode contribuir para os resultados divergentes, uma vez que respostas neuroquímicas e comportamentais variam significativamente entre machos e fêmeas. Adicionalmente, a fluoxetina (10 mg/kg) também não aumentou a expressão de BDNF nas fêmeas, o que diverge do estudo de Li *et al.* (2017), que demonstrou aumento de BDNF em ratos machos submetidos a estresse agudo. Essa diferença pode ser atribuída às variações nas condições experimentais e nas respostas neuroquímicas dependentes do sexo.

Assim, a hipótese deste estudo foi parcialmente refutada. Esperava-se que o tratamento crônico com BD 50 aumentasse a expressão de BDNF, a atividade de SOD e CAT, e os níveis de GSH no SNC, resultando em efeitos ansiolíticos e antidepressivos tanto em machos quanto em fêmeas. Contudo, os resultados demonstraram que, nos machos, o BD 50 promoveu efeito ansiolítico nos testes comportamentais, acompanhado pelo aumento da atividade de SOD e CAT, mas sem elevação nos níveis de BDNF, sugerindo que o mecanismo ansiolítico está relacionado à modulação do estresse oxidativo no SNC. Já nas fêmeas, o BD 50 induziu efeitos ansiolíticos e antidepressivos, mas sem aumento na expressão de BDNF ou de antioxidantes, indicando que os efeitos comportamentais são mediados por uma via alternativa, independente da modulação do estresse oxidativo ou da neuroproteção. Esses achados destacam a complexidade dos mecanismos envolvidos e a necessidade de estudos futuros para elucidar as vias alternativas responsáveis pelos efeitos observados, especialmente nas fêmeas, e para explorar o potencial terapêutico do BD 50 de forma mais abrangente.

## 8 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo evidenciam que o tratamento crônico com BD 50 promove respostas distintas entre machos e fêmeas, destacando a relevância do dimorfismo sexual na farmacologia. Nos machos, o BD 50 exibiu efeito ansiolítico, associado ao aumento da atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT e à estabilidade de TBARS no encéfalo, mas sem efeito antidepressivo ou alteração nos níveis de BDNF, sugerindo que o mecanismo ansiolítico possa estar relacionado à modulação do estresse oxidativo no SNC. Nas fêmeas, o BD 50 apresentou efeitos ansiolítico e antidepressivo, porém sem ação antioxidante ou neuroprotetora no SNC, indicando uma via alternativa independente da modulação do estresse oxidativo e da neuroproteção. A elucidação dessa via demanda estudos futuros, visando o desenvolvimento de tratamentos que considerem as diferenças sexuais, para transtornos de ansiedade e depressão.

Figura 27 – Síntese dos resultados e conclusão da hipótese do estudo



Fonte: Da autora. Criado em <https://BioRender.com>.

## REFERÊNCIAS

- AEBI, Hugo. Catalase *in vitro*. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121-126, 1984.
- ALGHAMDI, Adel *et al.* Potential antioxidant activity of apigenin in the obviating stress-mediated depressive symptoms of experimental mice. **Molecules**, v. 27, n. 24, p. 9055, 2022.
- ALI, Syed Saqib *et al.* Understanding oxidants and antioxidants: classical team with new players. **Journal of Food Biochemistry**, v. 44, n. 3, p. e13145, 2020.
- ALKANAT, Mehmet; ALKANAT, Hafize Özdemir. D-Limonene reduces depression-like behaviour and enhances learning and memory through an anti-neuroinflammatory mechanism in male rats subjected to chronic restraint stress. **European Journal of Neuroscience**, v. 60, n. 4, p. 4491-4502, 2024.
- ALLARD, Pierre-Marie *et al.* Integration of molecular networking and in-silico MS/MS fragmentation for natural products dereplication. **Analytical Chemistry**, v. 88, n. 6, p. 3317-3323, 2016.
- ALONSO, S. Josefina *et al.* Sex differences in behavioral despair: relationships between behavioral despair and open field activity. **Physiology & Behavior**, v. 49, n. 1, p. 69-72, 1991.
- ALVES, Kyvia F. *et al.* *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) essential oil toxicity to *Culex quinquefasciatus* (Culicidae). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 31718-31726, 2018.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5-TR. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2023.
- AMODEO, Leslie R. *et al.* Intermittent voluntary ethanol consumption combined with ethanol vapor exposure during adolescence increases drinking and alters other behaviors in adulthood in female and male rats. **Alcohol**, v. 73, p. 57-66, 2018.
- ANDRADE, S. *et al.* Sex-dependent antidepressant effects of lower doses of progesterone in rats. **Physiology & Behavior**, v. 99, n. 5, p. 687-690, 2010.
- ARCHER, John. Rodent sex differences in emotional and related behavior. **Behavioral Biology**, v. 14, n. 4, p. 451-479, 1975.
- ARCHER, John. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Animal Behaviour**, v. 21, n. 2, p. 205-235, 1973.
- ARDUIN, M.; FERNANDES, G. W.; KRAUS, J. E. Morphogenesis of galls induced by *Baccharopelma dracunculifoliae* (Hemiptera: Psyllidae) on *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) leaves. **Brazilian Journal of Biology**, v. 65, p. 559-571, 2005.

ATAACK, John R. Anxiolytic compounds acting at the GABA<sub>A</sub> receptor benzodiazepine binding site. **Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders**, v. 2, n. 4, p. 213-232, 2003.

ATEAQUE, Sarah; MERKOURIS, Spyros; BARDE, Yves-Alain. Neurotrophin signalling in the human nervous system. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 16, p. 1225373, 2023.

BANDELOW, Borwin *et al.* World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) guidelines for treatment of anxiety, obsessive-compulsive and posttraumatic stress disorders—Version 3. Part I: anxiety disorders. **The World Journal of Biological Psychiatry**, v. 24, n. 2, p. 79-117, 2023.

BANDELOW, Borwin. Current and novel psychopharmacological drugs for anxiety disorders. **Anxiety Disorders: Rethinking and Understanding Recent Discoveries**, p. 347-365, 2020.

BANDELOW, Borwin; MICHAELIS, Sophie; WEDEKIND, Dirk. Treatment of anxiety disorders. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 19, n. 2, p. 93-107, 2017.

BANKOVA, Vassya *et al.* Phytochemical evidence for the plant origin of Brazilian propolis from São Paulo State. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 54, n. 5-6, p. 401-405, 1999.

BARBOSA, Eunice V. *et al.* *In vitro* comparison between antimicrobial and antibiofilm effects of Green Propolis and *Baccharis dracunculifolia* against *Staphylococcus pseudintermedius* isolate. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, n. 3, p. e20211103, 2022.

BARROS, Helena MT; FERIGOLO, Maristela. Ethopharmacology of imipramine in the forced-swimming test: gender differences. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 23, n. 2, p. 279-286, 1998.

BARROS, Marilisa Berti de Azevedo *et al.* Report on sadness/depression, nervousness/anxiety and sleep problems in the Brazilian adult population during the COVID-19 pandemic. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 29, p. e2020427, 2020.

BASHIRI, Hamideh *et al.* Swimming exercise improves cognitive and behavioral disorders in male NMRI mice with sporadic Alzheimer-like disease. **Physiology & Behavior**, v. 223, p. 113003, 2020.

BASTOS, E. M. A. F. *et al.* Interaction between *Apis mellifera* L. and *Baccharis dracunculifolia* DC, that favours green propolis production in Minas Gerais. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, p. 727-734, 2011.

- BATISTA, Marcos Adriano Carlos. **Caracterização fitoquímica de extratos de *Baccharis dracunculifolia* (alecrim-do-campo) e avaliação do seu efeito anti-hipertensivo em ratos Wistar machos e fêmeas**. 2024. 76f. Relatório de Qualificação (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2024.
- BERNARDES, C. T. V. *et al.* Disinfectant activities of extracts and metabolites from *Baccharis dracunculifolia* DC. **Letters in Applied Microbiology**, v. 75, n. 2, p. 261-270, 2022.
- BESTEN, Michele Aparecida *et al.* Volatile components from galls induced by *Baccharopelma dracunculifoliae* (Hemiptera: Psyllidae) on leaves of *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). **Química Nova**, v. 38, p. 66-70, 2015.
- BEZERRA, José Jailson Lima *et al.* Análise da composição fitoquímica e doseamento de flavonoides totais dos extratos hidroalcoólicos de *Cyperus iria* L. e *Cyperus articulatus* L. **Diversitas Journal**, v. 3, n. 2, p. 228-238, 2018.
- BHATT, Shvetank; NAGAPPA, Anantha Naik; PATIL, Chandragouda R. Role of oxidative stress in depression. **Drug Discovery Today**, v. 25, n. 7, p. 1270-1276, 2020.
- BIJANI, Soroush *et al.* Neuroprotective effect of apigenin on depressive-like behavior: mechanistic approach. **Neurochemical Research**, p. 1-12, 2022.
- BLACK, Catherine N. *et al.* Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. **Psychoneuroendocrinology**, v. 51, p. 164-175, 2015.
- BOEING, Thaise *et al.* Gastric healing effect of p-coumaric acid isolated from *Baccharis dracunculifolia* DC on animal model. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 394, p. 49-57, 2021.
- BOIANGIU, Razvan Stefan *et al.* Cognitive facilitation and antioxidant effects of an essential oil mix on scopolamine-induced amnesia in rats: molecular modeling of *in vitro* and *in vivo* approaches. **Molecules**, v. 25, n. 7, p. 1519, 2020.
- BONIN, Edinéia *et al.* *Baccharis dracunculifolia*: chemical constituents, cytotoxicity and antimicrobial activity. **Lwt**, v. 120, p. 108920, 2020.
- BORRÁS, Consuelo *et al.* Mitochondria from females exhibit higher antioxidant gene expression and lower oxidative damage than males. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 34, n. 5, p. 546-552, 2003.
- BOUAYED, Jaouad *et al.* Chlorogenic acid, a polyphenol from *Prunus domestica* (Mirabelle), with coupled anxiolytic and antioxidant effects. **Journal of The Neurological Sciences**, v. 262, n. 1-2, p. 77-84, 2007.

BOUAYED, Jaouad. Polyphenols: a potential new strategy for the prevention and treatment of anxiety and depression. **Current Nutrition & Food Science**, v. 6, n. 1, p. 13-18, 2010.

BRANDENBURG, Margareth Mello *et al.* *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) essential oil displays anti-inflammatory activity in models of skin inflammation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 259, p. 112840, 2020.

BURGOS, Christa *et al.* Actividad inmunomoduladora de especies del género *Baccharis*. **Revista Paraguaya de Reumatología**, v. 8, n. 1, p. 45-50, 2022.

CADENAS, Enrique; SIES, Helmut. Oxidative stress: excited oxygen species and enzyme activity. **Advances in Enzyme Regulation**, v. 23, p. 217-237, 1985.

CAO, Yanqun *et al.* Protection of p-Coumaric acid against chronic stress-induced neurobehavioral deficits in mice via activating the PKA-CREB-BDNF pathway. **Physiology & Behavior**, v. 273, p. 114415, 2024.

CARLOS BATISTA, Marcos Adriano *et al.* Antihypertensive effect of a nanoemulsion of *Baccharis dracunculifolia* leaves extract in sodium-dependent hypertensive rats. **Natural Product Research**, p. 1-8, 2024.

CASAGRANDE, Maira *et al.* Influence of time, temperature and solvent on the extraction of bioactive compounds of *Baccharis dracunculifolia*: *in vitro* antioxidant activity, antimicrobial potential, and phenolic compound quantification. **Industrial Crops and Products**, v. 125, p. 207-219, 2018.

CAZELLA, Luciane Neris *et al.* Antimicrobial activity of essential oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) aerial parts at flowering period. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 27, 2019.

CHAABAN, Amanda *et al.* Insecticide activity of *Baccharis dracunculifolia* essential oil against *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). **Natural Product Research**, v. 32, n. 24, p. 2954-2958, 2018.

CHAKRAPANI, Sumita *et al.* Neuroplasticity and the biological role of brain derived neurotrophic factor in the pathophysiology and management of depression. **Cureus**, v. 12, n. 11, 2020.

CHAVANNE, Alice V.; ROBINSON, Oliver J. The overlapping neurobiology of induced and pathological anxiety: a meta-analysis of functional neural activation. **American Journal of Psychiatry**, v. 178, n. 2, p. 156-164, 2021.

CHEN, Feixiang *et al.* P-Coumaric Acid: Advances in pharmacological research based on oxidative stress. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 5, p. 416-436, 2024.

CLAYTON, Janine A.; COLLINS, Francis S. Policy: NIH to balance sex in cell and animal studies. **Nature**, v. 509, n. 7500, p. 282-283, 2014.

COBLEY, James Nathan; FIORELLO, Maria Luisa; BAILEY, Damian Miles. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. **Redox Biology**, v. 15, p. 490-503, 2018.

CONTRERAS, Carlos M.; MARTÍNEZ-MOTA, Lucía; SAAVEDRA, Margarita. Desipramine restricts estral cycle oscillations in swimming. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 22, n. 7, p. 1121-1128, 1998.

COSTA, Philipe *et al.* Hydroalcoholic extract from *Baccharis dracunculifolia* recovers the gastric ulcerated tissue, and p-coumaric acid is a pivotal bioactive compound to this action. **Biofactors**, v. 45, n. 3, p. 479-489, 2019.

CRAWLEY, Jacqueline; GOODWIN, Frederick K. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 13, n. 2, p. 167-170, 1980.

CULMSEE, Carsten *et al.* Mitochondria, microglia, and the immune system—how are they linked in affective disorders?. **Frontiers in Psychiatry**, v. 9, p. 739, 2019.

DA CRUZ, Ana Flávia Gomes *et al.* High-resolution mass spectrometry identification and characterization of flavonoids from *Fridericia chica* leaves extract with anti-arbovirus activity. **Molecules**, v. 27, n. 18, p. 6043, 2022.

DA SILVA MONTEIRO, Erika *et al.* Chemical and antibacterial properties of *Baccharis dracunculifolia* DC essential oils from different regions of Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 34, n. 6, p. 524-532, 2022.

DA SILVA, Larissa Morais Ribeiro *et al.* Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 143, p. 398-404, 2014.

DE ALMEIDA-JUNIOR, Silvio *et al.* Advances in the phytochemical screening and biological potential of propolis. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 37, n. 5, p. 886-899, 2023.

DE ASSIS, Gilmara Gomes; MURAWSKA-CIALOWICZ, Eugenia. BDNF modulation by microRNAs: an update on the experimental evidence. **Cells**, v. 13, n. 10, p. 880, 2024.

DE LEON, Jesús Aguilar Diaz; BORGES, Chad R. Evaluation of oxidative stress in biological samples using the thiobarbituric acid reactive substances assay. **Journal of Visualized Experiments: JoVE**, n. 159, 2020.

DE SOUSA, João Paulo B. *et al.* A validated reverse-phase HPLC analytical method for the quantification of phenolic compounds in *Baccharis dracunculifolia*. **Phytochemical Analysis**, v. 20, n. 1, p. 24-32, 2009.

DÍAZ-CANTÓN, J. K. *et al.* Inhaled *Litsea glaucescens* K. (Lauraceae) leaves' essential oil has anxiolytic and antidepressant-like activity in mice by BDNF pathway activation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 321, p. 117489, 2024.

DIONISIE, Vlad *et al.* Escitalopram targets oxidative stress, caspase-3, BDNF and MeCP2 in the hippocampus and frontal cortex of a rat model of depression induced by chronic unpredictable mild stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 14, p. 7483, 2021.

DOS SANTOS, Diogo A. *et al.* Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) in different experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 543-550, 2010.

DOS SANTOS, Rozielly Aparecida Lemes *et al.* Guanosine treatment prevents lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice. **Journal of Psychiatric Research**, v. 164, p. 296-303, 2023.

EKHART, Corine *et al.* Sex differences in reported adverse drug reactions of selective serotonin reuptake inhibitors. **Drug Safety**, v. 41, p. 677-683, 2018.

ERGENC, Meryem *et al.* Melatonin reverses depressive and anxiety like-behaviours induced by diabetes: involvement of oxidative stress, age, rage and S100B levels in the hippocampus and prefrontal cortex of rats. **Archives of Physiology and Biochemistry**, v. 128, n. 2, p. 402-410, 2022.

ESPÍRITO-SANTO, M. M.; FERNANDES, G. Wilson. Abundance of *Neopelma baccharidis* (Homoptera: Psyllidae) galls on the dioecious shrub *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). **Environmental Entomology**, v. 27, n. 4, p. 870-876, 1998.

FAMITAFRESHI, Hamidreza; KARIMIAN, Morteza. Reduction of anxiety level is associated with an oxidative-stress imbalance in the hippocampus in morphine administration period in male rats. **Journal of Addictive Diseases**, v. 38, n. 1, p. 64-70, 2020.

FARHAN, Muhammad; HALEEM, Darakshan Jabeen. Anxiolytic profile of fluoxetine as monitored following repeated administration in animal rat model of chronic mild stress. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 24, n. 5, p. 571-578, 2016.

FERNÁNDEZ-GUASTI, Alonso *et al.* Sex and age differences in the antidepressant-like effect of fluoxetine in the forced swim test. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 152, p. 81-89, 2017.

FERRARI, Alize J. *et al.* Global incidence, prevalence, years lived with disability (YLDs), disability-adjusted life-years (DALYs), and healthy life expectancy (HALE) for 371 diseases and injuries in 204 countries and territories and 811 subnational locations, 1990–2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. **The Lancet**, v. 403, n. 10440, p. 2133-2161, 2024.

FONSECA-RODRIGUES, Diana *et al.* Sucrose intake and preference by Wistar Han rats are not influenced by sex or food/water deprivation. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 216, p. 173387, 2022.

FORMAN, Henry Jay; ZHANG, Hongqiao. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 20, n. 9, p. 689-709, 2021.

FRANÇA, Tauani Caroline Santos *et al.* *Baccharis dracunculifolia* DC hydroalcoholic extract improves intestinal and hippocampal inflammation and decreases behavioral changes of colitis mice. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2022, n. 1, p. 5833840, 2022.

GALEA, Liisa AM; WIDE, Jennifer K.; BARR, Alasdair M. Estradiol alleviates depressive-like symptoms in a novel animal model of post-partum depression. **Behavioural Brain Research**, v. 122, n. 1, p. 1-9, 2001.

GAZIM, Zilda Cristiani *et al.* Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological investigations of *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae). **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 1048688, 2022.

GE, Chenjie *et al.* Quercetin attenuates brain apoptosis in mice with chronic unpredictable mild stress-induced depression. **Behavioural Brain Research**, v. 465, p. 114934, 2024.

GOMES, Karina Santos *et al.* Contrasting effects of acute and chronic treatment with imipramine and fluoxetine on inhibitory avoidance and escape responses in mice exposed to the elevated T-maze. **Brain Research Bulletin**, v. 78, n. 6, p. 323-327, 2009.

GÓMEZ, M. L. *et al.* Influence of the brain sexual differentiation process on despair and antidepressant-like effect of fluoxetine in the rat forced swim test. **Neuroscience**, v. 261, p. 11-22, 2014.

GOUVEIA JR, Amauri *et al.* Influence of the estrous cycle on the behavior of rats in the elevated T-maze. **Behavioural Processes**, v. 67, n. 2, p. 167-171, 2004.

GRAEFF, Frederico Guilherme; NETTO, Cristina Ferreira; ZANGROSSI JR, Hélio. The elevated T-maze as an experimental model of anxiety. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 23, n. 2, p. 237-246, 1998.

GRAEFF, Frederico Guilherme; VIANA, MdB; TOMAZ, C. The elevated T maze, a new experimental model of anxiety and memory: effect of diazepam. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 26, n. 1, p. 67-70, 1993.

GRANCE, Simone Reschke Mendes *et al.* *Baccharis trimera*: effect on hematological and biochemical parameters and hepatorenal evaluation in pregnant rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 117, n. 1, p. 28-33, 2008.

GUAN, Yuechen *et al.* Quercetin reverses chronic unpredictable mild stress-induced depression-like behavior in vivo by involving nuclear factor- $\kappa$ B-related factor 2. **Brain Research**, v. 1772, p. 147661, 2021.

GUIMARÃES, Natalia SS *et al.* *Baccharis dracunculifolia*, the main source of green propolis, exhibits potent antioxidant activity and prevents oxidative mitochondrial damage. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 3-4, p. 1091-1097, 2012.

GUZMÁN-GUTIÉRREZ, S. L. *et al.* Antidepressant activity of *Litsea glaucescens* essential oil: identification of  $\beta$ -pinene and linalool as active principles. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, n. 2, p. 673-679, 2012.

HALL, Calvin S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **Journal of Comparative Psychology**, v. 18, n. 3, p. 385, 1934.

HASCOËT, Martine; BOURIN, Michel; DHONNCHADHA, Bríd Á. Nic. The mouse light-dark paradigm: a review. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 25, n. 1, p. 141-166, 2001.

HASSAN, Waseem *et al.* Association of oxidative stress with neurological disorders. **Current Neuropharmacology**, v. 20, n. 6, p. 1046, 2022.

HOFER, Magdalena *et al.* Regional distribution of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the adult mouse brain. **The EMBO Journal**, v. 9, n. 8, p. 2459-2464, 1990.

HOLZMANN, Iandra *et al.* Antidepressant-like effect of quercetin in bulbectomized mice and involvement of the antioxidant defenses, and the glutamatergic and oxidonitrergic pathways. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 136, p. 55-63, 2015.

HUANG, Cai-Yun *et al.* Effects of SIRT1 in amygdala on chronic restraint stress-induced depression-like behaviors in rats. **Chinese Journal of Applied Physiology**, v. 38, n. 5, p. 458, 2022.

HUGHES, Robert N. Sex still matters: has the prevalence of male-only studies of drug effects on rodent behaviour changed during the past decade?. **Behavioural Pharmacology**, v. 30, n. 1, p. 95-99, 2019.

IDE, Tomomi *et al.* Greater oxidative stress in healthy young men compared with premenopausal women. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 22, n. 3, p. 438-442, 2002.

JAHROMY, Mahsa Hadipour; BAGHCHESARA, Bahareh; JAVANSHIR, Salar. Effects of Allopurinol as a xanthine oxidase inhibitor on depressive-like behavior of rats and changes in serum BDNF level. **IBRO Neuroscience Reports**, v. 13, p. 373-377, 2022.

JASIB HABEEB, Y.; MOHAMMED SELMAN, S.; JEAFFER MEHRATH, A. Study of the effects of *Cordia myxa* fruit extract on induced animal model of depression in male rats. **Archives of Razi Institute**, v. 77, n. 4, p. 1503-1511, 2022.

Jl, Na *et al.* How oxidative stress induces depression?. **ASN Neuro**, v. 15, p. 17590914231181037, 2023.

JOHNSTON, Jenessa N. *et al.* Inflammation, stress and depression: an exploration of ketamine's therapeutic profile. **Drug Discovery Today**, v. 28, n. 4, p. 103518, 2023.

JUSZCZYK, Gabriela *et al.* Chronic stress and oxidative stress as common factors of the pathogenesis of depression and Alzheimer's disease: the role of antioxidants in prevention and treatment. **Antioxidants**, v. 10, n. 9, p. 1439, 2021.

KAUR, Amandeep *et al.* Neuroprotective effect of nerolidol in traumatic brain injury associated behavioural comorbidities in rats. **Toxicology Research**, v. 10, n. 1, p. 40-50, 2021.

KHALIFA, Abdel Rahman M. *et al.* Sex-specific differences in mitochondria biogenesis, morphology, respiratory function, and ROS homeostasis in young mouse heart and brain. **Physiological Reports**, v. 5, n. 6, p. e13125, 2017.

KLOPELL, Fernando Canani *et al.* Nerolidol, an antiulcer constituent from the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae). **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 62, n. 7-8, p. 537-542, 2007.

KULKARNI, Namrata Pramod *et al.* Neuroprotective potential of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in CNS disorders: mechanistic and therapeutic insights. **Current Neuropharmacology**, v. 19, n. 9, p. 1401, 2021.

LAPMANEE, Sarawut; CHAROENPHANDHU, Jantarima; CHAROENPHANDHU, Narattaphol. Beneficial effects of fluoxetine, reboxetine, venlafaxine, and voluntary running exercise in stressed male rats with anxiety-and depression-like behaviors. **Behavioural Brain Research**, v. 250, p. 316-325, 2013.

LARANJEIRA, Inês Martins *et al.* *Baccharis dracunculifolia* DC consumption improves nociceptive and depressive-like behavior in rats with experimental osteoarthritis. **Foods**, v. 13, n. 4, p. 535, 2024.

LEE, Mi-Sook *et al.* Novel antidepressant-like activity of caffeic acid phenethyl ester is mediated by enhanced glucocorticoid receptor function in the hippocampus. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, n. 1, p. 646039, 2014.

LEEB, Kira; PARKER, Linda; EIKELBOOM, Roelof. Effects of pimoziide on the hedonic properties of sucrose: analysis by the taste reactivity test. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 39, n. 4, p. 895-901, 1991.

LEMES, J. A. *et al.* Deep brain stimulation of the dorsal raphe induces anxiolytic and panicolytic-like effects and alters serotonin immunoreactivity. **Behavioural Brain Research**, v. 449, p. 114462, 2023.

LEMOS, Marivane *et al.* *Baccharis dracunculifolia*, the main botanical source of Brazilian green propolis, displays antiulcer activity. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 59, n. 4, p. 603-608, 2007.

LEWIN, Gary R.; BARDE, Yves-Alain. Physiology of the neurotrophins. **Annual Review of Neuroscience**, v. 19, n. 1, p. 289-317, 1996.

LI, Gongying *et al.* Beneficial effect of fluoxetine treatment against psychological stress is mediated by increasing BDNF expression in selected brain areas. **Oncotarget**, v. 8, n. 41, p. 69527, 2017.

LI, Hao-Yuan *et al.* Sirtuin 3 plays a critical role in the antidepressant- and anxiolytic-like effects of kaempferol. **Antioxidants**, v. 11, n. 10, p. 1886, 2022.

LI, Y. J. *et al.* Therapeutic effects of propolis essential oil on anxiety of restraint-stressed mice. **Human & Experimental Toxicology**, v. 31, n. 2, p. 157-165, 2012.

LIFSCHYTZ, Tzuri *et al.* Sex-dependent effects of fluoxetine and triiodothyronine in the forced swim test in rats. **European Neuropsychopharmacology**, v. 16, n. 2, p. 115-121, 2006.

LIMA, Luiza DC *et al.* Brazilian green propolis modulates inflammation, angiogenesis and fibrogenesis in intraperitoneal implant in mice. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, p. 1-9, 2014.

LIN, Chin-Chuen; HUANG, Tiao-Lai. Brain-derived neurotrophic factor and mental disorders. **Biomedical Journal**, v. 43, n. 2, p. 134-142, 2020.

LIU, Hua *et al.* Anti-depression-like effect of Mogroside V is related to the inhibition of inflammatory and oxidative stress pathways. **European Journal of Pharmacology**, v. 955, p. 175828, 2023.

LOVICK, Thelma A.; ZANGROSSI JR, Hélio. Effect of estrous cycle on behavior of females in rodent tests of anxiety. **Frontiers in Psychiatry**, v. 12, p. 711065, 2021.

LUCHESE, Luana A. *et al.* Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of essential oils from *Baccharis dracunculifolia* and *Pogostemon cablin* against *Fusarium graminearum*. **Natural Product Research**, v. 36, n. 3, p. 849-852, 2022.

MA, Hao *et al.* Potassium 2-(1-hydroxypentyl)-benzoate improves depressive-like behaviors in rat model. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 8, n. 6, p. 881-888, 2018.

MARTEMUCCI, Giovanni *et al.* Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health. **Oxygen**, v. 2, n. 2, p. 48-78, 2022.

MARTÍN-HERNÁNDEZ, David *et al.* Intracellular inflammatory and antioxidant pathways in postmortem frontal cortex of subjects with major depression: effect of antidepressants. **Journal of Neuroinflammation**, v. 15, p. 1-12, 2018.

MASSIGNANI, Juliane Jose *et al.* Antiulcerogenic activity of the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* on different experimental models in rats. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 23, n. 10, p. 1355-1360, 2009.

MASUR, Jandira; SCHUTZ, Maria Teresa; BOERNGEN, Roseli. Gender differences in open-field behavior as a function of age. **Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology**, v. 13, n. 2, p. 107-110, 1980.

MATSUSHITA, Masateru *et al.* Anxiety, neuroticism and oxidative stress: cross-sectional study in non-smoking college students. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**, v. 64, n. 4, p. 435-441, 2010.

MCCARTHY, Margaret M.; WOOLLEY, Catherine S.; ARNOLD, Arthur P. Incorporating sex as a biological variable in neuroscience: what do we gain?. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 18, n. 12, p. 707-708, 2017.

MÉNARD, Caroline; HODES, Georgia E.; RUSSO, Scott J. Pathogenesis of depression: insights from human and rodent studies. **Neuroscience**, v. 321, p. 138-162, 2016.

MEZADRI, T. J. *et al.* Repeated rat-forced swim test: reducing the number of animals to evaluate gradual effects of antidepressants. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 195, n. 2, p. 200-205, 2011.

MILLAN, Mark J. Multi-target strategies for the improved treatment of depressive states: conceptual foundations and neuronal substrates, drug discovery and therapeutic application. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 110, n. 2, p. 135-370, 2006.

MILLER, Alyson A. *et al.* Effect of gender on NADPH-oxidase activity, expression, and function in the cerebral circulation: role of estrogen. **Stroke**, v. 38, n. 7, p. 2142-2149, 2007.

MINTEGUIAGA, Manuel *et al.* Relationship between *Baccharis dracunculifolia* DC. and *B. microdonta* DC. (Asteraceae) by their different seasonal volatile expression. **Chemistry & Biodiversity**, v. 18, n. 6, p. e2100064, 2021.

MOITRA, Modhurima *et al.* The global gap in treatment coverage for major depressive disorder in 84 countries from 2000–2019: a systematic review and Bayesian meta-regression analysis. **PLoS Medicine**, v. 19, n. 2, p. e1003901, 2022.

MOKHTARI, Tahmineh; LU, Min; EL-KENAWY, Ayman El-Meghawry. Potential anxiolytic and antidepressant-like effects of luteolin in a chronic constriction injury rat model of neuropathic pain: role of oxidative stress, neurotrophins, and inflammatory factors. **International Immunopharmacology**, v. 122, p. 110520, 2023.

MOKHTARI-ZAER, Amin; HOSSEINI, Mahmoud; BOSKABADY, Mohammad Hossein. The effects of exercise on depressive-and anxiety-like behaviors as well as lung and hippocampus oxidative stress in ovalbumin-sensitized juvenile rats. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 248, p. 55-62, 2018.

MONTEIRO, Álefe Brito *et al.* Anxiolytic and antidepressant-like effects of *Annona coriacea* (Mart.) and caffeic acid in mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 136, p. 111049, 2020.

NAGAPPAN, Guhan; LU, Bai. Activity-dependent modulation of the BDNF receptor TrkB: mechanisms and implications. **Trends in Neurosciences**, v. 28, n. 9, p. 464-471, 2005.

NAKAZAWA, Takahiro *et al.* Antidepressant-like effects of apigenin and 2, 4, 5-trimethoxycinnamic acid from *Perilla frutescens* in the forced swimming test. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n. 4, p. 474-480, 2003.

NAYERNIA, Zeynab; JAQUET, Vincent; KRAUSE, Karl-Heinz. New insights on NOX enzymes in the central nervous system. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 20, n. 17, p. 2815-2837, 2014.

NELSON, John; CHOUINARD, G. Guidelines for the clinical use of benzodiazepines: pharmacokinetics, dependency, rebound and withdrawal. Canadian Society for Clinical Pharmacology. **The Canadian Journal of Clinical Pharmacology**, v. 6, n. 2, p. 69-83, 1999.

NEMEROFF, Charles B. The burden of severe depression: a review of diagnostic challenges and treatment alternatives. **Journal of Psychiatric Research**, v. 41, n. 3-4, p. 189-206, 2007.

NEWMAN, David J.; CRAGG, Gordon M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020.

NIETO CAMACHO, Antonio; BACA IBARRA, Itzel Isaura; HUERTA-REYES, Maira. Antioxidant and anti-inflammatory profiles of two mexican heteropterys species and their relevance for the treatment of mental diseases: *H. brachiata* (L.) DC. and *H. cotinifolia* A. Juss. (Malpighiaceae). **Molecules**, v. 29, n. 13, p. 3053, 2024.

NUHU, Faisal *et al.* Measurement of glutathione as a tool for oxidative stress studies by high performance liquid chromatography. **Molecules**, v. 25, n. 18, p. 4196, 2020.

OLUBODUN-OBADUN, Taiwo G. *et al.* Antidepressant-and anxiolytic-like actions of *Cajanus cajan* seed extract mediated through monoaminergic, nitric oxide-cyclic GMP and GABAergic pathways. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 306, p. 116142, 2023.

ŌYANAGUI, Yoshihiko. Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. **Analytical Biochemistry**, v. 142, n. 2, p. 290-296, 1984.

OZCAN, M. Erkan *et al.* Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in affective disorders. **International Clinical Psychopharmacology**, v. 19, n. 2, p. 89-95, 2004.

PATEL, Manisha. Targeting oxidative stress in central nervous system disorders. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 37, n. 9, p. 768-778, 2016.

PATIL, Rashmi; ASWAR, Urmila; VYAS, Nishant. Pterostilbene ameliorates type-2 diabetes mellitus–Induced depressive-like behavior by mitigating insulin resistance, inflammation and ameliorating HPA axis dysfunction in rat brain. **Brain Research**, v. 1817, p. 148494, 2023.

PEDROTTI, Carine; DA SILVA RIBEIRO, Rute Terezinha; SCHWAMBACH, Joséli. Control of postharvest fungal rots in grapes through the use of *Baccharis trimera* and *Baccharis dracunculifolia* essential oils. **Crop Protection**, v. 125, p. 104912, 2019.

PENNINX, Brenda Wjh; PINE, D. S. A Holmes, E.; Reif. **Anxiety disorders. Lancet**, v. 397, p. 914-927, 2021.

PEREIRA, Mariana Machado *et al.* The antioxidant gallic acid induces anxiolytic-, but not antidepressant-like effect, in streptozotocin-induced diabetes. **Metabolic Brain Disease**, v. 33, p. 1573-1584, 2018.

PERO, R. W. *et al.* Oxidative stress, DNA repair, and cancer susceptibility. **Cancer Detection and Prevention**, v. 14, n. 5, p. 555-561, 1990.

PICCINELLI, Ana Claudia *et al.* Antihyperalgesic and antidepressive actions of (R)-(+)-limonene,  $\alpha$ -phellandrene, and essential oil from *Schinus terebinthifolius* fruits in a neuropathic pain model. **Nutritional Neuroscience**, v. 18, n. 5, p. 217-224, 2015.

PISOSCHI, Aurelia Magdalena; POP, Aneta. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 55-74, 2015.

PITSILLOU, Eleni *et al.* The cellular and molecular basis of major depressive disorder: towards a unified model for understanding clinical depression. **Molecular Biology Reports**, v. 47, p. 753-770, 2020.

PLANCHEZ, Barbara; SURGET, Alexandre; BELZUNG, Catherine. Animal models of major depression: drawbacks and challenges. **Journal of Neural Transmission**, v. 126, p. 1383-1408, 2019.

PORSOLT, Roger D.; LE PICHON, Michele; JALFRE, Maurice. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v. 266, n. 5604, p. 730-732, 1977.

PRIMO, Maria João *et al.* Sucrose preference test: a systematic review of protocols for the assessment of anhedonia in rodents. **European Neuropsychopharmacology**, v. 77, p. 80-92, 2023.

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

PRUUNSILD, Priit *et al.* Dissecting the human BDNF locus: bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters. **Genomics**, v. 90, n. 3, p. 397-406, 2007.

QUETGLAS-LLABRÉS, Maria Magdalena *et al.* Pharmacological Properties of Bergapten: Mechanistic and Therapeutic Aspects. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, n. 1, p. 8615242, 2022.

RAHMAN, Irfan; KODE, Aruna; BISWAS, Saibal K. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. **Nature Protocols**, v. 1, n. 6, p. 3159-3165, 2006.

REBAI, Redouane; JASMIN, Luc; BOUDAH, Abdennacer. The antidepressant effect of melatonin and fluoxetine in diabetic rats is associated with a reduction of the oxidative stress in the prefrontal and hippocampal cortices. **Brain Research Bulletin**, v. 134, p. 142-150, 2017.

REIS, Julia SS *et al.* Antidepressant-and anxiolytic-like activities of an oil extract of propolis in rats. **Phytomedicine**, v. 21, n. 11, p. 1466-1472, 2014.

ROCHA, Juliana Maria *et al.* Phytochemical study of *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) with antioxidant potential for the development of phytocosmetics formulation. **Health and Society**, v. 4, n. 01, p. 184-199, 2024.

RODRIGUES, Débora Munhoz *et al.* The role of *Baccharis dracunculifolia* and its chemical profile on green propolis production by *Apis mellifera*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 46, p. 150-162, 2020.

RUBERTO, Valerie L.; JHA, Manish K.; MURROUGH, James W. Pharmacological treatments for patients with treatment-resistant depression. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 6, p. 116, 2020.

RUSH, A. John *et al.* Acute and longer-term outcomes in depressed outpatients requiring one or several treatment steps: a STAR\* D report. **American Journal of Psychiatry**, v. 163, n. 11, p. 1905-1917, 2006.

RUTHERFORD, Ashleigh V.; MCDOUGLE, Samuel D.; JOORMANN, Jutta. "Don't [ruminate], be happy": a cognitive perspective linking depression and anhedonia. **Clinical Psychology Review**, v. 101, p. 102255, 2023.

SALAZAR, Gerson Javier Torres *et al.* Phytochemical characterization of the *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) essential oil and antibacterial activity evaluation. **Industrial Crops and Products**, v. 122, p. 591-595, 2018.

SANTOMAURO, Damian F. *et al.* Global prevalence and burden of depressive and anxiety disorders in 204 countries and territories in 2020 due to the COVID-19 pandemic. **The Lancet**, v. 398, n. 10312, p. 1700-1712, 2021.

SANTOS, Raliny O. *et al.* Evaluation of the effect of acute sibutramine in female rats in the elevated T-maze and elevated plus-maze tests. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 114, n. 2, p. 181-187, 2014.

SCHWEIZER, Edward *et al.* Long-term therapeutic use of benzodiazepines: II. Effects of gradual taper. **Archives of General Psychiatry**, v. 47, n. 10, p. 908-915, 1990.

SHAHINOZZAMAN, Md *et al.* Artepillin C: a comprehensive review of its chemistry, bioavailability, and pharmacological properties. **Fitoterapia**, v. 147, p. 104775, 2020.

SIES, Helmut. What is oxidative stress?. *In: Oxidative stress and vascular disease*. Boston: Springer US, 1985. p. 1-8.

SIMPLICIO, Janaina A. *et al.* Contribution of oxidative stress and prostanoids in endothelial dysfunction induced by chronic fluoxetine treatment. **Vascular Pharmacology**, v. 73, p. 124-137, 2015.

SINGEWALD, Nicolas *et al.* Alleviating anxiety and taming trauma: novel pharmacotherapeutics for anxiety disorders and posttraumatic stress disorder. **Neuropharmacology**, v. 226, p. 109418, 2023.

SINGH, Rajbir *et al.* Evaluation of antioxidant potential of ethyl acetate extract/fractions of *Acacia auriculiformis* A. Cunn. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 7, p. 1216-1223, 2007.

STRAWN, Jeffrey R. *et al.* Adverse effects of antidepressant medications and their management in children and adolescents. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, v. 43, n. 7, p. 675-690, 2023.

SULE, Rasheed; RIVERA, Gabriela; GOMES, Aldrin V. Western blotting (immunoblotting): history, theory, uses, protocol and problems. **Biotechniques**, v. 75, n. 3, p. 99-114, 2023.

SUR, Bongjun; LEE, Bombi. Luteolin reduces fear, anxiety, and depression in rats with post-traumatic stress disorder. **Animal Cells and Systems**, v. 26, n. 4, p. 174-182, 2022.

SZUHANY, Kristin L.; SIMON, Naomi M. Anxiety disorders: a review. **Jama**, v. 328, n. 24, p. 2431-2445, 2022.

TAKASHIMA, Madoka; ICHIHARA, Kenji; HIRATA, Yoko. Neuroprotective effects of Brazilian green propolis on oxytosis/ferroptosis in mouse hippocampal HT22 cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 132, p. 110669, 2019.

TANG, Zhuo-Jun *et al.* Antidepressant-like and anxiolytic-like effects of hydrogen sulfide in streptozotocin-induced diabetic rats through inhibition of hippocampal oxidative stress. **Behavioural Pharmacology**, v. 26, n. 5, p. 427-435, 2015.

TAUFFENBERGER, Arnaud; MAGISTRETTI, Pierre J. Reactive oxygen species: beyond their reactive behavior. **Neurochemical Research**, v. 46, n. 1, p. 77-87, 2021.

TENKORANG, Mavis A.; SNYDER, Brina; CUNNINGHAM, Rebecca L. Sex-related differences in oxidative stress and neurodegeneration. **Steroids**, v. 133, p. 21-27, 2018.

TIMBE, Palmira Penina Raúl *et al.* Antimicrobial activity of *Baccharis dracunculifolia* DC and its synergistic interaction with nisin against food-related bacteria. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, p. 3010-3018, 2021.

TOMAZZOLI, Maíra Maciel *et al.* Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from populations of *Baccharis dracunculifolia* DC. in southern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, p. e21190253, 2021.

TORATANI, Atsushi *et al.* Caffeic acid phenethyl ester ameliorates depression-and anxiety-like behaviors of mice exposed to chronic mild stress. **Journal of Neurophysiology and Neurological Disorders**, v. 1, n. 1, p. 1-8, 2014.

TSAI, Shih-Jen. Critical issues in BDNF Val66Met genetic studies of neuropsychiatric disorders. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 11, p. 156, 2018.

VALKO, Marian *et al.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VAVÁKOVÁ, Magdaléna; ĎURAČKOVÁ, Zdeňka; TREBATICKÁ, Jana. Markers of oxidative stress and neuroprogression in depression disorder. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2015, n. 1, p. 898393, 2015.

VOS, Theo *et al.* Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet**, v. 396, n. 10258, p. 1204-1222, 2020.

WANG, Huan *et al.* Protective role of antioxidant supplementation for depression and anxiety: a meta-analysis of randomized clinical trials. **Journal of Affective Disorders**, v. 323, p. 264-279, 2023.

WILLNER, Paul *et al.* Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. **Psychopharmacology**, v. 93, p. 358-364, 1987.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **COVID-19 pandemic triggers 25% increase in prevalence of anxiety and depression worldwide**. Geneva: WHO, 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World mental health report: transforming mental health for all**. Geneva: WHO, 2022.

YIN, Jun-Bin *et al.* Various BDNF administrations attenuate SPS-induced anxiety-like behaviors. **Neuroscience Letters**, v. 788, p. 136851, 2022.

YOHN, Christine N. *et al.* Social instability is an effective chronic stress paradigm for both male and female mice. **Neuropharmacology**, v. 160, p. 107780, 2019.

ZANGROSSI JR, Hélio; GRAEFF, Frederico G. Serotonin in anxiety and panic: contributions of the elevated T-maze. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 46, p. 397-406, 2014.

ZANOVELI, Janaina M. *et al.* Facilitation of 5-HT<sub>1A</sub>-mediated neurotransmission in dorsal periaqueductal grey matter accounts for the panicolytic-like effect of chronic fluoxetine. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 13, n. 8, p. 1079-1088, 2010.

ZARZA-REBOLLO, Juan Antonio *et al.* The relationship between BDNF and physical activity on depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, p. 111033, 2024.

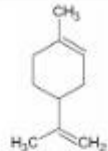
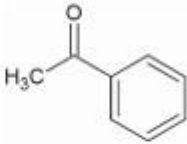
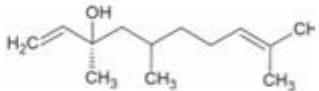
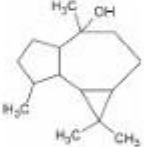
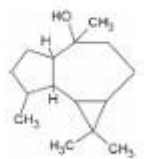
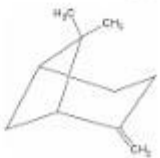

ZELADA, Mario Ignacio *et al.* Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) as a predictor of treatment response in major depressive disorder (MDD): a systematic review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 19, p. 14810, 2023.

ZHANG, Cuiping *et al.* Identification of free radical scavengers from Brazilian green propolis using off-line HPLC-DPPH assay and LC-MS. **Journal of Food Science**, v. 82, n. 7, p. 1602-1607, 2017.

ZHAO, Hongqing *et al.* Recent advances in anxiety disorders: focus on animal models and pathological mechanisms. **Animal Models and Experimental Medicine**, v. 6, n. 6, p. 559-572, 2023.

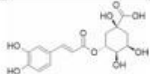


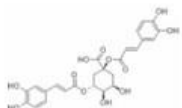
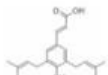
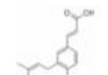

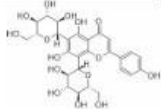
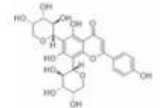
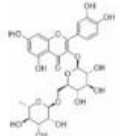
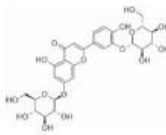
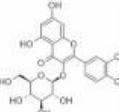
ZUO, Xiang *et al.* Fluoxetine ameliorates cognitive deficits in high-fat diet mice by regulating BDNF expression. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 15, n. 22, p. 4229-4240, 2024.

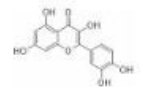
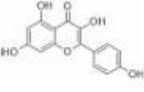
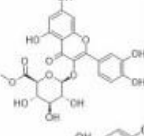
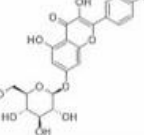
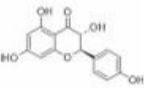
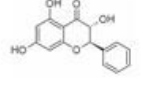
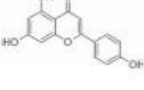
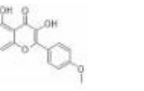
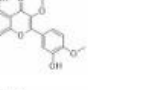
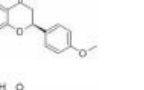
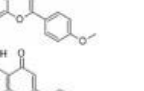
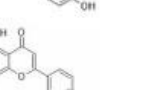
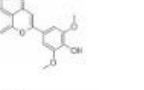
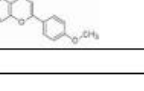
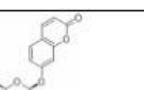
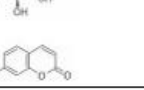

**ANEXO A – COMPOSTOS VOLÁTEIS ENCONTRADOS NA FRAÇÃO HEXANICA DO EXTRATO DE *B. dracunculifolia* POR CG-EMS**

Compostos	TR (min)	MM	Área (%)	Percentual presente no eDC (%)	Estrutura química
Limoneno	11,38	140	0.07	0.22	
Acetofeno	14,77	120	0.04	0.12	
Nerolidol	35,56	222	0.35	1.11	
Viridiflorol	36,37	222	0.48	1.11	
Globulol	37,06	222	0.07	0.22	
$\beta$ -Pinene	42,64	152	0.94	2.99	
Ácido Palmítico	49	228	5.52	17.57	

Fonte: BATISTA, Marcos Adriano Carlos. **Caracterização fitoquímica de extratos de *Baccharis dracunculifolia* (alecrim-do-campo) e avaliação do seu efeito anti-hipertensivo em ratos *Wistar* machos e fêmeas.** 2024. 76f. Relatório de Qualificação (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2024.

## ANEXO B – PERFIL QUÍMICO DO EXTRATO DE *B. dracunculifolia* PELO UHPLC MS-ESI-QTOF

Compostos	N*	Fórmula molecular	TR (min)	Características massa/carga (m/z)	HRMS [M + H] <sup>+</sup> (m/z)	Erro (ppm)	Estrutura química
<b>Ácidos fenólicos</b>							
Ácido clorogênico	1	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	10.6	355.1028 (1.6), 163.0390 (100.0), 145.0274 (8.8), 135.0426 (12.7), 117.0309 (2.0)	355.1023	1.9	
Ácido caféico	2	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	11.2	181.0467 (11.8), 163.0390 (100.0), 145.0276 (18.4), 135.0415 (8.9), 133.0275 (5.6)	181.0493	3.7	
Ácido <i>p</i> -cumárico	3	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	13.7	165.0541 (5.1), 147.0431, 119.0469 (9.7)	165.0543	4.8	
Di- <i>O</i> -Ácido cafeoquímico	4	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	15.6	499.1215 (11.0), 337.0912 (2.4), 163.0384 (100.0), 145.0273 (7.5), 135.0426 (8.5)	517.1326	3.9	
Artepillin C	5	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	21.7	301.1803 (6.9), 245.1179 (100.0), 189.0549 (28.2), 177.0546 (38.9), 161.0595 (7.8), 147.0434 (7.3)	301.1803	0.0	
Drupanin	6	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	23.6	197.0969 (6.8), 178.0577 (9.6), 159.0435 (20), 131.0470 (16.8)	233.1099	2.7	
Baccharin	7	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	27.7	263.9048 (19.3), 213.0911 (100.0), 173.0586 (19.1)	363.1592	1.1	
<b>Flavonoides</b>							
Vicenin 2	8	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	12.7	595.1640 (100.0), 577.1533 (25.9), 457.1120 (37.4), 379.0810 (36.5), 337.0708 (37.5), 325.0709 (53.9)	595.1645	3.0	
Apigenin-6/8- <i>C</i> -glucoside-8/6- <i>C</i> -pentoside	9	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	13.1	565.1530 (100.0), 547.1426 (50.8), 427.1019 (42.9), 409.0914 (52.4), 391.0823 (47.6), 379.0827 (71.2), 349.0692 (42.2), 337.0698 (44.6), 325.0710 (47.9)	565.1534	2.3	
Rutina	10	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	14.6	611.1594 (5.6), 465.1014 (14.0), 303.0501 (100.0)	611.1590	3.6	
Methyl-luteolin-6/8- <i>C</i> -glucoside-8/6- <i>C</i> -rhamnoside	11	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	14.8	609.1792 (100.0), 591.1667 (25.7), 471.1283 (38.8), 441.1160 (27.2), 393.0961 (32.8), 351.0870 (31.3), 339.0865 (50.0), 321.0756 (25.4), 309.0752 (29.3)	609.1794	4.1	
Quercetina- <i>O</i> -glucoside	12	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	15	465.1023 (2.4), 303.0503 (100.0)	465.1018	3.2	

Quercetina	13	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	15.2	303.0502 (100.0), 273.0392 (10.5), 229.0507 (15.3), 163.0381 (6.6)	303.0501	1.0	
Kaempferol	14	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	15.1	287.0556 (100.0), 163.0393 (9.2), 153.0180 (18.4)	287.0555	0.0	
Quercetina- <i>O</i> -glucoronide	15	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>13</sub>	15.2	479.0806 (10.6), 303.0501 (100.0)	479.0809	3.3	
Kaempferide- <i>O</i> -glucoside	16	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	16.6	463.1228 (18.3), 301.0707 (100.0), 163.0386 (23.6)	463.1223	3.7	
Aromadendreno	17	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	16.7	289.0708 (53.7), 271.0603 (44.80), 243.0656 (95.5), 153.0174 (100.0), 149.0225 (55.7)	289.0711	0.3	
Pinobanksin	18	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	20.4	273.0760 (100.0), 153.0175 (68.2), 147.0431 (22.2)	273.0761	0.7	
Apigenin	19	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	20.6	271.0604 (100.0), 153.0174 (13.7), 119.0407 (1.8)	271.0605	0.4	
Kaempferide	20	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	21	301.0709 (100.0), 287.0508 (14.5), 286.0474 (92.1), 153.0174 (4.1)	301.0710	0.7	
Quercetina 3,4'-dimethyl ether	21	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	21.4	331.0811 (100.0), 316.0576 (74.4), 301.0346 (13.1), 273.0394 (13.2), 245.0446 (19.8)	331.0811	1.8	
Isosakuranetin	22	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	25.2	287.0917 (100.0), 243.0612 (10.5), 161.0592 (26.4), 153.0175 (95.2), 133.0634 (12.7)	287.0916	1.0	
Acacetin	23	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	25.2	285.0761 (100.0), 270.0526 (17.7), 243.0612 (8.6), 242.0579 (59.5), 153.0175 (43.8)	285.0763	0.0	
Hispidulin	24	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	25.7	301.0714 (100.0), 243.1025 (14.5), 229.0499 (14.7), 153.0178 (10.9)	301.0711	0.3	
Cirsimaritin	25	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	25.8	315.0869 (100.0), 301.0667 (13.9), 300.0633 (73.7), 257.0449 (5.1), 168.0051 (20.6)	315.0869	0.3	
Tricin	26	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	26	331.0813 (100.0), 316.0578 (71.1), 315.0504 (14.3), 301.0344 (13.5), 245.0451 (17.5)	331.0815	0.6	
Pectolarigenin	27	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	26.5	315.0866 (100.0), 299.0552 (16.7), 285.0397 (21.9), 257.0449 (17.9), 229.0501 (28.7)	315.0867	0.3	
<b>Cumarinicos</b>							
Umbelliferone- <i>O</i> -glucoside	28	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	11.8	325.0888 (14.7), 307.0801(19.9), 289.0690 (13.7), 191.0256 (24.1), 179.9235 (14.7), 163.0387 (100.0), 145.0187 (13.7)	325.0920	0.9	
Umbelliferone	29	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	13	163.0387 (100.0), 145.0277 (42.6), 135.0432 (53.0), 117.0267 (5.5)	163.0391	2.1	

Fonte: BATISTA, Marcos Adriano Carlos. **Caracterização fitoquímica de extratos de *Baccharis dracunculifolia* (alecrim-do-campo) e avaliação do seu efeito anti-hipertensivo em ratos Wistar machos e fêmeas**. 2024. 76f. Relatório de Qualificação (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2024.

## ANEXO C – CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS CEUA/UNIFAL

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG  
Lei nº 11.154, de 29 de julho de 2005

Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UNIFAL-MG

# Certificado

Certificamos que a proposta intitulada **POSSÍVEL EFEITO ANSIOLÍTICO E ANTIDEPRESSIVO DO EXTRATO DE ALECRIM-DO-CAMPO (*Baccharis dracunculifolia*) EM MODELO ANIMAL**, registrada com o nº **0045/2023**, sob a responsabilidade de **Lisandra Brandino de Oliveira**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de **pesquisa científica**, com vigência de **01/12/2023 a 01/12/2025**, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UNIFAL) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS.

Espécie/linhagem/raça	Total de animais	Total de machos	Total de fêmeas	Origem
Rato / Wistar	200	100	100	Biotério central unifal

Alfenas, 23 de Novembro de 2023

**Prof(a). Dr(a). Lisandra Brandino de Oliveira**

Coordenador(a) do CEUA/UNIFAL - MG

## ANEXO D – SISGEN



Ministério do Meio Ambiente  
**CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**  
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

**Comprovante de Cadastro de Acesso**  
**Cadastro nº AF39876**

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **AF39876**  
 Usuário: **UFOP**  
 CPF/CNPJ: **23.070.659/0001-10**  
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**  
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

**Espécie**

**Baccharis dracunculifolia**

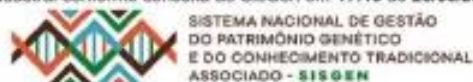
Título da Atividade: **Avaliação do possível efeito anti-hipertensiva do extrato hidro alcóolico de Baccharis dracunculifolia em ratos com sobrecarga de sódio**

**Equipe**

Leonardo Máximo Cardoso	UFOP
Marcos Adriano Calos Batista	UFOP
Sandra Aparecida Lima de Moura	UFOP

Data do Cadastro: **26/05/2020 17:16:27**  
 Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético  
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **17:19** de **26/05/2020**.



## ANEXO E – CERTIFICADOS DE APRESENTAÇÕES RELACIONADAS AO ESTUDO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL-MG  
PRÓ-REITORIA DE EXTENSÃO E CULTURA  
CNPJ 17.879.859/0001-15



# Certificado

Certificamos que o trabalho **POSSÍVEL EFEITO ANSIOLÍTICO E ANTIDEPRESSIVO DO ALECRIM-DO-CAMPO (BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA) EM MODELO ANIMAL**, de autoria de RENATA MARIA LEAL DE SOUZA, JOSÉ ARMANDO LEITE NETO, MARCOS ADRIANO CARLOS BATISTA, JULIA DOS REIS ALVES, PIETRO MEIRA PASCHOALETO, ALESSANDRA OLIVEIRA SILVA, SANDRA APARECIDA LIMA DE MOURA, LEONARDO MAXIMO CARDOSO, LISANDRA BRANDINO DE OLIVEIRA e CARLA SPERONI CERON, foi apresentado na forma de pôster, no **I Simpósio Integrado PPGCF e PPGASFAR/UNIFAL-MG - Responsabilidade social da pós-graduação**, realizado no período de 22 a 24 de fevereiro de 2024.

Alfenas, 12 de abril de 2024



PRÓ-REITORIA DE EXTENSÃO E CULTURA

Certificado número  
**20240000006831000208**  
<https://sistemas.unifal-mg.edu.br/app/c/ae/certificados/>



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL-MG  
PRÓ-REITORIA DE EXTENSÃO E CULTURA  
CNPJ 17.879.859/0001-15



# Certificado

Certificamos que o Trabalho **ANXIOLYTIC EFFECT OF CRUDE AND NANOSTRUCTURED FORMULATION OF BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA EXTRACT IN RATS**, de autoria de RENATA MARIA LEAL DE SOUZA, MARCOS ADRIANO CARLOS BATISTA, PIETRO MEIRA PASCHOALETO, JULIA DOS REIS ALVES, SANDRA APARECIDA LIMA DE MOURA, LEONARDO MAXIMO CARDOSO, LISANDRA BRANDINO DE OLIVEIRA e CARLA SPERONI CERON, foi apresentado na forma de painel, no(a) **48ª Semana Farmacêutica e I International Workshop on Pharmaceutical Research of UNIFAL-MG**, realizado(a) no período de 19 a 22 de agosto de 2024.

Alfenas, 25 de setembro de 2024.



PRÓ-REITORIA DE EXTENSÃO E CULTURA

Certificado número  
**20240000007219000470**  
<https://sistemas.unifal-mg.edu.br/app/c/ae/certificados/>



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL-MG  
PRÓ-REITORIA DE EXTENSÃO E CULTURA  
CNPJ 17.879.859/0001-15



# Certificado

Certificamos que o Trabalho **INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL EFEITO ANSIOLÍTICO DE UMA NANOFORMULAÇÃO COM EXTRATO DE BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA EM RATAS WISTAR**, de autoria de JULIA DOS REIS ALVES, RENATA MARIA LEAL DE SOUZA, GABRIELE GOMES FENÍCIO, MARCOS ADRIANO CARLOS BATISTA, JOSÉ ARMANDO LEITE NETO, SANDRA APARECIDA LIMA DE MOURA, TALIA MARQUES OLIVEIRA, LEONARDO MAXIMO CARDOSO, CARLA SPERONI CERON e LISANDRA BRANDINO DE OLIVEIRA, foi apresentado na forma de painel, no Evento de Extensão **X Simpósio Integrado UNIFAL-MG**, realizado(a) no período de 21 a 25 de outubro de 2024.

Alfenas, 19 de novembro de 2024.



PRÓ-REITORIA DE EXTENSÃO E CULTURA

Certificado número  
20240000007324000842  
<http://sistemas.unifal-mg.edu.br/app/cae/certificados/>



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL-MG  
PRÓ-REITORIA DE EXTENSÃO E CULTURA  
CNPJ 17.879.859/0001-15



# Certificado

Certificamos que o Trabalho **EXTRATO BRUTO DE ALECRIM-DO-CAMPO (BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA): EFEITO ANSIOLÍTICO EM RATAS WISTAR**, de autoria de TALIA MARQUES OLIVEIRA, JULIA DOS REIS ALVES, RENATA MARIA LEAL DE SOUZA, JOSÉ ARMANDO LEITE NETO, GABRIELE GOMES FENÍCIO, MARCOS ADRIANO CARLOS BATISTA, PIETRO MEIRA PASCHOALETO, SANDRA APARECIDA LIMA DE MOURA, LEONARDO MAXIMO CARDOSO, CARLA SPERONI CERON e LISANDRA BRANDINO DE OLIVEIRA, foi apresentado na forma de painel, no Evento de Extensão **X Simpósio Integrado UNIFAL-MG**, realizado(a) no período de 21 a 25 de outubro de 2024.

Alfenas, 19 de novembro de 2024.



PRÓ-REITORIA DE EXTENSÃO E CULTURA

Certificado número  
20240000007324000760  
<http://sistemas.unifal-mg.edu.br/app/cae/certificados/>



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL-MG  
PRÓ-REITORIA DE EXTENSÃO E CULTURA  
CNPJ 17.879.859/0001-15



# Certificado

Certificamos que o Trabalho **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIDEPRESSIVO DE UMA NANOFORMULAÇÃO CONTENDO EXTRATO DE BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA EM RATOS WISTAR**, de autoria de GABRIELE GOMES FENÍCIO, JOSÉ ARMANDO LEITE NETO, JULIA DOS REIS ALVES, TALIA MARQUES OLIVEIRA, RENATA MARIA LEAL DE SOUZA, MARCOS ADRIANO CARLOS BATISTA, PIETRO MEIRA PASCHOALETO, SANDRA APARECIDA LIMA DE MOURA, LEONARDO MAXIMO CARDOSO, CARLA SPERONI CERON e LISANDRA BRANDINO DE OLIVEIRA, foi apresentado na forma de painel, no Evento de Extensão **X Simpósio Integrado UNIFAL-MG**, realizado(a) no período de 21 a 25 de outubro de 2024.

Alfenas, 19 de novembro de 2024.



PRÓ-REITORIA DE EXTENSÃO E CULTURA

Certificado número  
**2024000000732400523**  
<http://sistemas.unifal-mg.edu.br/applic/ae/certificados/>



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL-MG  
PRÓ-REITORIA DE EXTENSÃO E CULTURA  
CNPJ 17.879.859/0001-15



# Certificado

Certificamos que o Trabalho **COMPARANDO O EFEITO ANSIOLÍTICO DE UMA FORMULAÇÃO BRUTA E NANOESTRUTURADA DO EXTRATO DE BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA EM RATOS WISTAR**, de autoria de RENATA MARIA LEAL DE SOUZA, MARCOS ADRIANO CARLOS BATISTA, PIETRO MEIRA PASCHOALETO, SANDRA APARECIDA LIMA DE MOURA, LEONARDO MAXIMO CARDOSO, LISANDRA BRANDINO DE OLIVEIRA e CARLA SPERONI CERON, foi apresentado na forma oral, no Evento de Extensão **X Simpósio Integrado UNIFAL-MG**, realizado(a) no período de 21 a 25 de outubro de 2024.

Alfenas, 19 de novembro de 2024.



PRÓ-REITORIA DE EXTENSÃO E CULTURA

Certificado número  
**2024000000732400582**  
<http://sistemas.unifal-mg.edu.br/applic/ae/certificados/>



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL-MG  
PRÓ-REITORIA DE EXTENSÃO E CULTURA  
CNPJ 17.879.859/0001-15



# Certificado

Certificamos que o Trabalho **EXTRATO BRUTO DE BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA: EFEITO ANTIDEPRESSIVO EM RATAS WISTAR**, de autoria de JOSÉ ARMANDO LEITE NETO, GABRIELE GOMES FENÍCIO, RENATA MARIA LEAL DE SOUZA, TALIA MARQUES OLIVEIRA, JULIA DOS REIS ALVES, CARLA SPERONI CERON, LISANDRA BRANDINO DE OLIVEIRA, SANDRA APARECIDA LIMA DE MOURA, LEONARDO MAXIMO CARDOSO e MARCOS ADRIANO CARLOS BATISTA, foi apresentado na forma de painel, no Evento de Extensão **X Simpósio Integrado UNIFAL-MG**, realizado(a) no período de 21 a 25 de outubro de 2024.

Alfenas, 19 de novembro de 2024.



PRÓ-REITORIA DE EXTENSÃO E CULTURA

Certificado número  
**20240000007324000761**  
<https://sistemas.unifal-mg.edu.br/app/cae/certificados/>



**SBNeC 2024**

XLVII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento  
28 de outubro a 1 de novembro de 2024  
Centro de Convenções do Hotel Majestic, Águas de Lindóia – SP.

## CERTIFICADO

Certificamos que o resumo **"INVESTIGATION OF THE ANXIOLYTIC EFFECT OF BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA EXTRACT IN RATS"** e **"RENATA MARIA LEAL DE SOUZA, MARCOS ADRIANO CARLOS BATISTA, SANDRA APARECIDA LIMA DE MOURA, LEONARDO MÁXIMO CARDOSO, CARLA SPERONI CERON, LISANDRA BRANDINO DE OLIVEIRA"** foi apresentado na forma de painel durante a XLVII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento- SBNeC que foi realizada de 28 de outubro a 01 de novembro de 2024, no Centro de Convenções do Hotel Majestic, na cidade de Águas de Lindóia – SP.

*Azair L. Matos do Canto de Souza*  
Profa. Dra. Azair Liane Matos do Canto de Souza  
Presidente da SBNeC 2023 a 2026





# SBNeC 2024



XLVII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento

28 de outubro a 1 de novembro de 2024

Centro de Convenções do Hotel Majestic, Águas de Lindóia – SP.

## CERTIFICADO

Certificamos que

o trabalho intitulado “**Investigation of the anxiolytic effect of Baccharis dracunculifolia extract in rats**”, autores: RENATA MARIA LEAL DE SOUZA <sup>1</sup>, MARCOS ADRIANO CARLOS BATISTA <sup>2</sup>, SANDRA APARECIDA LIMA DE MOURA <sup>2</sup>, LEONARDO MÁXIMO CARDOSO <sup>2</sup>, CARLA SPERONI CERON <sup>2</sup>, LISANDRA BRANDINO DE OLIVEIRA <sup>1</sup>, **instituição:** 1 UNIFAL - Federal University of Alfenas, 2 UFOP - Federal University of Ouro Preto, foi agraciado com **MENÇÃO HONROSA** da XLVII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento - SBNeC, que foi realizada de 28 de outubro a 01 de novembro de 2024, no Centro de Convenções do Hotel Majestic, na cidade de Águas de Lindóia – SP.

*Azair Liane Matos do Canto de Souza*

Profa. Dra. Azair Liane Matos do Canto de Souza  
Presidente da SBNeC 2023 a 2026



Patrocinador

