



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**EFEITO ANTINEUROINFLAMATÓRIO DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Aniba canelilla (Kunth) Mez (Lauraceae) E SUAS REPERCUSSÕES
SOBRE O COMPORTAMENTO DO TIPO DEPRESSIVO.**

ELOISE KAROLINE SERRÃO CARDOSO

BELÉM
2024

ELOISE KAROLINE SERRÃO CARDOSO

**EFEITO ANTINEUROINFLAMATÓRIO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Aniba canelilla*
(Kunth) Mez (Lauraceae) E SUAS REPERCUSSÕES SOBRE O
COMPORTAMENTO DO TIPO DEPRESSIVO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – PPGCF, do Campus de Belém, da Universidade Federal do Pará, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e medicamentos.

Orientador: Dr. Enéas de Andrade Fontes Júnior.

BELÉM
2024

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a)
autor(a)

C268e Cardoso, Eloíse Karoline Serrão.
Efeito antineuroinflamatório do óleo essencial de Aniba
canelilla (Kunth) Mez (Lauraceae) e suas repercussões
sobre o comportamento do tipo depressivo / Eloíse Karoline
Serrão Cardoso. — 2024.
xcviii, 98 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Enéas de Andrade Fontes Júnior
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação
em Ciências Farmacêuticas, Belém, 2024.

1. Aniba canelilla. 2. 1-nitro-2-feniletano. 3.
neuroinflamação. 4. depressão. 5. plantas medicinais. I.
Título.

CDD 615

ELOISE KAROLINE SERRÃO CARDOSO

EFEITO ANTINEUROINFLAMATÓRIO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Aniba canelilla* (Kunth) Mez (Lauraceae) E SUAS REPERCUSSÕES SOBRE O COMPORTAMENTO DO TIPO DEPRESSIVO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – PPGCF, do Campus de Belém, da Universidade Federal do Pará, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e medicamentos.

Data da aprovação: ____/____/____

Conceito: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Enéas de Andrade Fontes Júnior
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas/UFPA

Prof^a. Dr^a. Dielly Catrina Favacho Lopes
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas/UFPA

Prof. Dr. Jofre Jacob da Silva Freitas
Membro externo- Universidade do Estado do Pará/UEPA

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família que me inspira sempre a buscar o melhor em mim e para mim. Sem eles, eu nada seria.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à Deus pelas graças de todos os dias e oportunidades diárias. Ele que é paz, amor, força e verdade. Ele que nos ama tanto que enviou seu filho Jesus Cristo, meu melhor amigo e confidente. Agradeço a Nossa Senhora de Nazaré, minha mãe, por interceder por mim perante o Senhor em momentos vulneráveis de minha vida.

Agradeço a minha família pelo apoio e força. Minha mãe Odilene que não poupou esforços para me incentivar e não me deixar desistir dos meus sonhos. Minha maior inspiração de força e mulher. Agradeço ao meu pai Egídio, meu maior incentivador de estudos, o mais carinhoso, atencioso e melhor pai que eu poderia ter. Meu profundo agradecimento por serem meus amigos, por sempre me escutarem e me entenderem. Agradeço por nunca me deixarem só e sempre estarem comigo. Amo muito vocês. Dedico todos os meus dias a vocês.

Agradeço aos meus irmãos Eduardo e Egídio Júnior por me ensinarem sobre fraternidade e companheirismo. Crescer junto de vocês tornou minha vida melhor e me tornou melhor. Obrigada pelo amor, amizade e preocupações. Minha vida é melhor por ter vocês.

Agradeço à minha avó Graça pelo amor mais lindo e puro. Sempre será possuidora do melhor cheiro, abraço e comida desse mundo. Te amo imensamente.

Agradeço aos meus amigos Tatiane, Izabele, Gabriela, Emanuelle, Ivo e Gabriel pela amizade e amor. Nestes mais de 12 anos de amizade crescemos e evoluímos juntos. Obrigada por ouvirem minhas lamurias e desabafos. É incrível partilhar a vida com vocês.

Agradeço minha afilhada Árya Maria, meu presente mais lindo. Que esta trajetória seja inspiração para que sempre busque nos estudos algo melhor. Amo-te imensamente.

Agradeço as minhas amigas Ana Paula, Camilla, Isis, Bianca e Sarah. Vocês tornam minha vida mais leve e feliz. Obrigada por todas confidencias trocadas. Contem comigo sempre.

Agradeço a minha amiga Marta, minha companheira de pós-graduação e minha confidente. Obrigada por ser meu apoio nos momentos felizes e tristes. Obrigada por apertar minha mão e estar ao meu lado. Você foi um presente em minha vida. Estarei aqui por você.

Agradeço a Brenda pelo apoio e ajuda nesta caminhada. Você faz parte do meu amadurecimento como pesquisadora. Obrigada pelas palavras de motivação e por me ajudar imensamente em toda minha caminhada. Sua chegada ao LAFICO tornou tudo melhor. Além disso, obrigada por ser minha amiga, por todos os conselhos, ensinamentos e risos.

Agradeço ao Lucas por acreditar em mim e por nunca deixar eu desistir durante minha pesquisa. Obrigada pelos conselhos e risos. Você é inspirador.

Agradeço a Monique, Suzanny, Suellen, Luiza e Joel por serem meu braço direito e esquerdo, pelo apoio e colaboração. Vocês são IC's maravilhosos, vejo um potencial incrível em cada um. Espero ter contribuído na formação de todos, pois contribuíram imensamente na minha. Minha imensa gratidão.

Agradeço a todos os doutorando, mestrando e IC's do LAFICO pelo apoio e companheirismo. Vocês tornam os dias melhores e mais felizes. O LAFICO é a dedicação e força de todos vocês.

Agradeço ao meu orientador Dr. Enéas, meu incentivador desde a graduação. Obrigada por acreditar em meu potencial e me erguer a mão para a pós-graduação. Sua confiança em mim me incentiva a sempre buscar o melhor em mim mesma. Agradeço pelos momentos, ensinamentos e broncas necessárias. Obrigada por me apresentar a vida científica e me tornar pesquisadora. Sem seu apoio não chegaria até aqui.

Agradeço a Dr^a Cristiane por ser uma inspiração como pesquisadora e mulher. Agradeço o carinho e preocupação com nosso bem-estar. Através de seus ensinamentos eu me tornei melhor que eu era. Obrigada pelos nossos diálogos e por acreditar em mim.

Agradeço todos os colaboradores que tornaram este projeto possível. Meus profundos agradecimentos ao Dr. Rommel Burbano e Dr. Pablo Figueiredo pelo apoio

no desenvolvimento dos experimentos. Meus agradecimentos ao CEPAM (UEPA) pelo apoio e disponibilidade nos experimentos do projeto.

Agradeço a todos que fizeram parte da minha vida e contribuíram para minha formação como pesquisadora e pessoa. Obrigada a todos.

EPÍGRAFE

“Mas iremos achar o tom
Um acorde com lindo som
E fazer com que fique bom
Outra vez o nosso cantar
E a gente vai ser feliz
Olha nós outra vez no ar
O show tem que continuar”

(CRUZ A., 2009)

RESUMO

CARDOSO, E. K. S. C.. **EFEITO ANTINEUROINFLAMATÓRIO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Aniba canelilla* (Kunth) Mez (Lauraceae) E SUAS REPERCUSSÕES SOBRE O COMPORTAMENTO DO TIPO DEPRESSIVO**. 2024, 98 f, Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Pará, 2024.

A neuroinflamação é um processo que envolve a micróglia, mediadores inflamatórios e espécies reativas que podem gerar dano e morte neuronal, contribuindo para o desenvolvimento de disfunções no sistema nervoso central (SNC), como a depressão e ansiedade. A espécie *Aniba canelilla* (Kunth) Mez (Lauraceae), conhecida como casca preciosa, distribuída pela região amazônica, é reconhecida por suas propriedades anticolinesterásica, ansiolítica, hipnótica e anticonvulsivante. O presente estudo visou investigar o efeito do óleo essencial de *Aniba canelilla* (OEAc) e seu constituinte majoritário, 1-nitro-2-feniletano (1N2F), sobre um modelo de neuroinflamação induzida por lipopolissacarídeo (LPS). Neste protocolo, ratos Wistar machos (n= 50) foram tratados com OEAc, 1N2F, padrão (fluoxetina) ou solução salina durante 7 dias seguidos, em intervalos de 24h. Após 1 hora da última administração, os grupos receberam LPS (0,5 mg/kg, via intraperitoneal). Após 24h, os animais foram submetidos a avaliação comportamental, através dos testes campo aberto, borrifagem de sacarose e nado forçado. Foram então coletados amostras do hipocampo, córtex pré-frontal, estriado e amígdala para avaliação de parâmetros estresse oxidativo (nitrito e malondialdeído) e citocinas pró-inflamatórias. Verificou-se que o LPS diminuiu a deambulação total, reduziu o tempo de autolimpeza e aumentou o tempo de imobilidade no nado forçado. As alterações comportamentais foram acompanhadas por aumento do fator NF- κ B, IL-1 β , IL-6, nitritos e malondialdeído. O OEAc e o 1N2F aumentaram a atividade locomotora, reduziram comportamento anedônico no *splash test* e tempo de imobilidade no nado forçado. O efeito do tipo antidepressivo está associado ao efeito antineuroinflamatório do OEAc e 1N2F, ao reduzir a concentração de NF- κ B, IL-1 β , IL-6, nitritos e malondialdeído.

Palavras-chave: *Aniba canelilla*, 1-nitro-2-feniletano, neuroinflamação, depressão, plantas medicinais.

ABSTRACT

Neuroinflammation is a process involving microglia, inflammatory mediators and reactive species that can cause neuronal damage and death, contributing to the development of dysfunctions in the central nervous system (CNS), such as depression and anxiety. The species *Aniba canelilla* (Kunth) Mez (Lauraceae), known as precious bark, distributed in the Amazon region, is recognized for its anticholinesterase, anxiolytic, hypnotic and anticonvulsant properties. The present study aimed to investigate the effect of *Aniba canelilla* essential oil (EOAc) and its major constituent, 1-nitro-2-phenylethane (1N2F), on a model of neuroinflammation induced by lipopolysaccharide (LPS). In this protocol, male Wistar rats (n = 50) were treated with EOAc, 1N2F, standard (fluoxetine) or saline for 7 consecutive days, at 24-h intervals. One hour after the last administration, the groups received LPS (0.5 mg/kg, intraperitoneally). After 24h, the animals were subjected to behavioral evaluation through open field, sucrose spray and forced swimming tests. Samples were then collected from the hippocampus, prefrontal cortex, striatum and amygdala to evaluate oxidative stress parameters (nitrite and malondialdehyde) and pro-inflammatory cytokines. It was found that LPS decreased total ambulation, reduced self-grooming time and increased immobility time in forced swimming. Behavioral changes were accompanied by increased NF-kB, IL-1 β , IL-6, nitrites and malondialdehyde. OEAc and 1N2F increased locomotor activity, reduced anhedonic behavior in the splash test and immobility time in forced swimming. The antidepressant-like effect is associated with the antineuroinflammatory effect of OEAc and 1N2F, by reducing the concentration of NF-kB, IL-1 β , IL-6, nitrites and malondialdehyde.

Keywords: *Aniba canelilla*, 1-nitro-2-phenylethane, neuroinflammation, depression, medicinal plants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Perfil fenotípico expresso pela micróglia	25
Figura 2. Mecanismo de sinalização intracelular de receptores Toll Like 4.....	27
Figura 3. Estrutura esquemática do LPS.....	32
Figura 4. Ligação do LPS ao receptor Toll Like 4.....	33
Figura 5. <i>Aniba canelilla</i> (Kunth) Mez.....	41
Figura 6. Desenho experimental.....	50
Figura 7. Representação esquemática do teste do Campo Aberto.	51
Figura 8. Representação esquemática do teste de Borrifagem de Sacarose.....	52
Figura 9. Representação esquemática do teste do Teste do Nado Forçado.....	52
Figura 10. Cromatograma do óleo essencial de <i>A. canelilla</i>	56
Figura 11. Cromatograma do óleo essencial de <i>A. canelilla</i>	57
Figura 12. Efeito do OEAc (2 mg/kg; ip.) ou 1N2F (1,65 mg/kg; ip.) sobre a distância de locomoção total e velocidade no teste do Campo Aberto.....	59
Figura 13. Efeito do OEAc (2 mg/kg) ou 1N2F (1,65 mg/kg) sobre locomoção e tempo no Centro do Campo Aberto.....	60
Figura 14. Efeito do OEAc (2 mg/kg) ou 1N2F (1,65 mg/kg) sobre o tempo de latência e <i>grooming</i> no <i>Splash Test</i>	61
Figura 15. Efeito do OEAc (2 mg/kg) ou 1N2F (1,65 mg/kg) sobre o tempo de imobilidade e escalada no Nado Forçado	62
Figura 16: Efeito do OEAc e 1N2F sobre os níveis de NF- κ B, IL-1 β e IL-6 no estriado, córtex pré-frontal e hipocampo.....	64
Figura 17. Efeito do OEAc e 1N2F sobre os níveis de nitritos e TBARS no estriado, córtex pré-frontal, hipocampo e amígdala	66

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1. Outros constituintes da Aniba canelilla e suas atividades biológicas principais.	42
Tabela 1. Grupos experimentais.	50
Tabela 2. Composição química do óleo essencial de <i>A. canelilla</i> 77,5%.	56
Tabela 3. Composição química do óleo essencial de <i>A. canelilla</i> 80,4%.	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1N2F	1-Nitro-2-Feniletano
4-HNE	4-hidroxi-2-nonenal
AP-1	Proteína Ativadora-1
APC	Célula Apresentadora de Antígeno
Arg-1	Arginase 1
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
BHE	Barreira Hematoencefálica
CAT	Catalase
CD-36	Clusters de Diferenciação-36
Chil3	Quitinase-3
COX-2	Ciclooxigenase-2
CPF	Córtex Pré-frontal
CRs	Receptores de Complemento
CYP	Citocromo P450
DAMPs	Padrões Moleculares Associados a Danos
ERNS	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
FLX	Fluoxetina
Fzd1	Receptor 1 Da Classe Frizzled
GC	Glicocorticoide
GPx	Glutaciona peroxidase
H2O2	Peróxido de hidrogênio
HCIO	Ácido hipocloroso

HNO	Ânion nitroxila
HO2-	Hidroperoxil
HPA	Hipotálamo-Pituitária-Adrenal
IDO	Indoleamina 2,3-dioxigenase
IFN-I	Interferon Tipo I
IFN-γ	Interferon gama
IGF-1	Fator De Crescimento Semelhante à Insulina 1
IKK	Complexo Iκβ Quinase
IKKi	Quinase Induzível por IKK
IL	Interleucinas
IL-10	Interleucina-10
IL-1β	Interleucina-1β
IL-4	Interleucina-4
IL-6	Interleucina-6
iNOS	Óxido Nítrico Sintase induzível
IRAK	Quinases Associadas ao Receptor de Interleucina
IRF3	Fator Regulador 3 do IFN
IRSN	Inibidores Recaptação de Serotonina e Noradrenalina
ISRS	Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina
JNKs	Quinases Jun N-terminais
LCEPT	Límbico-Cortical-Estriado-Palidal-Talâmico
LOOH	Hidroperóxidos lipídicos
LPS	Lipopolissacarídeo

LRR	Repetições Ricas em Leucina
MAL	Proteína semelhante a adotante MyD88
MAPKs	Proteínas Quinases Ativadas por Mitógeno p38
MDA	Malondialdeído
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade
MyD88	Proteína de Resposta Primária de Diferenciação Mieloide 88
N2O3	Dinitrogênio trióxido
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato
NF-kB p65	Fator Nuclear kB subunidade p65
NMDA	Receptor N-metil-d-aspartato
NO-	Óxido Nítrico
NO2-	Nitrito
NO2	Dióxido de nitrogênio
NRROS	Espécies Reativas de Oxigênio de Resposta Negativa
O2-	Superóxido
O2	Oxigênio
OE	Óleo Essencial
OEAc	Óleo Essencial de <i>Aniba Canelilla</i>
OH-	Hidroxila
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONOO-	Peroxinitrito
PAMPs	Padrões Moleculares Associados a Patógenos
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

PRR	Receptores de Reconhecimento Padrão
RAGE	Receptor para Produtos Finais de Glicação Avançada
RO2-	Peroxil
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido dismutase
SUS	Sistema Único de Saúde
TAK1	Quinase 1 Ativada pelo Fator de Crescimento Beta de Transformação
TBK1	Quinase 1 de Ligação ao TANK de Serina/Proteína-Treonina
TDM	Transtorno Depressivo Maior
TGF-β	Fator De Crescimento Transformador B
TIR	Intracelulares do Receptor Toll /IL-1
TIRAP	Proteína adaptadora contendo domínio TIR
TLR	Receptor Toll-like
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral- α
TRAF3	Fator 3 Associado ao Receptor de TNF
TRAF6	Fator 6 Associado ao Receptor de TNF
TRAM	Molécula Adaptadora Relacionada ao TRIF
TRIF	Domínio Receptor Toll/Interleucina-1- Contendo Interferon B Indutor de Adaptador

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	20
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	22
2.1. Neuroinflamação	23
2.1.1. Micróglia.....	24
2.1.2. Receptor Toll-like 4	25
2.1.3. Citocinas	28
2.2. Estresse Oxidativo	29
2.3. Lipopolissacarídeo.....	31
2.4. Depressão	34
2.5. Plantas medicinais	37
2.7. Família Lauraceae	39
2.7.1. Aniba canelilla	40
2.7.2. 1-nitro-2-feniletano.....	44
3. OBJETIVOS.....	46
3.1. Objetivos específicos	46
4. MATERIAIS E MÉTODOS	48
4.1. Aquisição do material botânico.....	48
4.2. Análise da composição química do OEAC.....	48
4.3. Animais de experimentação.....	48
4.4. Drogas.....	49
4.5. Modelo de Neuroinflamação induzida pelo LPS	49
4.6. Avaliação comportamental.....	51
4.6.1. Teste do Campo Aberto (<i>Open Field</i>).....	51
4.6.2. Teste de Borrifagem de Sacarose (<i>Splash Test</i>)	51
4.6.3. Teste do Nado Forçado (<i>Forced Swimming Test</i>).....	52
4.7. Eutanásia e coleta de amostras	53
4.8. Avaliação da neuroinflamação.....	53
4.9. Avaliação do estresse oxidativo.....	53
4.9.1. Dosagem de Nitritos.....	53
4.9.2. Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS).....	54
4.10. Análise Estatística	54

5. RESULTADOS.....	56
5.1. Composição do óleo essencial.....	56
5.2. Composição do óleo essencial enriquecido em 1N2F	57
5.3. Avaliação comportamental.....	59
5.3.1. O OEAc e 1N2F previnem o prejuízo motor associado à neuroinflamação.	59
5.3.2. O OEAc e 1N2F previnem o prejuízo na emocionalidade associado à neuroinflamação. ...	60
5.3.3. O OEAc e 1N2F reduzem a anedonia relacionada à neuroinflamação.	61
5.3.4. O OEAc e 1N2F previnem o desenvolvimento de comportamento do tipo depressivo associado à neuroinflamação.....	62
5.4. Avaliação neuroinflamatória.....	63
5.4.1. O OEAc e 1N2F inibem a neuroinflamação induzida por LPS.....	63
5.5. Avaliação do estresse oxidativo.....	65
5.5.1. O OEAc e 1N2F inibem o estresse oxidativo induzido por LPS.....	65
6. DISCUSSÃO	68
7. CONCLUSÃO	77
REFERÊNCIAS.....	79
ANEXO	97
ANEXO A – Certificado de Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa	97



INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O processo inflamatório é uma resposta imunológica a estímulos biológicos, químicos e/ou físicos, que tem a finalidade de restaurar a homeostase do organismo, através da indução e da regulação de componentes celulares e humorais (ZWEIFACH, GRANT e MCCLUSKEY, 2014; CHEN et al., 2018). A inflamação no sistema nervoso central (SNC), chamada de neuroinflamação, envolve a participação de neurônios, micróglia, astrócitos e células sanguíneas, além de infiltração de leucócitos, liberação de mediadores inflamatórios e de espécies reativas de oxigênio (EROS) e nitrogênio (ERNS). (ABDULKHALEQ et al., 2018; CHEN et al., 2018). Conseqüentemente, o excesso destas moléculas gera disfunção sináptica, morte neuronal e inibição da neurogênese, propiciando e contribuindo para disfunções e degenerações do SNC como na doença de Parkinson, de Alzheimer, na depressão, na esquizofrenia, no autismo e no transtorno bipolar (SHABAB et al., 2017).

Os modelos experimentais utilizando lipopolissacarídeo (LPS), uma endotoxina da parede celular de bactérias Gram-negativas, são eficazes para a indução de neuroinflamação em animais, pois geram mecanismos oxidativos e inflamatórios em regiões encefálicas (LEE et al., 2018; KURACH et al., 2021). O LPS ativa a micróglia, via receptor Toll-like 4, iniciando cascatas de sinalização e de vários fatores de transcrição como o fator nuclear kappa -B (NF-kB) (SHABAB et al., 2017; ALZAREA et al., 2022). Nesse processo, ocorre a estimulação da produção de espécies oxidantes e mediadores pró-inflamatórios, principalmente fator de necrose Bntumoral- α (TNF- α), interferon-gama (IFN- γ), interleucinas (IL-1 β , IL-6) e enzimas óxido nítrico sintase (NOS) e ciclooxigenase-2 (COX-2) (SHABAB et al., 2017; LI et al., 2021; ALZAREA et al., 2022).

A partir destas propriedades, o LPS tem sido utilizado como agente neuroflogístico, proporcionando um modelo experimental de neuroinflamação associada a transtornos mentais (LI et al., 2021; ALZAREA et al., 2022). O LPS induz comportamentos do tipo depressivo e ansioso, prejuízos cognitivos e de aprendizado, anedonia, lentidão psicomotora e prejuízo na interação social em murinos (BENSON et al., 2017; ALZAREA et al., 2022). Esse comportamento é induzido pelo estresse oxidativo, redução de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e aumento de citocinas em estruturas límbicas como hipocampo, córtex pré-frontal e amígdala (KIECOLT-GLASER et al., 2015; LI et al., 2021; YAN et al., 2023). Nesse sentido, estudos atuais baseiam-se nestes modelos neuroinflamatórios de indução por LPS

para elucidação de novos fármacos que atuem no processo neuroinflamatório, melhorando a depressão e ansiedade, principalmente a base de plantas medicinais.

A família de árvores e arbustos *Lauraceae* é constituída por 52 gêneros e aproximadamente 3.500 espécies, que apresentam ocorrência em regiões tropicais e subtropicais (ROHWER et al., 1993; SOUZA-JÚNIOR et al., 2020). As espécies são utilizadas economicamente para fornecimento de madeira, extração de óleos essenciais e produção de compostos químicos (GOTTLIEB, 1972; BARBOSA et al., 2012). Já foram identificados cerca de 24 gêneros e 411 espécies no Brasil, gêneros como *Aniba*, *Nectandra*, *Ocotea*, *Licaria* e *Dicypellium* são caracterizados pelos aromas da extração de seus óleos essenciais resinas e rico em compostos voláteis (QUINET et al., 2015; SOUZA-JÚNIOR et al., 2020).

Algumas espécies da família são utilizadas na medicina tradicional, como a *Aniba canelilla* (Kunth) Mez (*Lauraceae*), uma árvore aromática de odor característico, semelhante a canela, sendo conhecida popularmente como ‘casca-preciosa’ ou ‘falsa-canela’ (PINTO et al., 1995; CARDOSO et al., 2022). É relatado a ampla utilização da infusão de suas folhas, cascas e galhos, sendo utilizada para o tratamento de inflamação, dor, infecção, lesão, ulcerações intestinais e náuseas. Populações indígenas a citam como calmante natural, possuindo atividade tranquilizante e antidepressiva (DE ALMEIDA et al., 2013; BARBOSA et al., 2017; SOUZA-JÚNIOR et al., 2020).

Dessa forma, estudos envolvendo o óleo essencial de *A. canelilla*, constituído majoritariamente por 1-Nitro-2-Feniletano (1N2F), possui atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antinociceptiva, antioxidante, anti-hipertensiva, antiarrítmica, neuroprotetora, anticolinesterásica, ansiolítica, sedativa, anti-hipnótica e anticonvulsivante (DA SILVA et al., 2007; CARDOSO et al., 2022; VALE et al., 2013; LAHLOU et al., 2005; SILVA et al., 2012; MESQUITA et al., 2012; INTERAMINENSE et al., 201; OYEMITAN et al., 2013). Todavia, não há estudos pré-clínicos relacionados aos efeitos do óleo essencial de *Aniba canelilla* (OEAc) e de seu constituinte majoritário 1-Nitro-2-feniletano sobre a neuroinflamação e alterações comportamentais induzida pelo LPS.



REFERENCIAL TEÓRICO

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Neuroinflamação

A inflamação é uma resposta imunológica a um estímulo agressor, baseada na ativação coordenada e dinâmica de vias de sinalização que induzem e regulam componentes celulares, vasculares e humorais, visando restaurar a homeostasia (ZWEIFACH, GRANT e MCCLUSKEY, 2014; CHEN et al., 2018). Sendo iniciada por estímulos prejudiciais, como patógenos, radiação, células danificadas e moléculas tóxicas (CHEN et al., 2018). Para isso, o processo inflamatório conta com alterações de permeabilidade vascular, infiltração e acúmulo de leucócitos como monócitos, neutrófilos, macrófagos e células da cascata do complemento, que se apresentam em sinais como vermelhidão, inchaço, calor, dor e perda de função tecidual. Essas células liberam moléculas inflamatórias como IL-1 β , IL-6, TNF- α , quimiocinas, óxido nítrico (NO), compostos lipídicos, prostaglandinas, EROS e ERNS (ABDULKHALEQ et al., 2018; CHEN et al., 2018).

Em consoante, a inflamação no SNC acarreta consequências imunológicas, fisiológicas, bioquímicas e psicológicas (SHABAB et al., 2017). Sendo um fator etiopatogênico comum entre os distúrbios neurológicos, como doença de Huntington, acidente vascular cerebral, esclerose múltipla, doença de Parkinson, esclerose lateral amiotrófica, epilepsia, doença de Alzheimer, narcolepsia, ansiedade e depressão (SHABAB et al., 2017; MISHRA et al., 2021). Frequentemente, estas respostas neuroinflamatórias são ocasionadas por infecções, traumas, processos isquêmicos, lesões, antecedentes genéticos, estimulações anormais, experiências passadas e envelhecimento (SHABAB et al., 2017; LENG e EDISON, 2021). Suas características marcantes são o aumento de citocinas pró-inflamatórias, ativação da micróglia, infiltração periférica de leucócitos e danos ao tecido nervoso. (WOORDBURN et al., 2021).

Na neuroinflamação, a célula-chave é a micróglia, célula residente do SNC, que possui atividade estrutural e fisiológica, apresentando um perfil imunológico frente ao estímulo nocivo, semelhante ao macrófago periférico (LENG e EDISON, 2021; WOORDBURN et al., 2021). A ativação glial pode ser o resultado de um dano local ou uma resposta a um dano sistêmico (HURLEY e TIZABI, 2013). Este dano é reconhecido pelos receptores de reconhecimento padrão (PRR) presentes nas membranas celulares das micróglias, como por exemplo o receptor Toll-Like. Esses RRP's são ativados por moléculas patogênicas, induzindo vias de transcrição gênica

e iniciando a síntese de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6 e TNF- α), interferons Tipo I (IFN-I), quimiocinas (CCL2, CCL5, CXCL1), EROS, ERNS e de prostaglandinas (DISABATO et al., 2016; MISHRA et al., 2021; MUZIO, 2021).

A progressão e persistência da neuroinflamação acarreta o rompimento a barreira hematoencefálica (BHE) pelo aumento de moléculas reativas em excesso (MISHRA et al., 2021; HEIDARI et al., 2022). Essa ruptura permite a infiltração de leucócitos periféricos, como monócitos, macrófagos, neutrófilos e células T, que intensificam ainda mais a neuroinflamação (HEIDARI et al., 2022). Geralmente, esse processo é autolimitante, porém a persistente ativação microglial intensifica a produção moléculas pró-inflamatórias e espécies reativas propiciando o desenvolvimento de disfunções e degenerações do SNC (LENG e EDISON, 2021).

2.1.1. MICRÓGLIA

A micróglia é uma das células responsáveis pela homeostase e comportamento neural, chamada de macrófago residente do SNC (SHABAB et al., 2017). Estas células representam uma proporção variada de 10-15% da população total de células do cérebro (SUBHRAMANYAM et al., 2019). Em um estado saudável, a micróglia expressa morfologia ramificada e monitora o microambiente sem perturbar o espaço neurovascular (KWON e KOH, 2020; SHAO et al., 2022). Além disso, desempenha atividades de remodelação de sinapses, manutenção da homeostase da mielina e liberação de fatores neurotróficos (KIM et al., 2015; KWON e KOH, 2020). Mas também, são células imunes inatas responsáveis pela inflamação cerebral e, em sua maioria, pelas doenças neurodegenerativas inflamatórias (SHABAB et al., 2017). Esta função imunológica microglial é ativada por desregulação homeostática, assim, alterando sua morfologia, expressão gênica e funcionamento, proliferando-se e migrando para a lesão, onde fagocita os restos celulares ou células danificadas (SHAO et al., 2022).

Essa alteração de funcionamento possibilita que a micróglia ativada seja classificada de acordo com seu perfil fenotípico expresso: M1 e M2 (Figura 1). O fenótipo M1 é chamado de inflamatório, associado a produção de EROs e ERNs, citocinas pró-inflamatórias, proteases e migração leucocitária, dessa forma produzindo efeitos prejudiciais (BACHILLER et al., 2018; SUBHRAMANYAM et al., 2019). Por outro lado, o perfil M2 regula ações anti-inflamatórias por meio da liberação de fatores tróficos e citocinas anti-inflamatórias, sendo liberado IL-4, IL-10, IL-13 e

fator de crescimento transformador β (TGF- β) (BACHILLER et al., 2018). A micróglia neuroprotetora libera mais fatores associados à neuroproteção e à cicatrização tecidual, tais como Quitinase-3 (Chil3), Arginase 1 (Arg-1), CD206, fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1) e receptor 1 da classe Frizzled (Fzd1) (SUBHRAMANYAM et al., 2019; KWON e KOH., 2020).

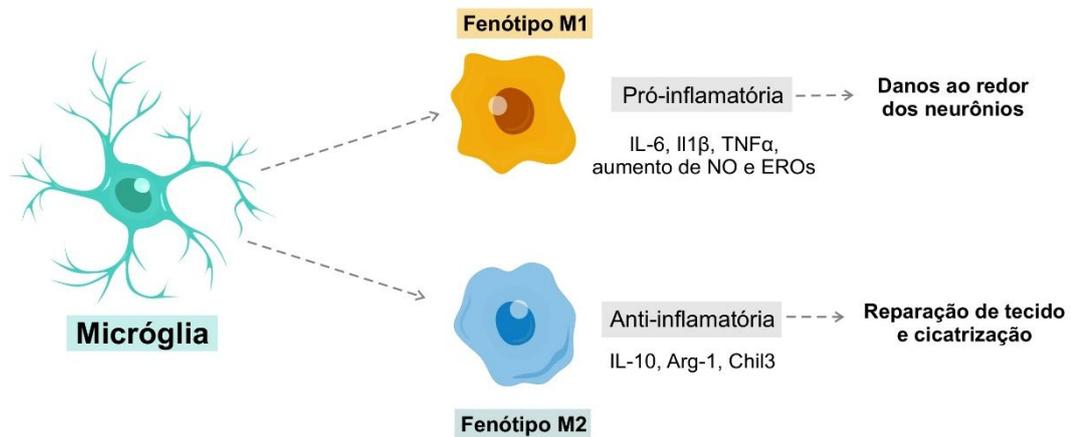


Figura 1. Perfil fenotípico expresso pela micróglia. Abreviações: IL-6- interleucina 6; IL-1 β - interleucina 1 β ; TNF- α - fator de necrose tumoral alfa; EROS- espécies reativas de oxigênio; NO- óxido nítrico; IL-10- interleucina 10; Arg-1- Arginase 1; Chil3- Quitinase-3.
Fonte: Adaptado de Subhramanyam et al. (2019).

Também é uma das funções imunológicas da micróglia reconhecer padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e padrões moleculares associados a danos (DAMPs) através de PRRs presentes nas membranas dessas células, dessa forma, funcionando como uma célula apresentadora de antígeno (APC). Como exemplo de PRRs presentes nas micróglia têm-se o complexo principal de histocompatibilidade (MHC), receptor para produtos finais de glicação avançada (RAGE), clusters de diferenciação-36 (CD-36), receptor Toll-like (TLR), receptor scavenger, receptor Fc, receptores de complemento (CRs), receptores de quimiocinas e de citocinas (MISHRA et al., 2021; SKRZYPCZAK-WIERCIOCH e SALAT, 2022).

2.1.2. RECEPTOR TOLL-LIKE 4

Os TLR's são pertencentes à família dos RRP's, a qual os humanos possuem 10 tipos (TLR1-10), que estão distribuídos em células dendríticas, monócitos, macrófagos, micróglia, astrócitos, células endoteliais cerebrais, endotélio de

microvasos dérmicos, endotélio da veia umbilical e adipócitos (SAMMER e NISSAR, 2021; SKRZYPCZAK-WIERCIOCH e SALAT, 2022). Sendo assim, possui uma posição importante na defesa contra patógenos ao identificar PAMP's e DAMP's, como sinais exógenos ou endógenos, proteínas ou moléculas agregadas, células mortas e restos celulares, assim ativando essas células e iniciando a reação inflamatória (SHABAB et al., 2017; LENG e EDISON., 2021; MISHRA et al., 2021).

Para que a identificação do patógeno seja eficiente, os TLR são divididos em intracelulares (TLR3, 7, 8 e 9) e de membrana celular (TLR1, 2, 4, 5, 6 e 10) (SAMMER e NISSAR, 2021). Nesse sentido, o TLR4 é um receptor transmembranar expresso nas micróglia que reconhece os PAMP's e DAMP's, detectados pelo domínio externo de repetições ricas em leucina (RRL) dos TLR's, ocasionando a homo ou heterodimerização do receptor e ativando os domínios Intracelulares do Receptor Toll /IL-1 (TIR), iniciando a cascata de sinalização. A partir disto, inicia-se o recrutamento de moléculas adaptadoras como a MyD88 (proteína de resposta primária de diferenciação mielóide 88), que se liga ao domínio do TLR4 através da proteína MAL (proteína semelhante a adotante MyD88) e TIRAP (proteína adaptadora contendo domínio TIR) (SKRZYPCZAK-WIERCIOCH e SALAT, 2022; HEIDARI et al., 2022).

Como ilustrado na figura 2, o complexo TLR4-MyD88 (1) induz a ligação de quinases associadas ao receptor de interleucina (IRAK), como IRAK1, IRAK2 e IRAK4, formando o complexo "myddosome". As IRAK's fosforiladas atraem o fator 6 associado ao receptor do fator de necrose tumoral (TRAF6) para o myddosome, que induz a quinase 1 ativada pelo fator de crescimento beta de transformação (TAK1). Desse modo, a sinalização pela TAK1 (2) aumenta a expressão de ativadores de transcrição como complexo $\text{I}\kappa\text{B}$ quinase (IKK) que fosforilam o complexo de NF- κB /I κB , proporcionando liberação NF- κB subunidade p50/p65 e sua translocação para o núcleo, ativando o fator de transcrição NF- κB . Além disso, a quinase TAK1 (3) ativa proteínas quinases ativadas por mitógeno p38 (MAPK's) e quinases jun N-terminais (JNK's) que elevam a expressão de proteína ativadora-1 (AP-1). A ativação do fator NF- κB e AP-1, induz regiões reguladoras de genes pró-inflamatórios e leva a transcrição de mediadores pró-inflamatórios, como IL-1, IL-6 e TNF- α e enzimas, tais como iNOS e COX-2 (SKRZYPCZAK-WIERCIOCH e SALAT, 2022; HEIDARI et al., 2022).

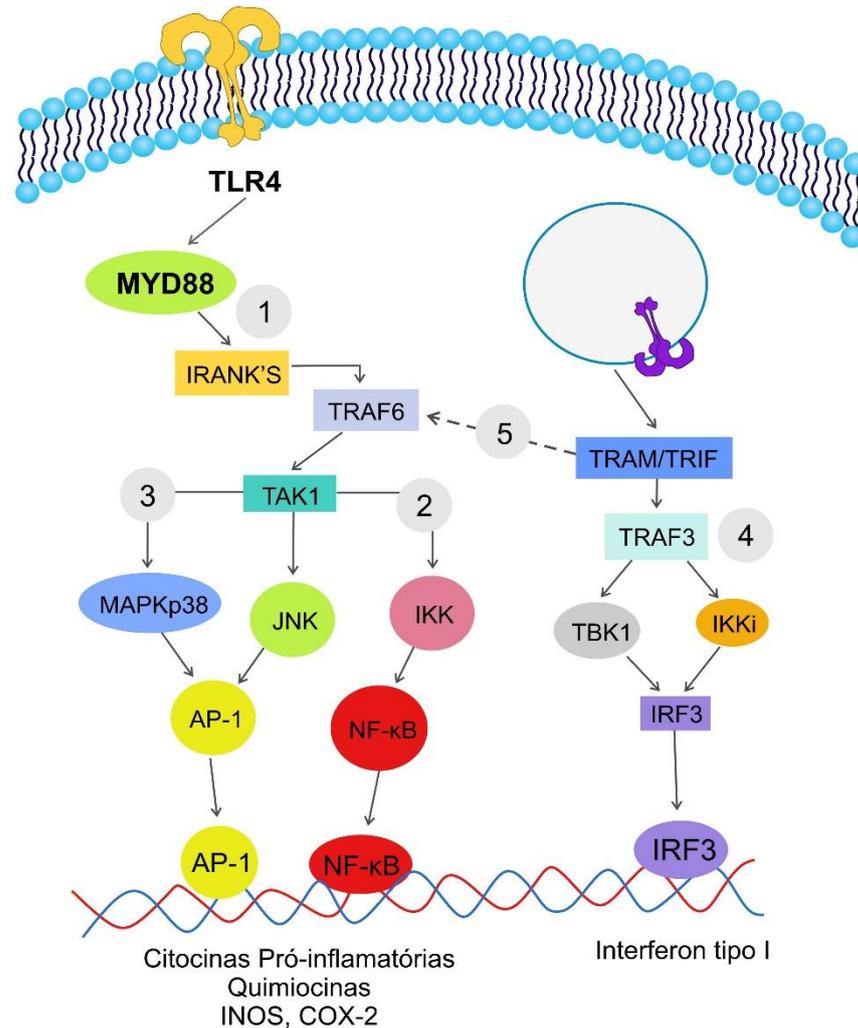


Figura 2. Mecanismo de sinalização intracelular de receptores Toll Like 4. Abreviações: TLR4- toll like 4; MyD88- proteína de resposta primária de diferenciação mieloide 88; IRAK- quinases associadas ao receptor de interleucina; TRAF6- fator 6 associado ao receptor do fator de necrose tumoral; TAK1- quinase 1 ativada pelo fator de crescimento beta de transformação; IKK- complexo I κ B quinase; NF- κ B- factor nuclear kappa B; MAPK's- proteínas quinases ativadas por mitógeno p38; JNK's- quinases jun N-terminais; AP-1- proteína ativadora-1; TRIF- domínio receptor Toll/Interleucina-1- contendo interferon B indutor de adaptador; TRAF3- fator 3 associado ao receptor de TNF; IKKi- quinase induzível por IKK; TBK1- quinase 1 de ligação ao TANK de serina/proteína-treonina; IRF3- fator regulador 3 do IFN. TRAM- molécula adaptadora relacionada ao TRIF.
Fonte: Adaptado de Subhramanyam et al. (2019), Heidari et al. (2022), Krzypczak-Wiercioch e Salat (2022).

Outro meio de reconhecimento pelos TLR's, especialmente pelo TLR3 e TLR4, é a via dependente de TRIF (Domínio receptor Toll/Interleucina-1- contendo interferon B indutor de adaptador). Nessa via de sinalização (4; Figura 2), o TRIF ativado estimula o fator 3 associado ao receptor de TNF (TRAF3), recrutando a quinase induzível por IKK (IKKi) e a quinase 1 de ligação ao TANK de serina/proteína-treonina

(TBK1). Então, as quinases TBK1 e IKKi ativam o fator regulador 3 do IFN (IRF3), que por sua vez induz a síntese de Interferon tipo I. Além disso, TRIF (5) associado a molécula adaptadora relacionada ao TRIF (TRAM) e TLR4 podem interagir com TRAF6 que desencadeia a translocação nuclear de fatores de transcrição como a via NF- κ B e AP-1, induzindo a produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias que irão desencadear desequilíbrio em outras células neurais (SKRZYPCZAK-WIERCIOCH e SALAT, 2022; HEIDARI et al., 2022).

2.1.3. CITOCINAS

As citocinas são peptídeos heterogêneos liberados por células do sistema imunológico, como monócitos, macrófagos, linfócitos, micróglia e astrócitos, na inflamação, infecção e/ou alterações imunológicas e realizam a reparação de tecidos danificados e a restauração homeostática (KIM et al., 2015). Com isso, estas moléculas são diferentes entre si e atuam de diferentes formas em uma célula efetora, de tal maneira que esse conjunto de moléculas engloba interleucinas (IL), interferons (IFN), quimiocinas, linfocinas, TNF- α e a superfamília do fator de crescimento transformador de citocinas (TGF). Nesse sentido, podem ser classificadas em citocinas pró-inflamatórias que amplificam a inflamação, como IL-1 β , IL-6 e TNF- α , e em citocinas anti-inflamatórias, que amplificam respostas inflamatórias, por exemplo IL-4 e IL-10 (KIM et al., 2015). A partir disso, as citocinas irão atuar na proliferação e diferenciação celular, infiltração de leucócitos, morte e sobrevivência celular em diversas regiões do organismo (SHABAB et al., 2017; HARSANYI et al., 2023).

No microambiente do SNC, a ocorrência de lesão, isquemia ou infecção ativa as micróglia, que induzem a superprodução e liberação de citocinas pró-inflamatórias, aumentando a concentração em 100 vezes em relação às condições homeostáticas (KIM et al., 2015). Essa sinalização inflamatória elevada desregula o metabolismo e funcionalidade dos neurotransmissores por diferentes mecanismos, como por exemplo, a ação de IL-1 β e TNF- α ativa a via da MAPK, aumentando a recaptção de monoaminas como serotonina, dopamina e norepinefrina através de estimulação de transportadores da membrana (MILLER et al., 2009; KIECOLT-GLASER et al., 2015; GRYGIEL-GÓRNIK et al., 2019).

Nesse cenário, o aumento citocinas IFN- γ , IL-1 β e TNF- α diminuiu pronunciadamente os níveis de serotonina pela degradação do triptofano, através da indução da via das quinureninas e da indoleamina 2,3-dioxigenase (IDO). Além disso,

a degradação de Triptofano pode exacerbar a excitotoxicidade glutamatérgica ao produzir metabólitos ligantes de receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) e diminuir a produção de fatores neurotróficos, como BDNF, especialmente no hipocampo (GRYGIEL-GÓRNIAK et al., 2019; KIECOLT-GLASER et al., 2015). De forma semelhante, a estimulação de IL-1 β na produção de prostaglandina E2, proporciona a liberação de glutamato pré e pós-sináptico, induzindo o receptor NMDA, produzindo a excitotoxicidade neuronal. Além disso, esse aumento altera os níveis de TNF- α iniciando vias apoptóticas ao ativar o receptor 1 do TNF (TNFR1) e recrutando a caspase 8, levando a morte neuronal (LENG e EDISON, 2021).

As modificações neuroendócrinas também ocorrem por elevação de citocinas provocando a hiperatividade do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) e falha do *feedback* negativo de glicocorticoides (GC's). Dessa maneira, os GC's induzem a via JNK e MAPK p38, ativando o fator de transcrição NF- κ B, alterando função e expressão do receptor de GC's, ocorrendo a irresponsividade desses receptores, exacerbando a produção de respostas inflamatórias (KIECOLT-GLASER et al., 2015). Somado a isso, IL-1 β e TNF- α causam alteração de permeabilidade da BHE por indução da expressão de moléculas de adesão, auxiliando a infiltração de leucócitos e espécies reativas. (SHABAB et al., 2017; GRYGIEL-GÓRNIAK et al., 2019). Por outro lado, as espécies reativas também induzem a expressão de genes pró-inflamatórios pela via do NF- κ B, mantendo, assim, a interdependência entre o estresse oxidativo e a inflamação (BHATT et al., 2020; SHARAPOV et al., 2021).

2.2. Estresse Oxidativo

Os radicais livres são gerados por processos metabólicos biológicos, como a respiração celular pelas mitocôndrias através da fosforilação oxidativa, ocorrendo a redução monovalente do oxigênio (O_2) na cadeia transportadora de elétrons mitocondrial (FEITOSA et al., 2018; TELEANU et al., 2022). Em níveis homeostáticos, essas moléculas desempenham o papel de segundos mensageiros em processos como fagocitose, apoptose, fertilização do óvulo, regulação de expressão gênica, sinalização celular, crescimento, proliferação e diferenciação celular (BAKUNINA et al., 2015; BHATT et al., 2020)

A partir de sua estrutura molecular, os radicais livres e espécies reativas podem ser classificados como EROs e ERNs (FILOMENI et al., 2015; FEITOSA et al., 2018). Desse modo, dentre as EROs têm-se superóxido (O_2^-), hidroxila (OH^-), peróxido de

hidrogênio (H_2O_2), peroxil (RO_2^-), hidroperoxil (HO_2^-), hidroperóxidos lipídicos (LOOH) e ácido hipocloroso (HClO) (FEITOSA et al., 2018). ERNS são compostas por óxido nítrico (NO^-), Nitrito (NO_2^-), dióxido de nitrogênio (NO_2), dinitrogênio trióxido (N_2O_3), ânion nitroxila (HNO) e peroxinitrito (ONOO^-) (FEITOSA et al., 2018). Devido os elétrons desemparelhados, estas moléculas apresentam capacidade de doar seus elétrons para outras moléculas causando reações em cadeia e, em níveis elevados, danos oxidativos (FILOMENI et al., 2015; FEITOSA et al., 2018).

Em circunstâncias normais, os processos metabólicos produzem níveis altos de espécies reativas que são contrabalanceadas por um sistema antioxidante, com antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Dentre os enzimáticos, têm-se a enzima superóxido dismutase (SOD) que neutraliza o superóxido em água (H_2O) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que é desprotonado pela catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx). Os antioxidantes não enzimáticos são substâncias capazes de neutralizar radicais livres, como glutathione tocoferóis e ascorbato (FILOMENI et al., 2015; FEITOSA et al., 2018). Contudo, quando o sistema antioxidante não é capaz de neutralizar as EROs/ERNS, instala-se o quadro de estresse oxidativo, caracterizado pelos altos níveis de espécies reativas. (FEITOSA et al., 2018; SHARAPOV et al., 2021)

As espécies reativas possuem a capacidade de oxidar macromoléculas biológicas como lipídios, proteínas, RNA e DNA (SHARAPOV et al., 2021). A peroxidação lipídica causa danos estruturais a hidroperóxidos lipídicos (LOOH) das membranas, gerando epítomos de oxidação, como o 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE) e o malondialdeído (MDA), que são subprodutos citotóxicos e pró-inflamatórios (BAKUNINA et al., 2015; TELEANU et al., 2022). A oxidação de proteínas também é relevante, pois as proteínas oxidadas formam agregados citotóxicos, especialmente em células neurais, que podem estar presentes em distúrbios como, por exemplo, na doença de Parkinson (TELEANU et al., 2022).

Curiosamente, o SNC é o mais suscetível a danos oxidativos devido sua alta atividade metabólica, consumindo 20% do oxigênio total (FEITOSA et al., 2018). Ainda, possui baixa regeneração tecidual, como também baixos níveis de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, acarretando a autooxidação dos neurotransmissores e aminoácidos excitatórios. Além disso, a liberação de radicais pode peroxidar as membranas neuronais ricas em ácidos graxos poli-insaturados,

oxidar proteínas, ácidos nucleicos e ativar a apoptose de células neurais (SHABAB et al., 2017, FEITOSA et al., 2018; SHARAPOV et al., 2021).

Intensificando o quadro, o estresse oxidativo e inflamação são processos interdependentes e correlacionados. A partir da micróglia ativada ocorre superprodução de EROs/ERNS, que por sua vez, induzem a expressão de genes pró-inflamatórios pela via do fator nuclear NF- κ B, logo, amplificando as cascatas de sinalização intracelular. Entretanto, a alta geração de citocinas pró-inflamatórias também está relacionada com a redução de antioxidante enzimáticos e não enzimáticos (BHATT et al., 2020; SHARAPOV et al., 2021). Além disso, as EROS circundantes causam hipoatividade dos receptores NMDA, alterações de interneurônios gabaérgicos e degradação de neurônios dopaminérgicos e serotoninérgicos (BAKUNINA et al, 2015). De maneira semelhante às citocinas, também estimulam a degradação do triptofano, pela via das quinureninas e pelaIDO (BAKUNINA et al, 2015). Por fim, o eixo HPA é regulado positivamente, levando a maior produção de EROs (BHATT et al., 2020).

Vários mecanismos estão envolvidos para produção de EROs/ERNS no SNC, principalmente a micróglia, que sustenta esse ambiente inflamatório e oxidante, contribuindo para alterações comportamentais (PICCA et al., 2020; BHAT et al., 2020). Com base nisso, estudos comportamentais em modelos animais frequentemente utilizam administração aguda de indutores neuroinflamatórios, como LPS, que ativam essas células da glia, aumentando a superprodução de EROs/ERNS e citocinas pró-inflamatórias (MILLER et al., 2009).

2.3. Lipopolissacarídeo

O LPS é uma endotoxina predominante no folheto externo da parede celular de bactérias Gram-negativas, capaz de desenvolver inflamação pronunciada no hospedeiro. É um glicolípido macromolecular constituído por um lipídeo A, polissacarídeos centrais e repetições de antígeno O (Figura 3) (WANG e QUINN, 2010). Nessa estrutura, o lipídeo A representa o constituinte hidrofóbico do folheto externo da membrana bacteriana, sendo constituída por ácidos graxos e uma estrutura principal de unidades dissacarídicas de glicosamina fosforilada com cadeias Acil conectadas, onde quatro grupos Acil estão ligados às posições 2, 3, 2' e 3' da estrutura principal e os outros dois grupos às cadeias lipídicas. O lipídeo A é o

constituente mais imunogênico da molécula e está relacionado aos efeitos tóxicos de infecções bacterianas. (WANG e QUINN, 2010; PARK e LEE, 2013).

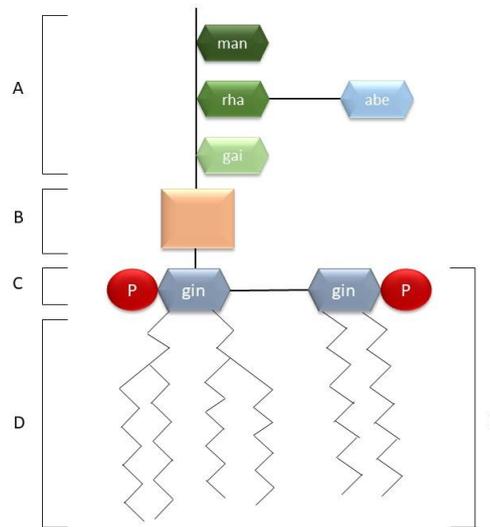


Figura 3. Estrutura esquemática do LPS. A: antígeno O; B: core do polissacarídeo; C: glicosamina fosforilada; D: ácidos graxos; E: lipídeo A.
Fonte: Pereira (2020)

Na superfície da membrana externa, os polissacarídeos centrais e as repetições de antígeno O se encontram mais superficialmente na membrana externa (WANG e QUINN, 2010). Esses polissacarídeos centrais são relativamente conservados nas bactérias, possuindo resíduos de carboidratos heptose e KDO, que não estão presentes em humanos. Já o antígeno O, é constituído por várias repetições de cópias de carboidratos, onde cada espécie bacteriana possui sua própria repetição (PARK e LEE, 2013).

A molécula de LPS é um PAMP potente, sendo reconhecida pela ligação ao receptor TLR4 dos organismos hospedeiros (Figura 4) (WANG e QUINN, 2010). No SNC, o LPS é reconhecido principalmente pelo complexo receptor CD14/TLR4 expresso na micróglia e nos astrócitos (BADSHAH et al., 2016). Para a apresentação, o LPS é capturado pela proteína de ligação ao lipopolissacarídeos (LBP) e transferido para o cluster de diferenciação-14 (CD-14), que apresenta o LPS ao TLR4. Posteriormente, a ligação ao receptor TLR4 é realizada pela fenda hidrofóbica na proteína correceptora MD-2 que está associada ao RRL do receptor, onde os grupos Acil do Lipídeo A do LPS são acoplados profundamente (PARK e LEE, 2013; SKRZYPCZAK-WIERCIOCH e SALAT, 2022).

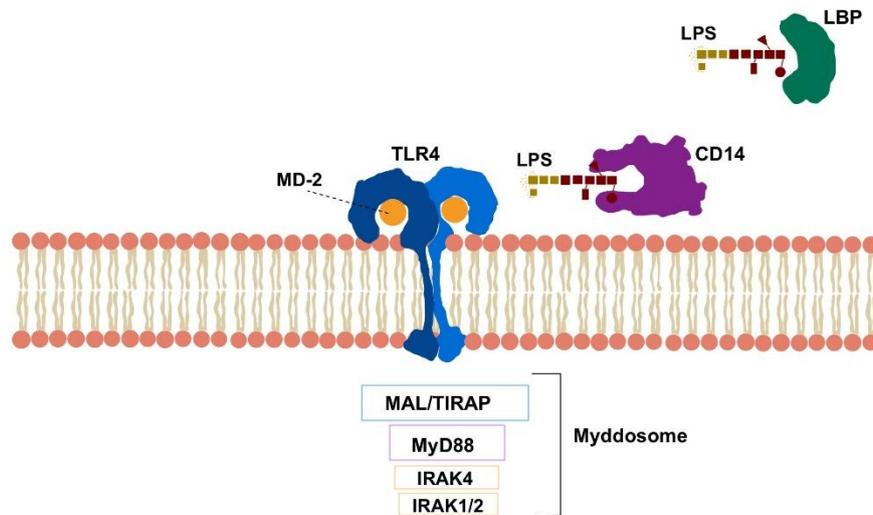


Figura 4. Ligação do LPS ao receptor Toll Like 4. Abreviações: BP- proteína de ligação ao lipopolissacarídeo; LPS- lipopolissacarídeo; CD14- cluster de diferenciação-14; TLR4- receptor Toll-like 4; MD-2- proteína acessória MD-2; MyD88- proteína de resposta primária de diferenciação mieloide; MAL- MyD88—proteína semelhante a um adotante; TRAM- molécula adaptadora relacionada a TRIF; TIRAP- proteína adaptadora contendo domínio TIR; IRAK- cinase associada ao receptor de interleucina-1.

Fonte: Adaptado de Krzypczak-Wiercioch e Salat (2022).

A formação do complexo LPS-TLR4-MD2 permite dimerização dos domínios TIR intracelulares, formando o "myddosome", ativando via dependente de MyD88 (Figura 4). Desse modo, as vias recrutam outras moléculas adaptadoras e de sinalização, para induzir fatores de transcrição de resposta inflamatória, como a produção de citocinas e quimiocinas, incluindo IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , prostaglandina E₂ (PGE₂), EROS, NO e interferons tipo I (PARK e LEE, 2013; SKRZYPCZAK-WIERCIOCH e SALAT, 2022). Além disso, o LPS também induz a produção do inflamassoma, ativado em infecções microbianas, o qual é um complexo composto pela NLRP3, ativadora de caspase 1, produzindo a maturação e secreção das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e IL-18 que podem se estender por todo organismo (JEON et al., 2017).

Dessa forma, a administração do LPS altera a BHE através da modificação da junção estreita pelo aumento de prostanóides e NO, também ocorre dano ao endotélio e degradação do glicocálice pelo aumento de TNF- α , ROS, MMPs e trombina (VARATHARAJ e GALEA, 2017). Essa alteração da BHE permite influxo sinais inflamatórios periféricos para SNC, acelerando a neuroinflamação. Nesse sentido,

tanto a injeção periférica quanto a central de LPS ativam a micróglia, induzindo respostas inflamatórias para ocasionar comportamentos depressivos, que são atingidos 24 horas após a injeção, sendo frequentemente utilizado como agente neuroflogístico para modelo de avaliação de neuroinflamação e comportamentos associados a transtornos mentais e psiquiátricos (ALZAREA et al., 2022; YIN et al., 2023). Os comportamentos frequentemente vistos são prejuízos cognitivos e de aprendizado, anedonia, lentidão psicomotora e prejuízo na interação social, reproduzindo sintomas do tipo depressivo em ratos (HURLEY e TIZABI, 2013; BENSON et al., 2017; LI et al., 2021; ALZAREA et al., 2022).

O comportamento do tipo depressivo está associado à redução de BDNF, ativação de células da glia, aumenta a produção de EROs/ERNs e de TNF- α , IL-1 β e IL-6 em estruturas límbicas relacionadas ao humor como hipocampo, córtex pré-frontal e amígdala (KIECOLT-GLASER et al., 2015; LI et al., 2021; YAN et al., 2023). Também, há evidências de que o LPS pode induzir a ativação da enzimaIDO e via da quinurenina, gerando a catabolização de triptofano, convertendo-o no subproduto neurotóxico ácido quinolínico, agonista do receptor NMDA; além de aumentar a expressão de citocinas pró-inflamatórias e alterar concentrações de serotonina em regiões cerebrais, como hipocampo (JEON et al., 2017; RODRIGUES et al., 2018; GARCEZ et al., 2020). Todos esses achados reforçam que o LPS é um forte indutor de comportamentos semelhantes a depressão, podendo ser utilizado como um indutor desse transtorno em modelos animais.

2.4. Depressão

A depressão é uma doença global com alta incidência e taxa de suicídio (YIN et al., 2023). Segundo a Organização Mundial de Saúde (2023), cerca 280 milhões de pessoas no mundo sofrem de depressão, o qual cerca de 5% são adultos, sendo mais comum em mulheres. Globalmente, mais de 700 mil pessoas morrem por suicídio todos os anos, sendo a quarta causa principal de morte entre adolescentes e adultos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023). Sendo assim, é caracterizado como um problema de saúde pública, pois é a causadora do aumento da mortalidade e morbidade, disfunção laboral e gastos públicos em saúde (BRITES e FERNANDES, 2015; YIN et al., 2023).

De maneira clínica, a depressão ou transtorno depressivo maior (TDM) é um transtorno neuropsiquiátrico multifatorial, que envolve fatores genéticos e ambientais

(BRITES e FERNANDES, 2015). Suas características clínicas frequentes são falta de interesse, baixa autoestima, culpa constante, pensamentos suicidas, mudança significativa de humor, dificuldades de concentração, falta de memória, irritabilidade, anedonia, distúrbios no sono e na alimentação e outras alterações emocionais (LEONARD e MAES, 2012; LIA et al., 2020).

Nesse sentido, a regulação de comportamentos emocionais está principalmente relacionada ao circuito límbico-cortical-estriado-palidal-talâmico (LCSPT), responsáveis pela estabilidade emocional, modulação da neurotransmissão e neuroendócrina (PLAZIDOU, 2012; HAMON e BLIER, 2013). Esse circuito consiste na conectividade de estruturas como córtex pré-frontal (CPF) medial e orbital, amígdala, giro cingulado, hipocampo, hipotálamo, estriado ventromedial, núcleo talâmico ventral e globo pálido (DREVETS et al., 2008; HAMON e BLIER, 2013). Alterações nessas conectividades, especialmente na conexão CPF e estruturas límbicas, como amígdala e hipocampo, estão relacionadas a transtornos comportamentais (PRICE e DREVETS, 2010; PLAZIDOU, 2012; HAMON e BLIER, 2013). De tal maneira, estudos demonstram que pacientes depressivos apresentam hipometabolismo e disfunção no CPF e aumento da ativação e desinibição em regiões límbicas, em especial na amígdala (PLAZIDOU, 2012; HAMON e BLIER, 2013).

Nestes circuitos neurais, os principais responsáveis pelas comunicações são os neurotransmissores, especialmente as monoaminas dopamina, noradrenalina e serotonina, cada uma desempenhando funções específicas dentro da circuitaria do SNC. A dopamina é associada ao desejo e recompensa, sendo sintetizada em neurônios dentro da substância negra e área tegmentar ventral projetando-se até o caudado-putâmen, núcleo accumbens e CPF. Enquanto a noradrenalina é produzida pelo *locus coeruleus*, se estendendo para o tegmento lateral do tronco cerebral, hipocampo, amígdala, córtex entorrinal, tálamo e neocórtex, sendo relacionado a formação e fortalecimento de memórias (KHROUD et al, 2022). A síntese de serotonina acontece no núcleo de rafe para caudado-putâmen, globo pálido, amígdala, prosencéfalo límbico e neocórtex, auxiliando no comportamento e humor (DE SOUZA et al., 2021; HAMON e BLIER, 2013).

Atualmente, a 'hipótese da depressão das monoaminas' é a mais aceita e se baseia na deficiência de monoaminas, como causa da depressão (PALAZIDOU, 2012). Diante disso, as bases fisiopatológicas da depressão estão relacionadas a diminuição de monoaminas, regulação de neurotrofinas, irresponsividade aos

receptores glicocorticoides, excesso de glutamato e aumento dos níveis de glicocorticoides, sendo todos estes desbalanceados pelas vias inflamatórias e oxidativas (BRITES e FERNANDES, 2015; RODRIGUES et al., 2018). A neuroinflamação tem sido fortemente associada a sintomas do tipo depressivo, onde é relatado maior número e ativação da micróglia e aumento de citocinas, incluindo TNF- α , IL-1 β e IL-6, que já foram encontrados em níveis altos no líquido cefalorraquidiano e níveis séricos de pacientes com TDM e de pacientes com TDM que cometeram suicídio (LIA et al., 2020; HARSANY et al., 2023).

Diversos estudos apontam que as citocinas IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-17A, TNF- α , IFN e TGF- β 1, estão constantemente associados aos transtornos de humor, distúrbios de sono, disfunção cognitiva e comportamento depressivo (MILLER et al., 2009; GRYGIEL-GÓRNIAC et al., 2019; BHATT et al., 2020; HARSANYI et al., 2023). Na amígdala, córtex pré-frontal medial, córtex cingulado dorsal, hipocampo e ínsula já foi demonstrado alterações inflamatórias em modelos de depressão animal e diminuição da conectividade das áreas cerebrais responsáveis pelo processamento emocional, como o córtex cingulado anterior sublingual e amígdala (GUO et al., 2023). Além disso, as citocinas contribuem para o dano às células gliais em regiões cerebrais relevantes para o humor, como o córtex pré-frontal e a amígdala (KIECOLT-GLASER et al., 2015).

Os mecanismos com que a neuroinflamação contribui para o desenvolvimento de comportamentos depressivos são através da desregulação do funcionamento do eixo HPA causada pelas citocinas pró-inflamatórias, através da irresponsividade dos receptores GC's aos seus agonistas. Em vista disto, a resistência desses receptores que estão fortemente expressos no hipocampo, produz atrofia dendrítica e deflagração da expressão do BDNF nas regiões do hipocampo e corticais, bem como inibição do feedback negativo de secreção de cortisol. Além da persistência inflamatória causar resistência de receptores GC's, ainda induz a JNK e MAPK p38, ativando fatores de transcrição como NF-kB e exacerbando a inflamação (KIECOLT-GLASER et al., 2015; JESULOLA et al., 2018).

Ademais, as citocinas e as EROs aumentam a expressão e ativação da enzimaIDO, degradando o triptofano, produzindo metabólitos citotóxicos e diminuindo serotonina (RODRIGUES et al., 2018). Vale-se destacar, que as EROS também são produzidas como subprodutos da atividade da monoamina oxidase, responsável pela degradação dos neurotransmissores monoaminérgico (BAKUNINA et al., 2015). Além

disso, há altos níveis de biomarcadores de estresse oxidativo no SNC de paciente depressivos, como MDA e 8-hidroxideoxiguanosin, juntamente com atividade enzimática antioxidante significativamente reduzida (BAKUNINA et al., 2015; BHATT et al., 2020).

Nesse sentido, em virtude dos mecanismos patológicos descritos, a procura por terapias que cessem ou amenizem os prejuízos no SNC têm sido uma das principais buscas entre o meio científico. Além disso, os efeitos adversos causados pelo uso de antidepressivos prejudicam a adesão ao tratamento, acarretando na busca por plantas medicinais como alternativa de tratamento pelos pacientes. Dessa forma, algumas plantas constituídas de saponinas, polifenóis, alcaloides, monoterpenos, triterpenóides, ácidos graxos e flavonoides demonstraram eficácia semelhante a antidepressivos em modelos in vivo ou in vitro (MARTINS e S, 2018; FAJEMIROYE et al., 2016). Diante disto, é comprovando que plantas medicinais podem ser uma alternativa terapêutica para condições do SNC (FAJEMIROYE et al., 2016).

2.5. Plantas medicinais

As plantas medicinais são parte essencial do conhecimento tradicional de uma cultura ou de um grupo étnico (HEINRICH et al., 1998; CABALLERO-SERRANO et al., 2019). Sendo a medicina tradicional uma prática secular de cuidados em saúde, a qual é transmitida oralmente pelas gerações e pelas comunidades, seus usos e estudos acompanham a evolução da civilização até os dias atuais (BALUNAS e KINGHORN, 2005; KARUNAMOORTHY et al., 2013). As primeiras moléculas farmacológicas isoladas são originadas de espécies vegetais, como a morfina advinda do ópio extraído da *Papoula somniferum* e a salicilina retirada das cascas da *Salix alba* no século XIX, a busca de moléculas bioativas a base de espécies vegetais se mantém como foco de pesquisa até hoje para o desenvolvimento de novos fármacos (BALUNAS e KINGHORN, 2005).

De fato, a maior parte dos medicamentos atuais possuem origem vegetal, uma vez que cerca de 60% dos que estão disponíveis atualmente advém de compostos naturais; bem como, o uso de substâncias naturais chega a cerca de 50% dos tratamentos clínicos, demonstrando a forte influência e segurança nos compostos originados de plantas medicinais (GAO et al., 2023). Tal uso e eficácia se deve à fonte única e renovável de constituintes que as espécies vegetais oferecem, possibilitando

descobertas de novas moléculas ativas, sendo até mesmo o início para modificação química de um novo medicamento (SEN et al., 2014). Esses constituintes químicos nada mais são do que metabólitos secundários gerados pelas vias metabólicas das plantas, possuindo atividades biológicas e alto valor de utilização na indústria farmacêutica, alimentícia, de perfumaria e agroquímica (LI et al., 2020)

Além do desenvolvimento de fármacos sintéticos, atualmente as plantas medicinais são utilizadas na medicina alternativa e complementar para o tratamento de doenças, denominada de fitoterapia. Diante disso, a fitoterapia é baseada no conhecimento popular e na pesquisa científica, contribuindo para o tratamento de doenças com racionalidade e segurança, desenvolvimento econômico e sustentável, além de possuir baixo custo promovendo o acesso a população em vulnerabilidade econômica (BRUNING et al., 2012; LEITE e CASTILHO., 2021).

Apesar da fitoterapia ser uma atividade milenar, ela foi desqualificada em detrimento do avanço dos medicamentos sintéticos, sendo utilizadas apenas em isolados de plantas (FIGUEIREDO et al., 2014). Apenas em 1987, a Organização Mundial da Saúde a reconheceu como recurso terapêutico pelo baixo custo e acesso pelos países em desenvolvimento, incentivando-os a incorporarem em seus sistemas de saúde (BRUNING et al., 2012; LEITE e CASTILHO., 2021). A partir desse reconhecimento, no Brasil, o Sistema Único de Saúde (SUS) implantou a prática sustentável e racional da fitoterapia, visando alcançar o acesso da população geral de maneira segura e ampliando as possibilidades de tratamento (FIGUEIREDO et al., 2014; LEITE e CASTILHO, 2021).

Para isso, foi legitimada a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, pelo decreto nº. 5.813, de 22 de junho de 2006, para garantir o acesso de todos a fitoterápicos e plantas medicinais (BRASIL, 2006; BADKE et al., 2012; FIGUEIREDO et al., 2014). No mesmo ano, foi regulamentado a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS (PNPIC) por meio da portaria do Ministério da Saúde GM/MS nº 971, a fim de implantar a fitoterapia, homeopatia, acupuntura, crenoterapia e medicina antroposófica nos serviços de saúde públicos (BRASIL, 2006; FIGUEIREDO et al., 2014).

A implementação dessas políticas representa comprovação e relevância científica da eficácia e segurança de plantas medicinais no Brasil, propondo alternativas e não limitando o tratamento de doenças ao uso de medicamentos sintéticos, que reproduzem reações adversas significativas, de altos custos e pouco

acessíveis (BRUNING et al., 2012; FIGUEIREDO et al., 2014). Além disso, a fitoterapia promove a valorização do conhecimento tradicional miscigenado de origem africana, indígena e europeia sobre terapêuticas que o Brasil possui (LEITE e CASTILHO, 2021). Considerando que atualmente cerca de 82% da população brasileira utiliza produtos à base de plantas medicinais, é importante estudar espécies vegetais disponíveis e seus constituintes químicos possibilitando novas alternativas de tratamento mais eficazes e seguranças (LEITE e CASTILHO, 2021).

2.7. Família *Lauraceae*

A Família de árvores e arbustos *Lauraceae* é constituída por 52 gêneros e com aproximadamente 3.500 espécies, que apresentam ocorrência em regiões tropicais e subtropicais (ROHWER et al., 1993; SOUZA-JÚNIOR et al., 2020). São árvores de médio a grande porte, com altura até 8 metros, diâmetro entre 1 a 5 centímetros, algumas são semelhantes a arbustos e pequenas árvores (RIBEIRO et al., 1999). Foram identificados cerca de 24 gêneros e 411 espécies no Brasil (QUINET et al., 2015). As espécies da família *Lauraceae* são frequentemente utilizadas pela madeira, canela, polpa de frutas, gordura de sementes e aroma de seus óleos essenciais, utilizados na construção civil e indústria alimentícia, farmacêutica e de perfumaria (GOTTLIEB, 1972; BARBOSA et al., 2012). Gêneros como *Aniba*, *Nectandra*, *Ocotea*, *Licaria* e *Dicypellium* são produtoras de óleos essenciais e resinas de compostos voláteis e algumas espécies possuem atividades biológicas já relatadas (SOUZA-JÚNIOR et al., 2020).

Nesse contexto, o gênero *Nectandra* sp. está associado a propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e antimicrobianas devido ser constituído de alcaloides, lignoides, flavonoides, cumarinas, xantonas, esteroides, terpenos, entre outros (GRECCO et al., 2016). Como também, o OE do gênero *Ocotea* sp. é composto de enilpropanóides, monoterpenóides e sesquiterpenóides, com atividade analgésica, anti-inflamatória, citotóxica, antimicrobiana e ação depressora do SNC (DA SILVA et al., 2017; PASSOS et al., 2022). De maneira semelhante, o gênero *Licaria* sp. é rico em cariofileno, monoterpenóides, fenilpropanóides e sesquiterpenóides, desempenhando atividade antioxidante e antiplaquetária (ALCÂNTARA et al., 2010; XAVIER et al., 2021). Seguindo a linha dos gêneros anteriores, os OE's do gênero *Dicypellium* sp. são constituídos, em sua maioria, principalmente por eugenol e

metileugenol, fenilpropanóides e sesquiterpenos (ALCÂNTARA et al., 2013; ZOGHBI et al., 2013).

Além destes, as 48 espécies do gênero *Aniba* sp. são destaque na alta produção de OE aromáticos extraídos em todas as suas partes constituintes e estão 50% concentradas na Amazônia Brasileira (XAVIER et al., 2021). Os metabólitos secundários encontrados no gênero *Aniba* sp. são benzofenonas, pirenos, alilfenóis, neolignananas, alilbenzenos, terpenos e flavonoides que oferecem importantes propriedades biológicas (MORAIS et al, 1972; SILVA et al, 2016). Desse modo, têm-se o OE de pau-rosa (*Aniba duckei* Kosterm e *A. rosaeodora* Ducke) que é rico (85-90%) em linalol, utilizado como fragrâncias em perfumarias, cosméticos e na indústria alimentícia, possuindo propriedade antimicrobiana, antioxidante e citotóxica em células cancerígenas, além de atividade antidepressiva (MAIA et al., 2009; SOEUR et al., 2011; DA SILVA et al., 2016; SANTOS, 2017; TELES et al., 2020; XAVIER et al., 2021).

Outra espécie do gênero *Aniba* sp. rica em linalol é a *Aniba parviflora*, demonstrando atividade antioxidante e antimicrobiana (DA SILVA et al., 2016). O OE de *Aniba hostmanniana* é constituído de benzoato de benzila, monoterpenos e metileugenol e apresenta atividade antimicrobiana (DE LIMA et al., 2015; DA SILVA et al., 2016). Semelhantemente, a *Aniba canelilla* é uma espécie de odor característico, sendo muito utilizada economicamente, contando ainda com ações terapêuticas promissoras (SOUZA-JÚNIOR et al., 2020).

2.7.1. ANIBA CANELILLA

A *Aniba canelilla* (Kunth) Mez (*Aniba elliptica*, *Cryptocarya canelilla* Kunth) (Figura 5), da família *Lauraceae*, é uma árvore aromática de odor característico semelhante a canela, sendo conhecida popularmente de ‘casca-preciosa’ ou ‘falsa-canela’ (PINTO et al., 1995; CARDOSO et al., 2022). Devido ao cheiro característico, a planta foi confundida com *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela), durante a expedição dos europeus à floresta amazônica no século XVI e XIX (GOTTLIEB, 1972; DE SIQUEIRA et al., 2010). Sua árvore atinge até 35 metros de altura, possuindo tronco de 40 a 60 cm de diâmetro, seus ramos são lisos e lenticelados apresentando folhas de 8 a 16 cm, ainda possui pequenas flores e frutos capsulares alongados (DE SIQUEIRA et al., 2010). Estende-se pela Amazônia brasileira até a Amazônia

peruana, transpassando pelo leste da Guiana Francesa, Suriname, Venezuela e Colômbia (SOUZA-JÚNIOR et al., 2020).



Figura 5. *Aniba canelilla* (Kunth) Mez.

Fonte: (A) *Plants of the World Online*, 2024; (B) *Flora e Funga do Brasil*, 2024.

Diante disso, a *A. canelilla* é uma espécie cultural muito utilizada, com propriedades econômicas e medicinais marcantes. Os caules finos, a madeira do tronco e as folhas são utilizados como temperos e ingredientes para alimentos, as fragrâncias são aproveitadas como aromatizantes de cosméticos e perfumaria (DE SIQUEIRA et al., 2010). Dentre o uso popular, a decocção da casca é utilizada para inflamações, dores estomacais, úlceras, tranquilizante, estimulante e antidepressivo (DE ALMEIDA et al., 2013; SOUZA-JÚNIOR et al., 2020). Outros usos medicinais frequentes são como antiespasmódico, antibiótico, antidiarreico e antianêmico (SOUZA-JÚNIOR et al., 2020). Há relatos que o OE possui atividades semelhantes e ainda é usado para o tratamento de inflamações dérmicas e infecções (BARBOSA et al., 2017).

Quadro 1. Outros constituintes da Aniba canelilla e suas atividades biológicas principais.

Constituinte	Atividade	Referências
α -pineno	Antimicrobiana	SILVA, et al., 2012
	Anti-inflamatória	KIM et al., 2015; KARTHIKEYAN et al., 2018
	Antioxidante	KARTHIKEYAN et al., 2018
	Neuroprotetora	LEE et al., 2017; GOUDARZI et al., 2017; ZAMYAD et al., 2019; KHOSHNAZAR et al., 2020
Linalol	Anti-inflamatória	HUO, et al., 2013; PEANA et al., 2002
	Analgésica	PEANA, et al., 2006; BATISTA, et al., 2008
	Anticonvulsivante	ELISABETSKY et al., 1999; SAMPAIO et al., 2012
	Ansiolítica	LINCK et al., 2010; SHAW, et al., 2007
	Antidepressiva	SANTOS, 2017
	Sedativa	LINCK et al., 2009
<i>E</i> -cariofileno	Antimicrobiana	SANTOS et al., 2013
	Antioxidante	NAFIS et al., 2019
	Analgésica	HERNANDEZ-LEON, et al., 2020
	Anti-inflamatória	
β -longipineno	Antimicrobiana	ZAŁUSKI e JANECKO, 2015
	Antioxidante	
Selin-11-En-4 α -ol	Anti-inflamatória	WEI et al., 2023
	Antimicrobiana	KALEMBA et al., 2002
Óxido de cariofileno	Antineoplásica	DELGADO et al., 2021; PARK et al., 2011
	Analgésica	CHAVAN et al., 2010; MOGHROVYAN et al., 2022
	Anti-inflamatória	CHAVAN et al., 2010; SAIN et al., 2014
	Sedativa	DOUGNON e ITO, 2021

O óleo essencial de *A. canelilla* é comercialmente extraído da madeira do tronco possuindo um alto rendimento. Entretanto, o rendimento e a composição do óleo podem diferenciar a depender da sazonalidade, condições geográficas e parte da planta (MANHÃES et al., 2012; CARDOSO et al., 2022). Todavia, o OE extraído das folhas não apresenta rendimento dependente da sazonalidade (TAVEIRA et al.,

2003; CRUZ et al., 2023). O óleo é marrom amarelado, podendo ser extraído da madeira do tronco, galhos, folhas, caules finos e cascas, independente da parte vegetal da qual o óleo é extraído, ele é constituído por dois fitoconstituintes principais: 1-nitro-2-feniletano (constituente majoritário) e metileugenol (1-alil-3,4-dimetoxibenzeno), além de outros constituintes descritos no quadro 1 (SOUZA-JÚNIOR et al., 2020; CRUZ et al., 2023).

O 1N2F é o constituinte majoritário da espécie, podendo representar até 95% da constituição do óleo. Ele é responsável pelo odor de canela e propriedades medicinais. Por outro lado, o metileugenol representa 4-5% do óleo em período chuvoso, possuindo aroma de cravo e sabor amargo, e apresenta atividade citotóxica, utilizado na indústria, perfumaria e higiene (DE SIQUEIRA et al., 2010; MANHÃES et al., 2012; SOUZA-JÚNIOR et al., 2020). Considerando que o metileugenol é um constituinte que causa citotoxicidade, busca-se fontes confiáveis de 1N2F e em estudos desenvolvidos por Cruz e colaboradores (2023), não identificaram o metileugenol durante sua avaliação de composição em diferentes períodos de sazonalidade, descrevendo a espécie é constituída de principalmente 1N2F.

Das propriedades biológicas já estudadas sobre a espécie, identificou-se a baixa toxicidade (Xenobióticos de classe 4) do óleo essencial (LD50 = 720 mg/kg, oral) e do 1N2F (LD50 = 712 mg/kg, oral, e 490 mg / kg, ip.) em modelos animais (SOUSA et al., 2009; DE LIMA et al., 2009; OYEMITAN et al., 2013). Ademais, outros relataram a presença de atividade antinociceptiva, anti-inflamatória, anti-hipertensiva, vasorelaxante, anticolinesterásica, ansiolítica, antimicrobiana, antioxidante e anestésica (LAHLOU et al., 2005; DA SILVA et al., 2007; DE SIQUEIRA et al., 2010; INTERAMINENSE et al., 2011; MESQUITA et al., 2012; SILVA et al., 2012; VALE et al., 2013; MALDANER et al., 2022; CARDOSO et al., 2022).

Nosso grupo de estudo anteriormente identificou que o óleo essencial de *A. canelilla*, constituído de 77,5% de 1N2F, demonstra atividade antioxidante, ao captar radicais livres, e efeito anti-inflamatório ao inibir a permeabilidade vascular e a migração leucocitária em modelo murino (CARDOSO et al., 2022). Acredita-se que muitas atividades estão relacionadas ao 1N2F, como exemplo, o estudo desenvolvido por De Campos e colaboradores (2023), o qual evidenciou que o óleo essencial e o 1N2F revertem os danos cognitivos causados pela escopolamina, atuando no aprendizado e memória de animais. Há estudos que demonstram que a atividade no SNC está relacionada ao 1N2F, visto que evidenciaram as atividades ansiolítica,

hipnóticos e anticonvulsivantes do fitocomposto (OYEMITAN et al., 2013). Entretanto, não há relatos na literatura sobre ação anti-inflamatória e antioxidante do óleo essencial de *Aniba canelilla*, rico em 1N2F, no SNC.

2.7.2. 1-NITRO-2-FENILETANO

O 1N2F ($C_8H_9NO_2$) é um fenilpropanóide, constituinte majoritário (90%) do OE de *A. canelilla*. O constituinte nitro é formado pela biotransformação da fenilalanina por enzimas da superfamília CYP (citocromo P450) (SOUZA-JÚNIOR et al., 2020; TRINDADE et al., 2021; MINETO et al., 2024). Há estudos que as concentrações de 1N2F variam com as mudanças climáticas, na qual em períodos secos sua concentração chega a 39% e em períodos chuvosos a 95% (TAVEIRA, 2003). Além disso, é o princípio ativo raro em espécies naturais, sendo encontrado em *Ocotea pretiosa* (Nees & Mart.) Mez (*Lauraceae*) e *Dennettia tripetala* G. Baker (*Annonaceae*) (SOUZA-JÚNIOR et al., 2020; TRINDADE et al., 2021; MINETO et al., 2024).

Em vista disso, o 1-nitro-2-feniletano é o responsável pelas propriedades farmacológicas da *A. canelilla*. Estudos já descreveram atividade citoprotetora, anti-inflamatória, antinociceptiva, antioxidante, vasodilatadora, bradicárdica, anti-hipertensiva, hipotensora pulmonar e antiparasitária. (DA SILVA et al., 2007; DE LIMA et al., 2009; INTERAMINENSE et al., 2011; INTERAMINENSE et al., 2013; BRITO et al., 2013; COSKER et al., 2014; GIONGO et al., 2017; GONZAGA-COSTA, et al., 2021; CARDOSO et al., 2022). Sendo uma molécula que possui um grupo fenil hidrofóbico, o 1N2F é lipofílico, dessa maneira, consegue atravessar facilmente membranas e, especialmente, a BHE (CRUZ et al., 2023).

Diante da lipofilicidade apresentada, estudos ainda demonstraram que o 1N2F inibe a enzima acetilcolinesterase, sendo posteriormente evidenciado que a molécula consegue reverter os danos cognitivos causados pela escopolamina (SILVA et al., 2014; CAMPOS et al., 2023). O 1N2F também exibiu atividade hipnótica, anticonvulsivante e ansiolíticas (OYEMITAN et al., 2013). Porém, nenhum estudo até o momento identificou a atividade do 1N2F sobre o processo neuroinflamatório com repercussões no comportamento do tipo depressivo.



OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

Avaliar o efeito antineuroinflamatório e atividade do tipo antidepressiva do óleo essencial de *Aniba canelilla* (Kunth) Mez (Lauraceae) (OEAc) e seu constituinte majoritário, 1N2F, em modelo experimental de neuroinflamação induzida por lipopolissacarídeo (LPS).

3.1. Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos comportamentais do tratamento sobre exploração, anedonia, o autocuidado, comportamento motivacional e autopreservação dos animais submetidos a neuroinflamação por LPS;
- Determinar os efeitos do tratamento com OEAc e 1N2F sobre o balanço oxidativo no estriado, córtex pré-frontal, hipocampo e amígdala;
- Investigar seus efeitos sobre a produção de mediadores inflamatórios no estriado, córtex pré-frontal e hipocampo.



MATERIAIS E MÉTODOS

4. MATERAIS E MÉTODOS

4.1. Aquisição do material botânico

O óleo essencial e seu composto majoritário foi cedido pelo Laboratório de Química da Universidade do Estado do Pará, coordenado pelo professor Pablo Luis Baia Figueiredo. A espécie foi coletada no município de Belém/PA, Pará, Brasil (coordenadas: 1°27'20,3" S; 48°26'18,1" W) e identificado no Herbário do Museu Paraense Emílio Goeldi. A coleta da espécime ocorreu de acordo com as leis brasileiras relativas à proteção da biodiversidade (SISGEN A704928).

As folhas foram secas através de secagem em estufa com ventilação por 48h, sendo posteriormente triturado e moído. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação em processo contínuo, com duração de 3h, utilizando aparelho de Clevenger modificado acoplado a um sistema de refrigeração com temperatura de 15°C. Posteriormente, o óleo essencial foi centrifugado e seco com Na₂SO₄ anidro e refrigerado a 5-10°C. A umidade do materia foi determinada por um medidor por infravermelho.

4.2. Análise da composição química do OEAC

Foi realizada análise quantitativa da composição química do óleo por cromatografia em fase gasosa, com detector de ionização de chamas (CG-DIC) equipado com coluna capilar DB-5 (30m x 0,25 mm x 0,25µm), utilizando o nitrogênio como gás de arraste (fluxo de 1,2 mL/min), injeção splitless (split flow 20:1). A temperatura do injetor e do detector foi fixada em 250 °C e o aquecimento da coluna de 60 a 240 °C (variação de 3°C/min). A análise qualitativa foi realizada nas mesmas condições, usando cromatografia em fase gasosa com espectrometria de massas (CG-EM). Gás de arraste: Hélio, fonte de íons: 70 eV (impacto eletrônico), temperatura da fonte de íons e da linha de transferência de 200 °C.

4.3. Animais de experimentação

O projeto foi submetido Comitê de da Universidade Federal do Pará a comissão de ética em pesquisa com animais de experimentação (CEPAE/UFGA), sobre o número de registro 5320260521, e seguiu os princípios de Cuidados com Animais, com base na Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008, conhecida como Lei Arouca. Os experimentos ocorreram somente com aprovação do comitê e desenvolvidos no Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Comportamento (LAFICO) da

Faculdade de Farmácia na UFPA.

Foram utilizados ratos da espécie *Rattus norvegicus* e linhagem *Wistar*, machos (n = 40), com 40 dias e peso médio de 150 gramas, provenientes do Biotério do Instituto Evando Chagas (IEC). Esses animais foram encaminhados para o Biotério da Faculdade de Farmácia, onde foram mantidos em gaiolas plásticas (39x32x16 cm) em grupos de 3 animais/gaiola, com condições padronizadas de temperatura (25 °C), exatidão e ciclo claro/escuro (12 horas; claro de 6-18 horas). Água e comida foram disponibilizadas *ad libitum*.

4.4. Drogas

No modelo experimental foi utilizado o LPS, uma endotoxina bacteriana (0,5 mg/kg) (*Escherichia coli* O111:B4, Sigma Aldrich, St Lois, USA), como agente flogístico neuroinflamatório. Para o padrão positivo, foi administrado a Fluoxetina (FLX; 10mg/kg; i.p; Daforin®; EMS Sigma Pharma LTDA), pela sua capacidade de inibir significativamente a ativação de micróglia induzida por LPS, conseqüentemente a liberação de mediadores pró-inflamatórios (Zhang et al., 2012). O branco e controle foi tratado com solução salina (0,9%).

O OEAc de 77,5% de 1N2F e OEAc de 80% de 1N2F (considerado o grupo 1N2F) foram administrados na dose de 2 e 1,65mg/kg, respectivamente, sendo solubilizados em solução salina e Tween 80, de acordo com suas propriedades. Estas doses foram adotadas em estudos prévio desenvolvidos e artigos publicados pelo grupo, os quais evidenciaram os efeitos anti-inflamatórios e atuação sobre o SNC (Cardoso et al., 2022; De Campos et al., 2023). Para o padrão e a anestesia (Cetamina+Xilazina) foi adotada a via intraperitoneal (i.p.), sendo a cetamina, um antagonista não competitivo dos receptores NMDA, e a xilazina, anestésico agonista alfa-2 adrenérgico. Foi adotada a via intraperitoneal (ip.) como via administração padrão para as drogas, obedecendo um volume máximo de 0,1 mL/100g de massa corporal por animal.

4.5. Modelo de Neuroinflamação induzida pelo LPS

O design experimental foi adaptado, baseado nos protocolos de Li et al. (2023), Adzic et al. (2015), Corona et al. (2020) e Melo et al. (2013). Nesse sentido, os animais foram previamente tratados com solução salina 0,9% (grupos Branco e LPS), OEAc (2mg/kg), 1N2F (1,65mg/kg) ou Fluoxetina (Padrão; 10 mg/kg) por 7 dias, em

intervalos de 24h. A neuroinflamação foi induzida 1 hora após a última administração, através da injeção ip. de LPS (0,5 mg/kg). Para isso os animais foram divididos em cinco grupos conforme a tabela 1.

Tabela 1. Grupos experimentais.

GRUPO	TRATAMENTO	AGRESSAO	N
G1- BRANCO	SALINA 0,9%	SALINA 0,9%	8
G2- LPS	SALINA 0,9%	LPS 0,5 mg/kg	8
G3- PADRÃO	FLUOXETINA 10mg/kg	LPS 0,5 mg/kg	8
G4- T1	OEAc 2 mg/kg	LPS 0,5 mg/kg	8
G5- T2	1N2F 1,65 mg/kg	LPS 0,5 mg/kg	8
N Total			40



Figura 6. Desenho experimental. Abreviaturas: LPS- Lipopolissacarídeo; OEAc- Óleo essencial de *Aniba Canelila*; 1N2F- 1-Nitro-2-feniletano.
Fonte: Autor, 2024

Dessa forma, a injeção de LPS produz uma resposta inflamatória sistêmica e no SNC, induzindo comportamentos do tipo depressivo nos animais. Sendo assim, após 24 horas da administração do LPS, os animais foram submetidos às avaliações comportamentais (campo aberto, *splash test* e teste do nado forçado), usadas para evidenciar essas alterações comportamentais e desordens neurológicas, provocadas pela relação recíproca entre o SNC e o sistema imunológico (ZHU et al., 2015; MELLO et al., 2013).

4.6. Avaliação comportamental

4.6.1. TESTE DO CAMPO ABERTO (*OPEN FIELD*)

Para avaliar possíveis efeitos na locomoção provocados pelo modelo de neuroinflamação induzido por LPS e pelo pré-tratamento foi realizado o teste do Campo Aberto (PANDOLFO et al., 2007; FERNANDES et al., 2018). Neste teste foi utilizado uma arena em madeira cujo piso (100 x 100 cm) e paredes (40 cm de altura) pintados de cor preta e cobertos com Fórmica impermeável (Figura 7). Os parâmetros locomotores avaliados foram: distância total percorrida, velocidade média, distância percorrida no centro e tempo no centro. Os parâmetros foram analisados pelo software Anymaze TM versão 4.99 (Stoelting Co., USA), (BRENES et al., 2009; FERNANDES et al., 2018).

O teste de locomoção ocorre com a colocação dos animais individualmente no centro do campo aberto sendo permitido o livre deslocamento dentro do aparato por 5 minutos, seus movimentos ao longo da sessão foram registrados através de filmadora posicionada acima da arena.

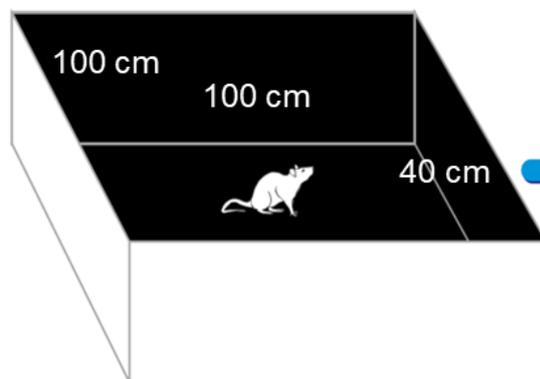


Figura 7. Representação esquemática do teste do Campo Aberto.

4.6.2. TESTE DE BORRIFAGEM DE SACAROSE (*SPLASH TEST*)

O teste avalia o comportamento anedônico, autocuidado e comportamento motivacional dos animais. Consiste em uma borrifada (pulverização) de solução de sacarose 10% (0,35 mL por rato) na região dorsal do animal (Figura 8). Após o esguicho, o animal foi colocado em uma câmara de observação (LxPxA – 60cm x 40 cm x 30 cm), sendo observados os movimentos de *grooming* (autolimpeza) realizados pelo animal durante cinco minutos (SURGET e BELZUNG., 2008; ISINGRINI et al., 2010; DUCOTTET et al., 2003). A redução do comportamento motivacional e do autocuidado, caracterizado pelo aumento da latência para o início e diminuição do

tempo gasto com o autocuidado, são considerados marcadores de comportamento do tipo depressivo (D'AUDIFFRET et al., 2010).



Figura 8. Representação esquemática do teste de Borrifagem de Sacarose.

4.6.3. TESTE DO NADO FORÇADO (*FORCED SWIMMING TEST*)

O teste descrito por Queiroz et al (2022) é fundamentado no comportamento de autopreservação dos ratos, que em situações de desespero, como o nado, tornam-se imóveis após intenso esforço físico, realizando apenas movimentos necessários para não afundar. Este tempo de imobilidade é, portanto, considerado como marcador de comportamento do tipo depressivo, sendo este teste considerado padrão ouro para avaliação de drogas antidepressivas, que caracterizam a redução este comportamento (CRYAN et al., 2002).

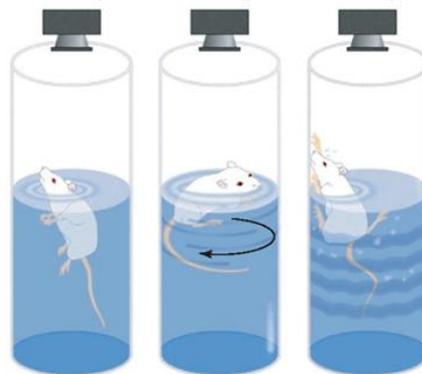


Figura 9. Representação esquemática do teste do Teste do Nado Forçado.

O teste consiste em colocar os animais individualmente em um cilindro acrílico (25 cm de altura e 10 cm de diâmetro) contendo água a uma temperatura entre 22 a 24°C. Os animais foram habituados no aparato por dois minutos e a seguir avaliado o tempo de imobilidade (é o tempo em segundos em que o animal realiza movimentos mínimos para se manter flutuando) e tempo de escalada (movimento repetido das

patas frontais alinhado com a lateral do cilindro, direcionado a parte de cima do aparato) por um período de 3 minutos (Figura 9; QUEIROZ et al., 2022).

4.7. Eutanásia e coleta de amostras

Após os testes comportamentais, os animais foram anestesiados com cetamina + xilazina (91 + 9,1 mg/kg; ip.) e ao ficarem inconscientes, foram eutanasiados por exsanguinação realizada por punção cardíaca, sendo coletado estriado, córtex pré-frontal, hipocampo e amígdala de todos os animais. As amostras foram destinadas para a avaliação de balanço oxidativo e de citocinas pró-inflamatória por ELISA. Todos os materiais biológicos foram imediatamente acondicionados a -80 °C.

Os materiais residuais provenientes dos animais foram encaminhados para o serviço especializado de coleta da UFPA, conforme o que preconiza o Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde - PGRSS da instituição.

4.8. Avaliação da neuroinflamação

A fração proteica de cada amostra (estriado, córtex pré-frontal e hipocampo) foi extraída com Tri-reagent (Applied Biosystems, EUA), seguindo as instruções do fabricante. As citocinas IL-1 β (E-EL-R0012) e IL-6 (E-EL-R0015) e fator de transcrição NF-kB (E-EL-R0674) foram detectadas por kits comerciais Elabscience desenvolvidos para a avaliação de citocinas da espécie, de acordo com o protocolo fornecido pelo fabricante.

Inicialmente, 10 μ L do homogenato de cada amostra foram adicionados a cada poço de uma placa de 96 poços, que já estavam preenchidos com 40 μ L de diluente fornecido com o kit. Esse procedimento foi realizado em triplicata. Em seguida, a placa foi incubada a 37°C por 30 min, seguido pela adição de 10 μ L de solução de cromatina A e solução de cromatina B. Por fim, o processo foi concluído adicionando 50 μ L de solução de bloqueio a cada poço. Após 15 min na ausência de luz, a microplaca foi avaliada por leitor em comprimento de onda de 450 nm (ELX808, BioTek, EUA). Os resultados foram expressos em pg/mL.

4.9. Avaliação do estresse oxidativo

4.9.1. DOSAGEM DE NITRITOS

A determinação dos níveis de nitritos foi realizada a partir de homogenatos das amostras dos animais. Após centrifugação, o sobrenadante do homogeneizado foi

coletado e a produção foi determinada com base na reação de Griess. Foi usado 50 µl do reativo de Griess e foi adicionado a 50 µl do sobrenadante do homogenato tecidual, posteriormente foi incubado a temperatura ambiente por 10 minutos. A curva padrão foi elaborada com várias concentrações de NaNO_2 sob as mesmas condições e os brancos foram preparados pela adição de 50 µl do reativo de Griess a 50 µl do tampão usado para o homogenato. A absorbância foi medida em 560 nm e foi expressa em nm/g de tecido úmido (GREEN e GOLDMAN, 1981).

4.9.2. SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS)

Para determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foi seguido o método de Khonn e Livesedge (1944) e adaptado por Percário et al. (1994), utilizado para quantificar a peroxidação lipídica, sendo baseada na reação do malondialdeído (MDA) e outras substâncias com o ácido tiobarbitúrico, cuja alto nível de TBARS é indicado como marcador de estresse oxidativo. Foi adicionado 200 µL de amostra à 200 µL da solução de ácido tiobarbitúrico (0,8%), 20 µl de BHT (Hidroxitolueno butilado) e 200 µL de HCL (Ácido clorídrico). Posteriormente, FOI levado ao banho-maria (94°C por 60 minutos), após resfriamento por 10 minutos, adicionou-se 618 µL de álcool 1-butílico, foi homogeneizado e submetido a centrifugação a 4000 rpm por 3 minutos, foi coletado 200 µL de sobrenadante para leitura espectrofotométrica a 532 nm. Os resultados foram expressos em $\eta\text{mol/mL}$.

4.10. Análise Estatística

A normalidade dos dados foi testada pelo método de Shapiro-Wilk, sendo aplicada análise de variância, seguido do teste de Holm-Sidak, quando houve distribuição gaussiana. Nos demais casos, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn. Foram considerados diferentes os grupos que apresentaram probabilidade de nulidade menor ou igual a 5% ($P < 0,05$). Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) de 5-8 animais.



RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. Composição do óleo essencial

Foram detectados vinte e sete compostos no OEAc, dos quais o 1-nitro-2-feniletano representa 77,5 % (Figura 10). Em quantidades menores foram identificados o Óxido de Cariofileno (4,4 %), *E*-cariofileno (3,6%), linalol (2,8%), β -longipineno (1,6%) e benzeno acetaldeído (1,1%). Os demais constituintes e respectivos percentuais estão expressos na tabela 2.

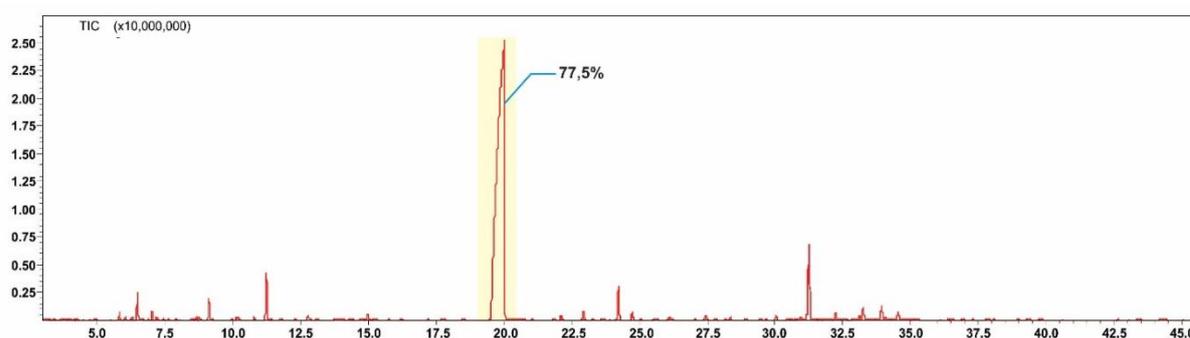


Figura 10. Cromatograma do óleo essencial de *A. canelilla*.

Tabela 2. Composição química do óleo essencial de *A. canelilla* 77,5%.

IR(C)	IR(L)	CONSTITUINTE	*%
850	850a	3Z-Hexenol	0,0
933	932a	α -Pineno	0,4
958	952a	Benzaldeído	0,6
977	974a	β -Pineno	0,4
1024	1020a	p-Cimeno	0,1
1028	1024a	Limoneno	0,2
1031	1026a	1,8-Cineol	0,1
1041	1036a	Benzeno acetaldeído	1,1
1100	1095a	Linalol	2,8
1137	1134a	Benzenoacetonitrila	0,2
1190	1186a	α -Terpineol	0,4
1195	1195a	Mirtenal	0,1
1308	1294a	1-nitro-2-Feniletano	77,5
1357	1356a	Eugenol	0,3
1377	1374a	α -Copaeno	0,8
1408	1417a	β -Longipineno	1,6
1420	1417a	<i>E</i> -Cariofileno	3,6
1454	1452a	α -Humuleno	0,4
1496	1498a	α -Selineno	0,1
1509	1505a	β -Bisaboleno	0,1
1525	1522a	δ -Cadineno	0,1

IR(C)	IR(L)	CONSTITUINTE	*%
1584	1582a	Óxido de Cariofileno	4,4
1610	1608a	Epóxido de Humuleno II	0,3
1634	1639a	Cariofila-4(12),8(13)-dien-5- α -ol	0,2
1637	1639a	Cariofila-4(12),8(13)-dien-5- β -ol	0,7
1656	1658a	Selin-11-en-4- α -ol	0,8
1672	1668a	14-hidróxi-9-epi-E-Cariofileno	0,2
Total identificado			98,4

* = média ($n = 3$); IR (C) = índice de retenção calculado na coluna capilar Rtx-5ms; IR (L) = índice de retenção de literatura, a = (Adams, 2007), tr = vestígios (<0,1%).

5.2. Composição do óleo essencial enriquecido em 1N2F

No óleo essencial de *A. canelilla*, considerado o grupo 1N2F, foram detectados quarenta e oito compostos, sendo 80,4% 1-nitro-2-feniletano (Figura 11). Outros constituintes foram detectados em quantidades menores, como óxido de cariofileno (5,1%), linalool (2,2%), β -longipineno (1,6%), benzaldeído (1,1%) e benzeno acetaldeído (1,0%). As porcentagens de concentração dos constituintes do óleo enriquecido estão expressas na tabela 3.

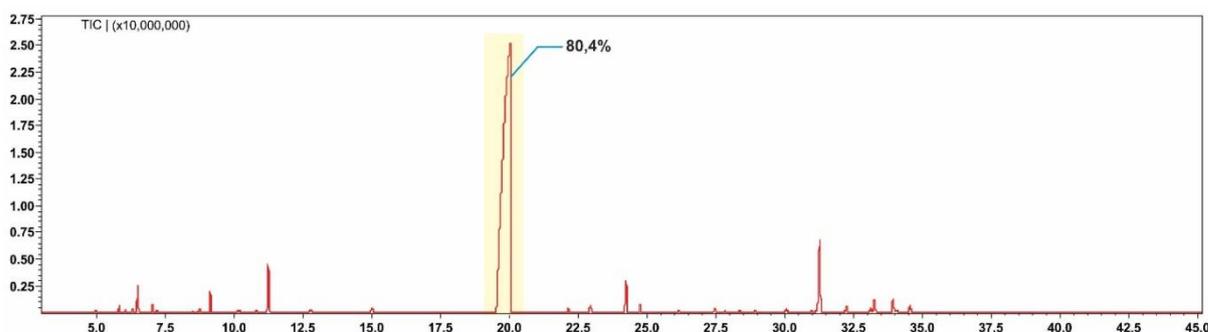


Figura 11. Cromatograma do óleo essencial de *A. canelilla*.

Tabela 3. Composição química do óleo essencial de *A. canelilla* 80,4%.

IR (C)	IR (L)	CONSTITUINTE	%
793	786b	2-Hexanona	0,0
796	795b	Hexano-3-ol	0,0
800	801a	Hexanal	0,0
847	846a	2E-Hexenal	0,0
933	932a	α -pineno	0,3
948	946a	Canfeno	0,0
958	952a	Benzaldeído	1,1
977	974a	β -pineno	0,3

IR (C)	IR (L)	CONSTITUINTE	%
1000	1000a	N-Decano	0,0
1024	1020a	<i>p</i> -Cimeno	0,1
1028	1024 ^a	Limoneno	0,1
1031	1026 ^a	1,8-Cineol	0,2
1041	1036 ^a	Acetaldeído de benzeno	1,0
1069	1059 ^a	Acetofenona	0,1
1071	1067 ^a	cis- Óxido de linalol	0,1
1088	1084 ^a	trans- Óxido de linalol	0,1
1100	1095 ^a	Linalool	2,2
1113	1109 ^a	Benzaldeído, dimetil acetal	0,0
1126	1122 ^a	α -Campholenal	0,0
1137	1134 ^a	Benzenoacetoneitrila	0,3
1177	1174 ^a	Terpinen-4-ol	0,0
1185	1183 ^a	Criptônio	0,1
1190	1186 ^a	α -Terpineol	0,3
1196	1195 ^a	Mirtenal	0,1
1256	1254 ^a	Acetato de feniletila	0,0
1308	1294 ^a	1-nitro-2-feniletano	80,4
1357	1356 ^a	Eugenol	0,2
1377	1374 ^a	α -copaeno	0,5
1393	1389 ^a	β -elemene	0,0
1395	1393 ^a	Isobutanoato de feniletila	0,0
1408	1417 ^a	β -longipineno	1,9
1420	1417 ^a	<i>E</i> -cariofileno	0,5
1441	1439 ^a	2-27 butanoato de feniletila	0,1
1454	1452 ^a	α -humuleno	0,1
1496	1498 ^a	α -selineno	0,1
1509	1505 ^a	β -bisoboleno	0,1
1524	1521 ^a	trans-calameneno	0,1
1579	1577 ^a	Espatuleno	0,1
1584	1582 ^a	Óxido de cariofileno	5,1
1588	1590 ^a	β -copaen-4- α -ol	0,0
1610	1608 ^a	Epóxidos de humuleno II	0,4
1630	1630 ^a	1- <i>epi</i> -cubenol	0,1
1634	1639 ^a	cariofila-4(12),8(13)-dien-5- α -ol	0,3
1637	1639 ^a	cariofila-4(12),8(13)-dien-5- β -ol	0,8
1656	1658 ^a	selin-11-en-4- α -ol	0,9
1672	1668 ^a	14-hidroxi-9- <i>epi</i> - <i>E</i> -cariofileno	0,5
1678	1676 ^a	Mustakone	0,1
1726	1718 ^a	β -davanone-2-ol	0,0
Total identificado			98,2

* = média ($n = 3$); IR (C) = índice de retenção calculado na coluna capilar Rtx-5ms; IR (L) = índice de retenção de literatura, a = (Adams, 2007), tr = vestígios (<0,1%).

5.3. Avaliação comportamental

5.3.1. O OEAC E 1N2F PREVINEM O PREJUÍZO NA LOCOMOÇÃO ESPONTÂNEA ASSOCIADO À NEUROINFLAMAÇÃO.

A administração do LPS (0,5 mg/kg; ip.) promoveu redução significativa da distância percorrida ($8,32 \pm 0,95$ m), quando comparado ao grupo branco ($19,98 \pm 2,2$ m; $p < 0,001$; Figura 12A). O pré-tratamento com o OEAc (2 mg/kg; ip.; $14,93 \pm 1,99$ m) e o 1N2F (1,65 mg/kg; ip.; $15,98 \pm 2,25$ m) foi capaz de prevenir o prejuízo locomotor induzido pelo LPS ($p < 0,05$) com deambulação espontânea semelhante ao grupo branco e ao padrão fluoxetina ($14,45 \pm 0,83$ m).

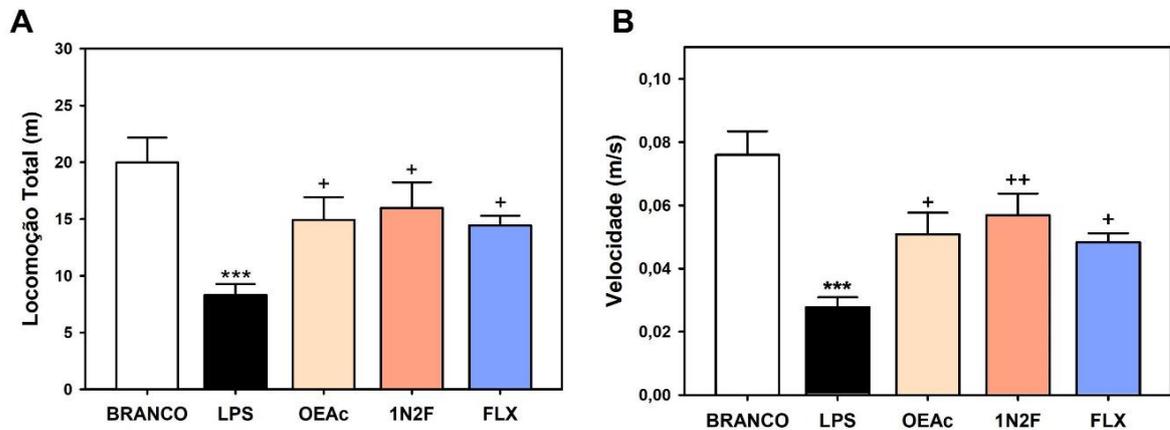


Figura 12. Efeito do OEAc (2 mg/kg; ip.) ou 1N2F (1,65 mg/kg; ip.) sobre a distância de locomoção total (A) e velocidade (B) no teste do Campo Aberto. Dados expressos como média \pm EPM ($n = 8$ /grupo). *** $p < 0,001$ versus BRANCO, + $p < 0,05$ versus LPS, ++ $p < 0,01$ versus LPS. Anova de uma via seguido do teste de Holm-Sidak.

Semelhantemente, a administração do LPS (0,5 mg/kg; ip.) reduziu a velocidade média ($0,027 \pm 0,003$ m/s) dos animais em comparação ao branco ($0,076 \pm 0,007$ m/s; $p < 0,001$; Figura 12B). O pré-tratamento com OEAc (2 mg/kg; ip.; $0,051 \pm 0,007$ m/s), 1N2F (1,65 mg/kg; ip.) ou Fluoxetina (FLX; 10 mg/kg; ip.; $0,048 \pm 0,003$ m/s) promoveram a elevação da velocidade média de deambulação alterada pelo LPS ($p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,05$, respectivamente).

5.3.2. O OEAC E 1N2F PREVINEM O PREJUÍZO NA EMOCIONALIDADE ASSOCIADO À NEUROINFLAMAÇÃO.

A neuroinflamação induzida por LPS (0,5 mg/kg) promoveu redução na locomoção dos animais na área central do Campo Aberto ($0,805 \pm 0,13$ m) em comparação ao branco ($3,38 \pm 0,62$ m; $p < 0,01$; Figura 13A). O pré-tratamento com 1N2F (1,65 mg/kg; ip.; $2,84 \pm 0,55$ m) previniu esse comportamento, aumentando a deambulação no centro do aparato ($p < 0,05$). O OEAc (2 mg/kg; ip.; $2,45 \pm 0,77$ m) demonstrou aumento da locomoção central, porém sem diferença significativa em comparação ao grupo LPS ($p = 0,062$). A fluoxetina (FLX; 10 mg/kg; ip.; $1,03 \pm 0,22$ m) não interferiu da deambulação no centro quando comparável ao LPS ($p = 0,766$).

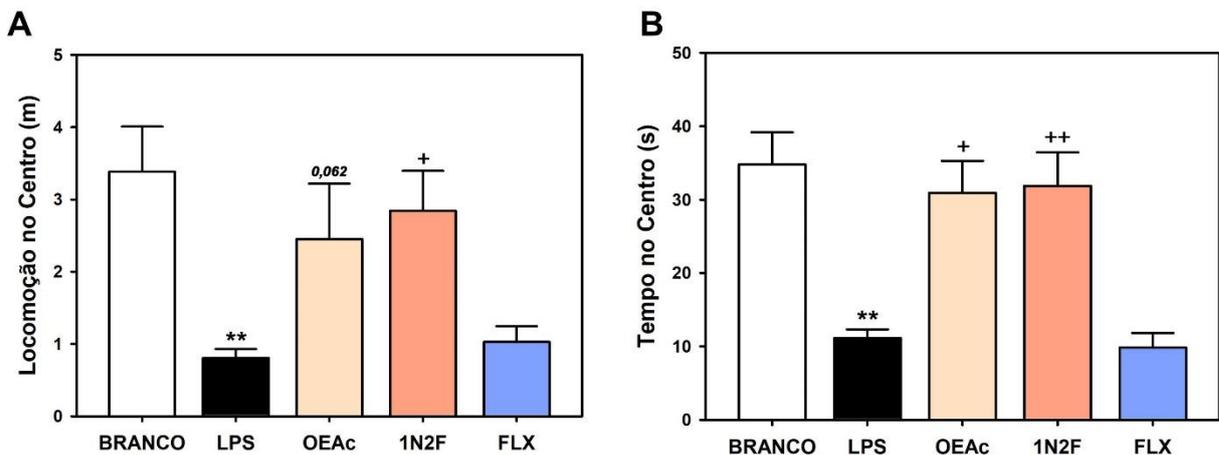


Figura 13. Efeito do OEAc (2 mg/kg) ou 1N2F (1,65 mg/kg) sobre locomoção (A) e tempo (B) no Centro do Campo Aberto. Dados expressos como média \pm EPM ($n = 8$ /grupo). ** $p < 0,01$ versus BRANCO, + $p < 0,05$ versus LPS, ++ $p < 0,01$ versus LPS; $p = 0,062$ versus LPS. Anova de uma via seguido do teste de Holm-Sidak.

O LPS (0,5 mg/kg) também promoveu a redução do tempo no centro do aparato ($11,1 \pm 1,2$ s) em relação ao grupo branco ($34,8 \pm 4,37$ s; $p < 0,01$; Figura 13B). O pré-tratamento com OEAc (2 mg/kg; ip.; $30,9 \pm 4,33$ s) e 1N2F (1,65 mg/kg; ip.; $31,8 \pm 4,58$ s) aumentaram o tempo de permanência dos animais nas áreas centrais quando comparável ao LPS ($p < 0,05$ e $p > 0,01$, respectivamente). A fluoxetina ($9,8 \pm 1,98$ s) não alterou o tempo de permanência no centro do campo aberto em comparação ao LPS ($p = 0,9981$).

5.3.3. O OEAC E 1N2F REDUZEM A ANEDONIA RELACIONADA À NEUROINFLAMAÇÃO.

No *splash test*, a administração de LPS (0,5 mg/kg; ip.) não interferiu sobre latência para início do *grooming* ($129,2 \pm 11,0$ s) quando comparado ao grupo branco ($122,7 \pm 10,40$ s; Figura 14A), não havendo também alterações quando os animais foram tratados com OEAc (2 mg/kg; ip.; $137,5 \pm 12,3$ s), 1N2F (1,65 mg/kg; ip.; $130,5 \pm 12,5$ s) ou Fluoxetina (FLX; 10 mg/kg; ip.; $112,8 \pm 5,5$ s).

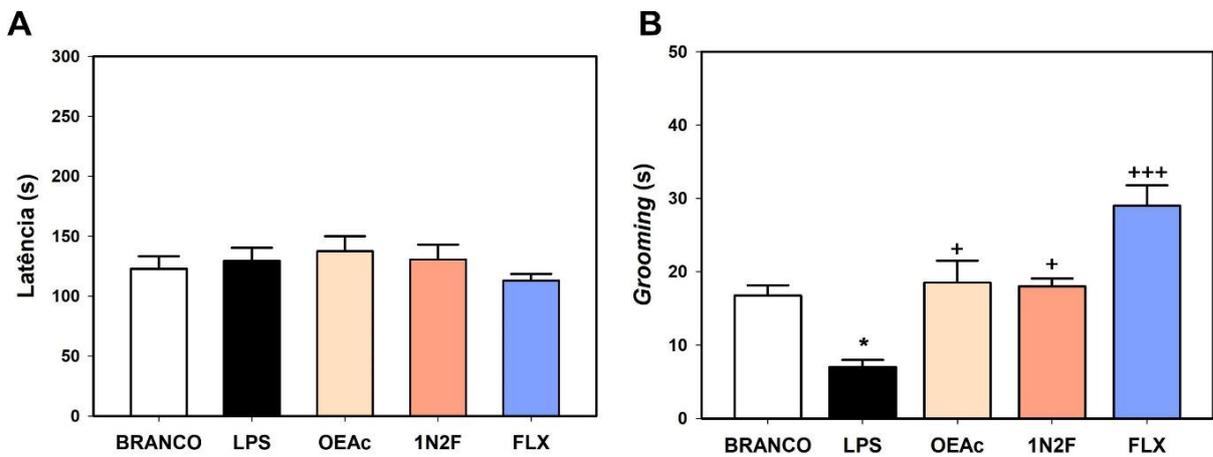


Figura 14. Efeito do OEAc (2 mg/kg) ou 1N2F (1,65 mg/kg) sobre o tempo de latência (A) e *grooming* (B) no *Splash Test*. Dados expressos como média \pm EPM ($n = 8$ /grupo). * $p < 0,05$ versus BRANCO, + $p < 0,05$ versus LPS, +++ $p < 0,001$ versus LPS. Anova de uma via seguido do método de Dunnet.

O tempo de *grooming*, por outro lado, foi significativamente reduzido nos animais que receberam LPS (0,5 mg/kg; ip; $7,0 \pm 0,98$ s), quando comparado aos animais do grupo branco ($16,7 \pm 1,38$ s; $p < 0,05$; Figura 14B). Nesse contexto, o OEAc (2 mg/kg; ip.; $18,5 \pm 2,98$ s) e 1N2F (1,65 mg/kg; ip.; $18,0 \pm 1,07$ s) inibiram esse prejuízo, aumentando significativamente o tempo de autolimpeza ($p < 0,05$ e $p < 0,05$, respectivamente). A administração da fluoxetina (FLX; 10 mg/kg; ip.; $29,0 \pm 2,7$ s) também aumentou significativamente o tempo de autolimpeza em relação ao LPS ($p < 0,001$).

5.3.4. O OEAC E 1N2F PREVINEM O DESENVOLVIMENTO DE COMPORTAMENTO DO TIPO DEPRESSIVO ASSOCIADO À NEUROINFLAMAÇÃO.

O processo neuroinflamatório induzido por LPS (0,5 mg/kg; ip.) produziu aumento significativo no tempo de imobilidade ($114,5 \pm 4,4$ s) em comparação ao branco ($67,5 \pm 8,6$ s; $p < 0,01$; Figura 15A) no teste do nado forçado. O pré-tratamento com OEAc (2 mg/kg; ip.; $48,6 \pm 9,93$ s) e 1N2F (1,65 mg/kg; ip.; $42,1 \pm 11,3$ s) foi capaz de reduzir o tempo de imobilidade em relação ao LPS ($p < 0,001$ e $p < 0,001$, respectivamente). O padrão fluoxetina (FLX; 10 mg/kg; ip.; $73,1 \pm 8,7$ s) diminuiu a imobilidade dos animais comparado ao LPS ($p < 0,05$).

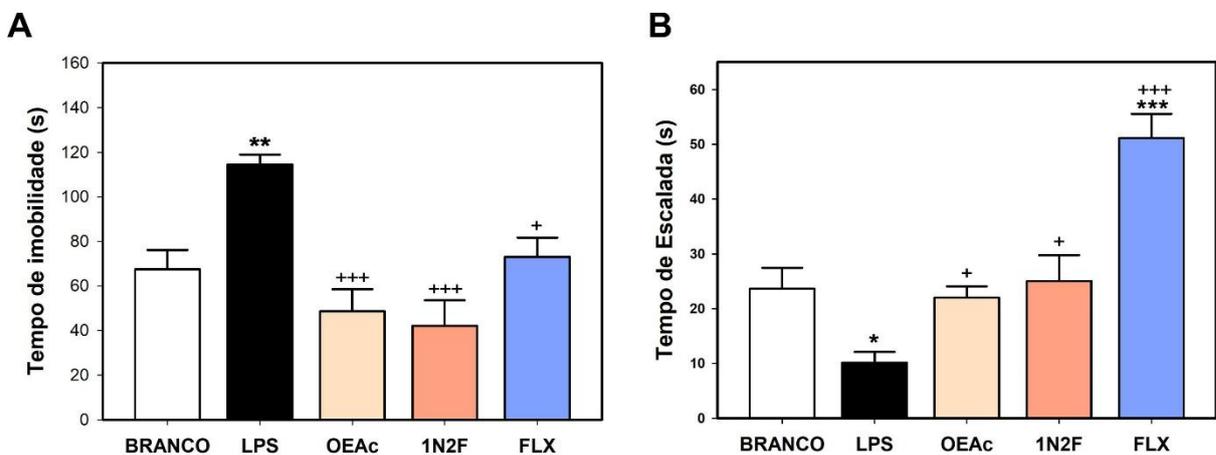


Figura 15. Efeito do OEAc (2 mg/kg) ou 1N2F (1,65 mg/kg) sobre o tempo de imobilidade (A) e escalada (B) no Nado Forçado. Dados expressos como média \pm EPM ($n = 8$ /grupo). * $p < 0,05$ versus BRANCO, ** $p < 0,01$ versus BRANCO, *** $p < 0,001$ versus BRANCO, + $p < 0,05$ versus LPS, +++ $p < 0,001$ versus LPS. Anova de uma via seguido do teste de Holm-Sidak.

A administração de LPS (0,5 mg/kg; ip.) reduziu também o tempo de escalada ($10,1 \pm 1,9$ s) em relação ao branco ($23,6 \pm 3,8$ s; $p < 0,05$; Figura 15B). O pré-tratamento com OEAc (2 mg/kg; ip.; $22,0 \pm 2,0$ s) e 1N2F (1,65 mg/kg; ip.; $25,0 \pm 4,7$ s), em contrapartida, promoveram aumento no tempo de escalada inibindo o efeito do LPS ($p < 0,05$ e $p < 0,05$, respectivamente). A Fluoxetina (FLX; 10 mg/kg; ip.; $51,1 \pm 4,4$ s) também melhorou o tempo de escalada em relação ao LPS e ao branco ($p < 0,001$ e $p < 0,001$, respectivamente).

5.4. Avaliação neuroinflamatória

5.4.1. O OEAC E 1N2F REDUZEM A NEUROINFLAMAÇÃO INDUZIDA POR LPS

Mediante a administração de LPS (0,5mg/kg; ip.; Figura 16) foi observada elevação dos níveis de NF-κB em comparação ao branco no estriado (A; $1,58 \pm 0,002$ pg/mL e $0,33 \pm 0,006$ pg/mL, respectivamente; $p < 0,001$), córtex pré-frontal (B; $1,50 \pm 0,0002$ pg/mL e $0,4 \pm 0,011$ pg/mL, respectivamente; $p < 0,001$) e hipocampo (C; $1,59 \pm 0,001$ pg/mL e $0,37 \pm 0,04$ pg/mL, respectivamente; $p < 0,001$). O pré-tratamento com OEAc (2mg/kg; ip.) e 1N2F (1,65mg/kg; ip.) foi capaz de suprimir os níveis de NF-κB no estriado ($0,93 \pm 0,002$ pg/mL e $0,97 \pm 0,032$ pg/mL, respectivamente; $p < 0,001$ e $p < 0,001$, respectivamente), córtex pré-frontal ($1,0 \pm 0,0003$ pg/mL e $0,98 \pm 0,001$ pg/mL respectivamente; $p < 0,001$ e $p < 0,001$ respectivamente) e hipocampo ($0,97 \pm 0,02$ pg/mL e $0,95 \pm 0,04$ pg/mL, respectivamente; $p < 0,001$ e $p < 0,001$, respectivamente). O pré-tratamento com a fluoxetina (FLX; 10 mg/kg; ip) reduziu a expressão de NF-κB no estriado ($0,07 \pm 0,006$ pg/mL; $p < 0,001$), córtex pré-frontal ($0,68 \pm 0,014$ pg/mL; $p < 0,001$) e hipocampo ($0,69 \pm 0,015$ pg/mL; $p < 0,001$).

A administração do LPS (0,5mg/kg; ip.; Figura 16) elevou a concentração de IL-1β em relação ao branco no estriado (D; $0,89 \pm 0,0002$ pg/mL e $0,25 \pm 0,009$ pg/mL, respectivamente; $p < 0,001$), córtex pré-frontal (E; $0,74 \pm 0,07$ pg/mL e $0,20 \pm 0,01$ pg/mL, respectivamente; $p < 0,001$) e hipocampo (F; $0,86 \pm 0,006$ pg/mL e $0,24 \pm 0,01$ pg/mL, respectivamente; $p < 0,001$). O pré-tratamento com OEAc (2mg/kg; ip.) e 1N2F (1,65mg/kg; ip.) demonstrou reduziu os níveis de IL-1β no estriado ($0,38 \pm 0,003$ pg/mL e $0,39 \pm 0,013$ pg/mL, respectivamente; $p < 0,001$ e $p < 0,001$, respectivamente), córtex pré-frontal ($0,20 \pm 0,06$ pg/mL e $0,98 \pm 0,0001$ pg/mL respectivamente; $p < 0,001$ e $p < 0,001$ respectivamente) e hipocampo ($0,32 \pm 0,03$ pg/mL e $0,29 \pm 0,04$ pg/mL, respectivamente; $p < 0,001$ e $p < 0,001$, respectivamente). O padrão fluoxetina (FLX; 10 mg/kg; ip) aumentou a concentração de IL-1β em relação branco no estriado ($1,31 \pm 0,002$ pg/mL; $p < 0,001$), córtex pré-frontal ($1,25 \pm 0,0002$ pg/mL; $p < 0,001$) e hipocampo ($1,31 \pm 0,0005$ pg/mL; $p < 0,001$).

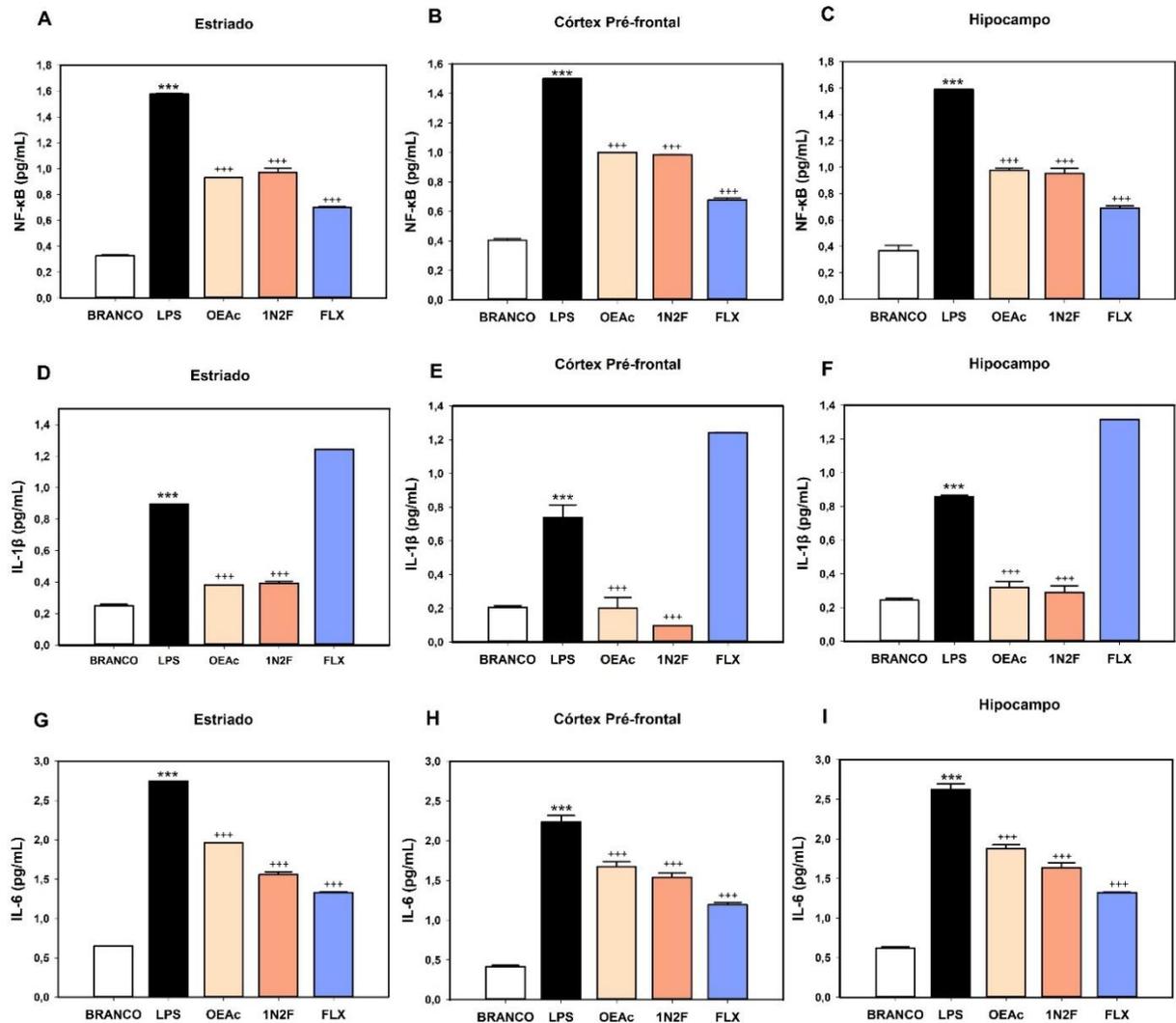


Figura 16: Efeito do OEA e 1N2F sobre os níveis de NF-κB, IL-1β e IL-6 no estriado (A, D e G), córtex pré-frontal (B, E e H) e hipocampo (C, F e I). Dados expressos como média ± EPM (n = 5/grupo). ***p < 0,001 versus BRANCO, +++ p < 0,001 versus LPS. Anova de uma via seguido do teste de Holm-Sidak.

O LPS (0,5mg/kg; ip.; Figura 16) aumentou os níveis de IL-6 comparado ao branco no estriado (G; $2,74 \pm 0,0002$ pg/mL e $0,65 \pm 0,00$ pg/mL, respectivamente; $p < 0,001$), córtex pré-frontal (H; $2,23 \pm 0,07$ pg/mL e $0,42 \pm 0,01$ pg/mL, respectivamente; $p < 0,001$) e hipocampo (I; $2,62 \pm 0,07$ pg/mL e $0,62 \pm 0,02$ pg/mL, respectivamente; $p < 0,001$; Figura 16). O pré-tratamento com OEA (2mg/kg; ip.) e 1N2F (1,65mg/kg; ip.) foi capaz de reduzir a concentração de IL-6 no estriado ($1,96 \pm 0,0001$ pg/mL e $1,56 \pm 0,037$ pg/mL, respectivamente; $p < 0,001$ e $p < 0,001$, respectivamente), córtex pré-frontal ($1,67 \pm 0,06$ pg/mL e $1,53 \pm 0,05$ pg/mL respectivamente; $p < 0,001$ e $p < 0,001$ respectivamente) e hipocampo ($1,87 \pm 0,05$ pg/mL e $1,63 \pm 0,06$ pg/mL, respectivamente; $p < 0,001$ e $p < 0,001$, respectivamente). A administração com a fluoxetina (FLX; 10 mg/kg; ip) diminuiu os níveis de IL-6 no

estriado ($1,33 \pm 0,008$ pg/mL; $p < 0,001$), córtex pré-frontal ($1,19 \pm 0,03$ pg/mL; $p < 0,001$) e hipocampo ($1,32 \pm 0,003$ pg/mL; $p < 0,001$).

5.5. Avaliação do estresse oxidativo

5.5.1. O OEAC E 1N2F REDUZEM O ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDO POR LPS

A administração do LPS (0,5 mg/kg; ip.; Figura 17) aumentou os níveis de nitritos em relação ao branco no estriado (A; $99,2 \pm 21,1$ $\mu\text{mol/g}$ e $46,8 \pm 4,2$ $\mu\text{mol/g}$, respectivamente; $p < 0,05$), córtex pré-frontal (B; $40,7 \pm 4,0$ $\mu\text{mol/g}$ e $16,8 \pm 4,2$ $\mu\text{mol/g}$, respectivamente; $p < 0,01$) e amígdala (D; $25,6 \pm 4,7$ $\mu\text{mol/g}$ e $6,8 \pm 1,9$ $\mu\text{mol/g}$, respectivamente; $p < 0,05$). O OEAc (2 mg/kg; ip) e 1N2F (1,65 mg/kg; ip) reduziram as concentrações no estriado (A; $55,7 \pm 9,8$ $\mu\text{mol/g}$ e $56,2 \pm 8,2$ $\mu\text{mol/g}$, respectivamente; $p < 0,05$ e $p < 0,05$, respectivamente) e córtex pré-frontal (B; $13,3 \pm 1,4$ $\mu\text{mol/g}$ e $14,0 \pm 2,7$ $\mu\text{mol/g}$, respectivamente; $p < 0,01$ e $p < 0,01$, respectivamente). Na amígdala (D), o OEAc ($8,06 \pm 2,3$ $\mu\text{mol/g}$) diminuiu os níveis de nitritos em relação ao LPS ($p < 0,05$), o 1N2F reduziu a concentração, porém não significativamente ($12,7 \pm 1,9$ $\mu\text{mol/g}$; $p = 0,084$).

No hipocampo (C) o LPS não alterou a concentração de nitritos induzido em relação ao branco ($58,2 \pm 8,1$ $\mu\text{mol/g}$ e $60,2 \pm 8,1$ $\mu\text{mol/g}$, respectivamente). O pré-tratamento com OEAc e 1N2F não alteram os níveis de nitritos comparado ao LPS no hipocampo ($58,6 \pm 6,7$ $\mu\text{mol/g}$ e $47,7 \pm 7,7$ $\mu\text{mol/g}$, respectivamente). A administração da fluoxetina (FLX; 10 mg/kg; ip) reduziu a concentração de nitritos no estriado ($60,6 \pm 10,4$ $\mu\text{mol/g}$; $p < 0,05$), porém não diminuiu em comparação ao LPS no córtex pré-frontal ($30,1 \pm 8,3$ $\mu\text{mol/g}$), hipocampo ($63,4 \pm 5,3$ $\mu\text{mol/g}$) e amígdala ($21,3 \pm 8,9$ $\mu\text{mol/g}$).

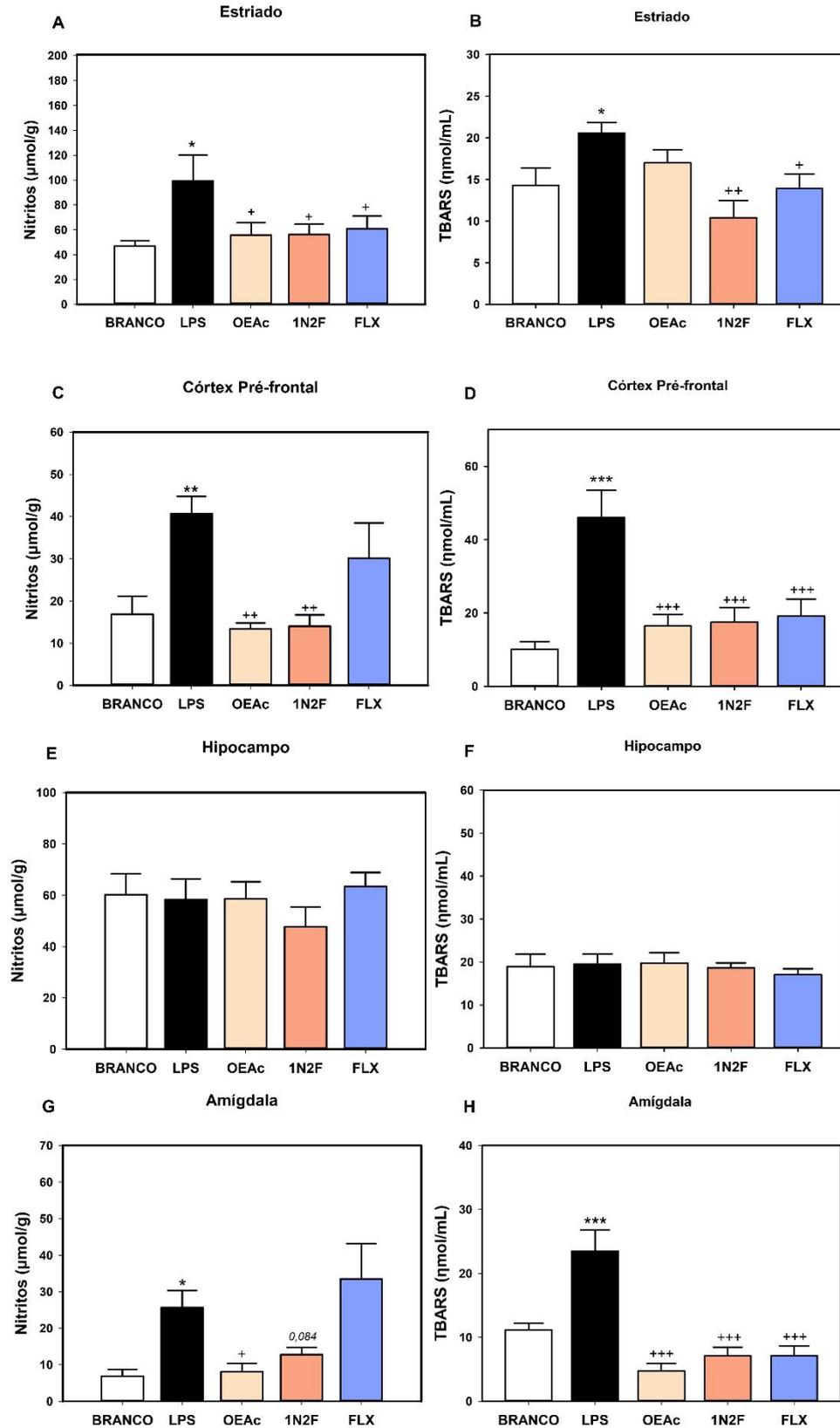


Figura 17. Efeito do OEAc e 1N2F sobre os níveis de nitritos e TBARS no estriado (A e E), córtex pré-frontal (B e F), hipocampo (C e G) e amígdala (D e H). Dados expressos como média \pm EPM ($n = 6/\text{grupo}$). * $p < 0,05$ versus BRANCO, ** $p < 0,01$ versus BRANCO, *** $p < 0,001$ versus BRANCO, + $p < 0,05$ versus LPS, ++ $p < 0,01$ versus LPS, +++ $p < 0,001$ versus LPS. Anova de uma via seguido do teste de Holm-Sidak.

O LPS (0,5 mg/kg; ip; Figura 17) induziu a peroxidação lipídica ao aumentar a concentração de TBARS comparado ao branco no estriado (E; $20,6 \pm 1,2$ $\eta\text{mol/mL}$ e $14,3 \pm 2,1$ $\eta\text{mol/mL}$ respectivamente; $p < 0,05$), córtex pré-frontal (F; $46,0 \pm 7,4$ $\eta\text{mol/mL}$ e $10,05 \pm 2,1$ $\eta\text{mol/mL}$, respectivamente; $p < 0,001$) e amígdala (H; $23,5 \pm 3,2$ $\eta\text{mol/mL}$ e $11,1 \pm 1,03$ $\eta\text{mol/mL}$ respectivamente; $p < 0,001$). No estriado (E), o 1N2F (1,65 mg/kg; ip; $10,4 \pm 2,03$ $\eta\text{mol/mL}$) diminuiu os níveis de TBARS em relação ao LPS ($p < 0,01$), o que não foi observado no tratamento com OEAc (2 mg/kg; ip. $17,0 \pm 1,6$ $\eta\text{mol/mL}$). O OEAc e 1N2F reduziram os níveis de TBARS no córtex pré-frontal (F; $16,4 \pm 3,2$ $\eta\text{mol/mL}$ e $17,5 \pm 3,9$ $\eta\text{mol/mL}$ respectivamente; $p < 0,001$ e $p < 0,001$, respectivamente) e amígdala (H; $4,7 \pm 1,1$ $\eta\text{mol/mL}$ e $7,1 \pm 1,3$ $\eta\text{mol/mL}$ respectivamente; $p < 0,001$ e $p < 0,001$, respectivamente).

O pré-tratamento com fluoxetina (FLX; 10 mg/kg; ip) suprimiu os níveis de TBARS no estriado ($13,9 \pm 1,7$ $\eta\text{mol/mL}$; $p < 0,05$), córtex pré-frontal ($19,1 \pm 4,66$ $\eta\text{mol/mL}$; $p < 0,001$) e amígdala ($7,15 \pm 1,5$ $\eta\text{mol/mL}$; $p < 0,001$). No hipocampo (G) não houve alterações na concentração de TBARS pela administração do LPS comparado ao branco ($19,47 \pm 2,4$ $\eta\text{mol/mL}$ e $18,9 \pm 2,8$ $\eta\text{mol/mL}$ respectivamente). O pré-tratamento com OEAc, 1N2F e FLX não alteram os níveis de TBARS em relação LPS no hipocampo ($19,7 \pm 2,3$ $\eta\text{mol/mL}$; $18,6 \pm 1,18$ $\eta\text{mol/mL}$ e $17,0 \pm 1,37$ $\eta\text{mol/mL}$, respectivamente).



DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

O presente estudo identificou, pela primeira vez, o efeito antineuroinflamatório do OEAc e seu constituinte majoritário, 1N2F. Foram ainda capazes de inibir os prejuízos na emocionalidade (comportamento do tipo ansioso) e o comportamento do tipo depressivo em murinos, associados à neuroinflamação. O partiu de uma revisão da literatura realizada por nosso grupo, que identificou indicações tradicionais da *A. canelilla* para o tratamento de enfermidades do SNC (tranquilizante e antidepressivo; SOUZA-JÚNIOR et al., 2020). Apesar disso, não foram identificados estudos voltados ao preenchimento dessa lacuna. Associado a isso, foram observadas também indicações populares e estudos científicos do aproveitamento da planta para o tratamento de processos inflamatórios e indícios preliminares, posteriormente comprovados por nosso grupo, de atividade antioxidante sistêmica (CARDOSO et al., 2022). Além de considerar que o 1N2F, reconhecido pelo odor semelhante a canela, apresenta características físico-químicas promissoras como elevada lipofilicidade e propriedades sobre o SNC já relatadas. Dessa forma, o presente estudo vem preencher uma importante lacuna no conhecimento a respeito das propriedades farmacológicas da casca preciosa.

A composição e rendimento do OEAc são influenciados pela sazonalidade, condições geográficas e parte da planta a qual é extraído (MANHÃES et al., 2012; CARDOSO et al., 2022). Entretanto, o rendimento do material vegetal para a extração do óleo está relacionado ao tipo de solo, variando de 0,5 a 0,8%, independente da sazonalidade (TAVEIRA et al., 2003; CARDOSO et al., 2022). Os OEAc obtidos para o estudo apresentaram rendimento médio de 1,3%, demonstrando alto rendimento em comparação a média de variação citada.

Referente a composição, em períodos chuvosos a concentração de 1N2F presente no OEAc é maior, variando de 39% (períodos secos) a 95% (períodos chuvosos) (DE MORAES et al., 2005). Neste estudo, as folhas utilizadas para extração do OEAc foram coletadas em períodos chuvosos, apresentando 77,5% e 80% de 1-nitro-2-feniletano em sua composição. Em estudos desenvolvidos por Cruz e colaboradores (2023) foi demonstrado que em diferentes períodos sazonais não foi identificado metileugenol, constituinte citotóxico, na composição do OEAc, sendo a espécie uma fonte confiável e segura de 1N2F. Além do 1N2F, foram identificados outros constituintes fitoquímicos no OEAc, como óxido cariofileno (4,4/5,1%), E-cariofileno (3,6%) e linalol (2,8/2,2%).

A composição fitoquímica do OEAc oferece abundância em propriedades farmacológicas que são relatadas na medicina popular, sendo utilizada como anti-inflamatório, analgésico, cicatrizante, antiespasmódico, antibiótico, antidiarreico e antianêmico (SOUZA-JÚNIOR et al., 2020). Também dentro do uso tradicional, a espécie é usada para tratamento de condições associadas ao SNC como doença de Alzheimer, ansiedade e depressão, propriedades que foram pouco exploradas cientificamente até o momento (SOUZA-JÚNIOR et al., 2020).

Dessa forma, neste estudo foi avaliado os efeitos do OEAc e o 1N2F sobre a neuroinflamação e alterações comportamentais em animais. O modelo experimental de neuroinflamação induzidos pelo LPS produz comportamento do tipo depressivo em animais (WANG e QUINN, 2010). O LPS induz respostas inflamatórias responsáveis por redução de BDNF, aumento de produção de EROS/ERNS e de TNF α , IL-1 β e IL-6 em estruturas relacionadas ao humor como hipocampo, córtex pré-frontal, estriado e amígdala (JEON et al., 2017; RODRIGUES et al., 2018; GARCEZ et al., 2020). Desse modo, o LPS gera prejuízos cognitivos e de aprendizado, anedonia, lentidão psicomotora e prejuízo na interação social em murinos (ALZAREA et al., 2022).

As alterações comportamentais do tipo depressivo são atingidas 24 horas após a administração (BADSHAH et al., 2016). De fato, após 24 horas da administração do LPS, houve redução da atividade locomotora espontânea e da velocidade média dos animais no campo aberto, demonstrando a lentidão psicomotora e prejuízos motores causados pelo LPS (COUCH et al., 2015). Em conformidade com outros estudos que demonstraram que o LPS na dose de 0,5 mg/kg produz redução do comportamento exploratório dos animais (COUCH et al., 2015; LATALIZA et al., 2021).

Neste estudo, os animais pré-tratados com o OEAc e 1N2F restauraram os prejuízos locomotores causados pelo LPS, aumentando a locomoção exploratória e velocidade de deambulação dos animais, assim como aqueles que receberam a fluoxetina. A deambulação exploratória dos animais necessita de estímulos motivacionais, sugerindo que o pré-tratamento elevou para níveis basais a motivação dos animais submetidos ao LPS (CARTAGENES et al., 2022).

O campo aberto permite avaliação de parâmetros emocionais, como comportamento do tipo ansioso, através da avaliação da permanência em áreas periféricas do campo aberto, evitando áreas aversivas como o centro do aparato (KRAEUTER et al., 2019; QUEIROZ et al., 2022). Cordeiro e colaboradores (2019) já demonstraram que LPS tende a diminuir a exploração da área central, apresentando

comportamento semelhante ao ansioso, neste estudo a administração do LPS seguiu o mesmo padrão comportamental, aumentando tempo de permanência dos animais em áreas periféricas.

Apesar do fenótipo do tipo ansiogênico do LPS, o OEAc e 1N2F demonstraram atividade do tipo ansiolítica através do aumento de permanência e locomoção no centro do campo aberto, diferente da fluoxetina que não apresentou este efeito. Os efeitos do tipo ansiolíticos do 1N2F já foram evidenciados em ensaios desenvolvidos por Oyetmitan e colaboradores (2013), onde as doses de 5mg/kg, 10mg/kg e 20 mg/kg apresentaram maior porcentagem de entradas e duração nos braços abertos no Labirinto em Cruz Elevada. Neste estudo demonstramos que uma dose menor de 1N2F (1,65 mg/kg) é capaz de promover efeito do tipo ansiolítico frente ao processo neuroinflamatório.

Como já relatado na literatura, neste ensaio o LPS causou comportamento do tipo depressivo no teste de borrifagem de sacarose, induzindo comportamento anedônico e diminuindo a motivação dos animais ao reduzir o tempo de *grooming* (LATALIZA et al., 2021). Alterações no comportamento de autolimpeza são associados a mimetização da apatia observada na depressão clínica (TAKSANDE et al., 2013). Dessa forma, medicamentos antidepressivos tendem a aumentar o tempo de autolimpeza dos animais, como a fluoxetina utilizada no estudo (DOS SANTOS et al., 2024) Nesse cenário, demonstramos que o tratamento com OEAc e o 1N2F reverte os déficits motivacionais dos animais induzidos por LPS, restabelecendo o estado hedônico, semelhante aos tratados com fluoxetina.

Para validação do comportamento do tipo depressivo, foi realizado o Nado forçado, padrão ouro para avaliação de propriedades do tipo antidepressivas e comportamentos semelhantes à depressão (SALMAMI et al., 2022). É baseado na prerrogativa da imobilidade refletir uma característica central da depressão humana e redução motivacional (YANKELEVITCH-YAHAV et al., 2015; SALMAMI et al., 2022).

O modelo de neuroinflamação induzido por LPS já demonstra gerar o padrão de comportamento semelhante ao depressivo em animais (ZHAO et al., 2019; YIN et al., 2023). Neste estudo o LPS aumentou o tempo de imobilidade e diminuiu o tempo de escalada dos animais, apresentando fenótipo semelhante ao depressivo. O resultado reafirma a associação entre inflamação e comportamentos depressivos em modelos animais, mimetizando achados na clínica, onde pacientes depressivos apresentam marcadores inflamatórios (SALMAMI et al., 2022).

Os medicamentos antidepressivos reduzem o tempo de imobilidade dos animais, sendo utilizados como avaliação de triagem para novos compostos com potenciais antidepressivos (SALAZAR et al., 2012; YANKELEVITCH-YAHAV et al., 2015). Pela primeira vez, evidenciamos que o OEAc e o 1N2F possuem atividade do tipo antidepressiva ao promoverem redução do tempo de imobilidade induzido pelo LPS no nado forçado, semelhante ao demonstrado pela fluoxetina. Há estudos que relatam efeitos anti-inflamatórios desempenhados por drogas com potencial antidepressivos através da redução da ativação microglial pelo LPS em modelo animais e supressão de citocinas inflamatórias em pacientes depressivos (MELO et al., 2013).

Além disso, o OEAc e o 1N2F aumentam o tempo de escalada dos animais, parâmetro que avalia comportamento ativos em desafio aversivo relacionado a vias neuroquímicas monoaminérgicas. O pré-tratamento aumentou a escalada equivalente ao branco e apresentou um padrão de comportamento semelhante ao ISRS, fluoxetina, demonstrando que pode atuar em vias serotoninérgicas (OLIVEIRA et al., 2005). Além disso, o comportamento do tipo depressivo pela administração do LPS está relacionado diminuição de monoaminas pela neuroinflamação em áreas encefálicas de regulação emocional (GOMES et al., 2022).

Em modelos murinos, é estabelecido que a administração sistêmica de LPS produz inflamação periférica, que transmite sinais inflamatórios ao cérebro pela BHE e ativa micróglia e astrócitos, estabelecendo a neuroinflamação (Xie et al., 2024). A ligação do LPS a receptores TLR4, culminando na ativação da cascata de sinalização dependente de MyD88 e ativação do fator de transcrição gênica NF- κ B (GOMES et al., 2022; SKRZYPCZAK-WIERCIOCH e SALAT, 2022). Os nossos resultados reafirmaram que o LPS eleva expressivamente os níveis de NF- κ B no estriado, córtex pré-frontal e hipocampo, estabelecendo o processo neuroinflamatório.

A via NF- κ B é chave via da sinalização em processos imunológicos e nas respostas inflamatórias, promovendo a expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias (TOMAZ et al., 2014; XIE et al., 2024). Dessa forma, a endotoxina ao aumentar o fator NF- κ B, elevou a superprodução de citocinas IL-1 β e IL-6 no estriado, córtex pré-frontal e hipocampo. É descrito ativação microglial por TLR4 aumenta 100 vezes a concentração de citocinas (KIM et al., 2015). A superexpressão de citocinas inicia um ciclo ao ativar a via de sinalização NF- κ B, agravando a inflamação (ZHANG et al., 2019). Dessa forma, em nossos achados também sugerem que as citocinas IL-

1 β e IL-6 ativaram o fator NF- κ B, assim intensificando os níveis de citocinas pré-existentes.

O aumento de IL-1 β eleva a recaptação de monoaminas e reduz os níveis de serotonina e noradrenalina por ativar a via das quinureninas e da IDO, produzindo comportamento do tipo depressivo como observado no nado forçado (GRYGIEL-GÓRNIAK et al., 2019). Em estudos clínicos foi identificado que pacientes depressivos apresentam níveis elevados de citocinas inflamatórias no sangue periférico e tecidos cerebrais, gerando alterações no metabolismo de neurotransmissores, plasticidade neural e suporte neurotrófico (LEE et al., 2018; LOCATELI et al., 2020). Nesse sentido, moléculas que modulem a inflamação ou reduzem expressão cerebral de citocinas e podem ser alternativas para obter um efeito antidepressivo (LOCATELI et al., 2020; GOMES et al., 2022).

A atividade anti-inflamatória do OEAc, rico em 1N2F, já foi evidenciada em nossos estudos anteriores, a qual reduziu a infiltração leucocitária e a permeabilidade vascular em modelo de inflamação cavitária, através de possível modulação da via p38/MARK/NF κ B (CARDOSO et al., 2022). Neste estudo inédito, é evidenciado que o OEAc e 1N2F previnem o processo neuroinflamatório, ao reduzirem os níveis do fator NF- κ B e suprimirem a superprodução de IL-1 β e IL-6 no estriado, córtex pré-frontal e hipocampo. Diante disso, com a atenuação da inflamação por atua na via NF- κ B nestas regiões de humor, os animais pré-tratados apresentaram comportamentos do tipo ansiolítico e antidepressivo, validando e justificando o uso popular da espécie.

A propriedade anti-neuroinflamatória do OEAc está associada ao 1N2F, considerando sua alta concentração na composição e alta lipofilicidade, permitindo atravessar BHE (CRUZ et al., 2023). Propriedades farmacológicas no SNC associadas ao 1N2F, em estudos desenvolvidos pelo grupo foi evidenciado que o benzenóide melhora aprendizado e memória danificados pela escopolamina (DE CAMPOS et al., 2023). Assim como já foram descritas atividade hipnótica, anticonvulsivante e ansiolíticas (OYEMITAN et al., 2013). Neste estudo, evidenciamos que o OEAc, constituído de 77,5% e 80,4% de 1N2F apresenta atividade do tipo antidepressiva associada ao efeito antineuroinflamatório.

Como descrito anteriormente, algumas drogas antidepressivas possuem atividade antineuroinflamatória, como a fluoxetina que promove a inibição da translocação nuclear de NF- κ B p65 na ativação microglial por LPS, assim diminuindo na produção de citocinas como IL-6 e TNF- α (LI et al, 2018; LIU et al., 2021). Neste

estudo, o pré-tratamento com a fluoxetina reduziu a expressão de NF- κ B e níveis de IL-6 no estriado, córtex pré-frontal e hipocampo, demonstrando seu efeito antidepressivo relacionado a modulação de monoaminas e processo inflamatório.

O LPS induz um processo inflamatório associado ao estresse oxidativo, sendo características patológicas encontradas no desenvolvimento da depressão e ansiedade (ADEBESIN et al., 2017). A neuroinflamação e o estresse oxidativo são processos interdependentes e correlacionados, de modo que a ativação de NF- κ B induz a produção de radicais livre e o aumento de radicais livres, como EROS e NO, intensificam a expressão de genes pró-inflamatórios pela via do NF- κ B (BHATT et al., 2020; SHARAPOV et al., 2021).

Dessa forma, na neuroinflamação induzida por LPS, a ativação microglial intensifica a produção de radicais livres, como radicais hidroxila, superóxido e óxido nítrico, que juntos oxidam macromoléculas biológicas como lipídios, proteínas, RNA e DNA (FILOMENI et al., 2015; SHARAPOV et al., 2021). Após 24h da administração do LPS, observou-se o aumento dos níveis de nitritos em áreas como estriado, córtex pré-frontal e amígdala, demonstrando o efeito deletério deste radical livre. Em outros estudos pré-clínicos é sugerido que a amígdala e o córtex pré-frontal são suscetíveis ao estresse oxidativo, justificando as alterações comportamentais apresentadas pelos animais, visto que são áreas de modulação emocional e humor (CÁRTAGENES et al., 2022)

A administração do LPS também elevou os níveis de peroxidação lipídica, demonstrando que o modelo de neuroinflamação foi capaz de estabelecer um quadro de estresse oxidativo intenso no encéfalo dos animais. Em ensaios pré-clínicos, o modelo de neuroinflamação induzido por LPS (0,5 mg/kg) também demonstrou aumento da peroxidação lipídica em animais (MELLO et al., 2013). O malondialdeído (MDA) é principal marcador do dano oxidativo, sendo produto secundário de hidroperóxidos lipídicos advindos da peroxidação lipídica de membranas plasmáticas (TELEANU et al., 2022). O MDA está associado processos patológicos, lesões aterogênicas e distúrbios neurodegenerativos (FEITOSA et al., 2018). Há evidências que demonstram elevação MDA em pacientes depressivos (BAKUNINA et al., 2015; BHATT et al., 2020).

Mediante isto, este estudo é pioneiro em demonstrar que o OEAc e o 1N2F reduzem os níveis NO e a peroxidação lipídica em um modelo de neuroinflamação causado por LPS em áreas encefálicas como estriado, córtex pré-frontal e amígdala.

Além disso, o estudo demonstra que o OEAC e 1N2F possui efeito protetor contra o estresse oxidativo e radicais livre no SNC.

Reafirmamos a capacidade antioxidante do OEAc, relatada em nossos estudos anteriores, onde identificamos que o OEAc reduz a peroxidação lipídica e aumenta a captura de radicais livres, justificado pelo aumento de concentração do GSH e capacidade antioxidante total em inflamação periférica (CARDOSO et al., 2022). A atividade antioxidante está associada ao constituinte 1N2F, que já demonstrou neutralização de radicais DPPH, além disso, outros constituintes como linalol e óxido de cariofileno inibem a produção de NO e aumentam atividade antioxidante (DA SILVA et al., 2007; MEHRI et al., 2015; CARDOSO et al., 2022).

O estudo destaca o potencial terapêutico do OEAc e o 1N2F na prevenção do comportamento do tipo ansioso e antidepressivo ao modular o processo inflamatório, suprimindo o fator NF- κ B e a superprodução de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β e IL-6, além de prevenir o dano oxidativo e neutralizar radicais livre. Os mecanismos descritos demonstram o potencial terapêutico do OEAc e do 1N2F sobre a modulação de processos inflamatórios em doenças neuropsiquiátricas.



CONCLUSÃO

7. CONCLUSÃO

Os óleos essenciais de *Aniba canelilla* extraídos apresentaram alta concentração de 1-nitro-2-feniletano, demonstrando que a espécie é fonte confiável do composto. O LPS causou alterações na atividade locomotora, comportamento anedônico e comportamento do tipo ansioso e depressivo associado ao aumento dos níveis do fator NF- κ B, IL-1 β e IL-6 e estresse oxidativo. A partir disso, pela primeira vez, foi identificado que OEAc e o 1N2F previne o comportamento do tipo depressivo e ansioso e modula o processo neuroinflamatório, suprimindo o fator NF- κ B e a superprodução de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β e IL-6, além de prevenir o dano oxidativo e neutralizar a elevação da produção de radicais livre induzidos pelo LPS. Por fim, o estudo evidenciou o potencial terapêutico do OEAc e do 1N2F sobre a modulação de processos inflamatórios em condições patológicas do SNC.



REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ABDULKHALEQ, L. A. et al. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. **Veterinary World**, v. 11, n. 5, p. 627–635, maio 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5993766/>
- ADEBESIN, Adaeze; ADEOLUWA, Olusegun A.; EDUVIERE, Anthony T.; et al. Methyl jasmonate attenuated lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviour in mice. **Journal of Psychiatric Research**, v. 94, p. 29–35, 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022395617300468>>.
- ADZIC, M. et al. The contribution of hypothalamic neuroendocrine, neuroplastic and neuroinflammatory processes to lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviour in female and male rats: Involvement of glucocorticoid receptor and C/EBP- β . **Behavioural Brain Research**, v. 291, p. 130–139, set. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.05.029>
- ALCÂNTARA, J. M. et al. Composição química de óleos essenciais de espécies de Aniba e Licaria e suas atividades antioxidante e antiagregante plaquetária. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 141–145, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000100026>
- ALCANTARA, Joelma M.; YAMAGUCHI, Klenicy K. de L.; VEIGA-JUNIOR, Valdir F. Composição de óleos essenciais de *Dicypellium manausense*, *Mezilaurus duckei*, *Mezilaurus itauba* e *Pleurothyrium vasquezii*, quatro espécies amazônicas da família Lauraceae. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, v. 12, n. 5, p. 469-475, 2013.
- ALZAREA, S. I. et al. Antidepressant-like Effects of Renin Inhibitor Aliskiren in an Inflammatory Mouse Model of Depression. **Brain Sciences**, v. 12, n. 5, p. 655, 17 maio 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/brainsci12050655>
- Aniba canelilla (Kunth) Mez | **Plants of the World Online** | Kew Science. Disponível em: <<http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:13816-2>>. Acesso em: 22 fev. 2024.
- Aniba canelilla. Disponível em: <<https://plantidtools.fieldmuseum.org/pt/rrc/catalogue/294040>>. Acesso em: 22 fev. 2024.
- BACHILLER, S. et al. Microglia in Neurological Diseases: A Road Map to Brain-Disease Dependent-Inflammatory Response. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 12, p. 488, 18 dez. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00488>
- BADKE, M. R. et al. Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais. **Texto & Contexto - Enfermagem**, v. 21, n. 2, p. 363–370, jun. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0104-07072012000200014>
- BADSHAH, H.; ALI, T.; KIM, M. O. Osmotin attenuates LPS-induced neuroinflammation and memory impairments via the TLR4/NF κ B signaling pathway. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 24493, 20 abr. 2016. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep24493>
- BAJPAI, A. et al. Oxidative Stress and Major Depression. **Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR**, v. 8, n. 12, p. CC04–CC07, dez. 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4316245/>
- BAKUNINA, N.; PARIANTE, C. M.; ZUNSZAIN, P. A. Immune mechanisms linked to depression via oxidative stress and neuroprogression. **Immunology**, v. 144, n. 3, p. 365–373, mar. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4557673/>

BARBOSA, T. D. M., BAITELLO, J. B., MORAES, P. L. R.. A família Lauraceae Juss. no município de Santa Teresa, Espírito Santo. *Bol. Mus. Biol. Mello Leitão* 30, 5–178. 2012.

BATISTA, P. A. et al. Evidence for the involvement of ionotropic glutamatergic receptors on the antinociceptive effect of (-)-linalool in mice. **Neuroscience Letters**, v. 440, n. 3, p. 299–303, ago. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.05.092>

BECHER, B.; SPATH, S.; GOVERMAN, J. Cytokine networks in neuroinflammation. **Nature Reviews Immunology**, v. 17, n. 1, p. 49–59, jan. 2017. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nri.2016.123>

BEHZADI, P.; GARCÍA-PERDOMO, H. A.; KARPIŃSKI, T. M. Toll-Like Receptors: General Molecular and Structural Biology. **Journal of Immunology Research**, v. 2021, p. 1–21, 29 maio 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2021/9914854>

BHATT, S.; NAGAPPA, A. N.; PATIL, C. R. Role of oxidative stress in depression. **Drug Discovery Today**, v. 25, n. 7, p. 1270–1276, jul. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.05.001>

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, v. 72, p. 248-54, May 7 1976.

BREDEHÖFT, J. et al. SK-Channel Activation Alters Peripheral Metabolic Pathways in Mice, but Not Lipopolysaccharide-Induced Fever or Inflammation. **Journal of Inflammation Research**, v. Volume 15, p. 509–531, jan. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/JIR.S338812>

BRENES, J.C.; PADILLA, M.; FORNAGUERA, J. **A detailed analysis of open-field habituation and behavioral and neurochemical antidepressant-like effects in postweaning enriched rats.** Behavioural Brain Research. 2009.

BRITES, D.; FERNANDES, A. Neuroinflammation and Depression: Microglia Activation, Extracellular Microvesicles and microRNA Dysregulation. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 9, 17 dez. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00476>

BRITO, Teresinha S. et al. The vasorelaxant effects of 1-nitro-2-phenylethane involve stimulation of the soluble guanylate cyclase-cGMP pathway. **Biochemical Pharmacology**, v. 85, n. 6, p. 780-788, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.12.012>

BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. D. M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu - Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 17, n. 10, p. 2675–2685, out. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232012001000017>

Busca por medicamentos para a saúde mental cresce a cada ano no Brasil. Disponível em: <<https://jornal.usp.br/atualidades/busca-por-medicamentos-para-a-saude-mental-cresce-a-cada-ano-no-brasil/>>

CABALLERO-SERRANO, V. et al. Traditional ecological knowledge and medicinal plant diversity in Ecuadorian Amazon home gardens. **Global Ecology and Conservation**, v. 17, p. e00524, jan. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00524>

CAPASSO, R. et al. Phytotherapy and quality of herbal medicines. **Fitoterapia**, v. 71, p. S58–S65, ago. 2000. Disponível em: 10.1016/s0367-326x(00)00173-8

CARDOSO, Eloise K. Serrão; KUBOTA, Karen; LUZ, Diandra Araújo; et al. Aniba canelilla (Kunth) Mez (Lauraceae) Essential Oil: Effects on Oxidative Stress and Vascular Permeability. *Antioxidants*, v. 11, n. 10, p. 1903, 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-3921/11/10/1903>>.

CARTÁGENES, Sabrina De Carvalho; DA SILVEIRA, Cinthia Cristina Sousa De Menezes; PINHEIRO, Bruno Gonçalves; et al. "K-Powder" Exposure during Adolescence Elicits Psychiatric Disturbances Associated with Oxidative Stress in Female Rats. *Pharmaceuticals*, v. 15, n. 11, p. 1373, 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1424-8247/15/11/1373>>.

CARVALHO, A. F. et al. The Safety, Tolerability and Risks Associated with the Use of Newer Generation Antidepressant Drugs: A Critical Review of the Literature. *Psychotherapy and Psychosomatics*, v. 85, n. 5, p. 270–288, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000447034>

CHAVAN, M. J.; WAKTE, P. S.; SHINDE, D. B. Analgesic and anti-inflammatory activity of Caryophyllene oxide from *Annona squamosa* L. bark. *Phytomedicine*, v. 17, n. 2, p. 149–151, fev. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.05.016>

CHEN, L. et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, v. 9, n. 6, p. 7204–7218, 14 dez. 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5805548/>

CORDEIRO, Rafaela Carneiro; CHAVES FILHO, Adriano José Maia; GOMES, Nayana Soares; et al. Leptin Prevents Lipopolysaccharide-Induced Depressive-Like Behaviors in Mice: Involvement of Dopamine Receptors. *Frontiers in Psychiatry*, v. 10, 2019. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/journals/psychiatry/articles/10.3389/fpsyt.2019.00125/full>>.

CORONA, A. W. et al. Fractalkine receptor (CX3CR1) deficiency sensitizes mice to the behavioral changes induced by lipopolysaccharide. *Journal of Neuroinflammation*, v. 7, n. 1, p. 93, 17 dez. 2010. Disponível em: <https://jneuroinflammation.biomedcentral.com/articles/10.1186/1742-2094-7-93>

COSKER, F. et al. Cytoprotective effect of 1-nitro-2-phenylethane in mice pancreatic acinar cells subjected to taurocholate: Putative role of guanylyl cyclase-derived 8-nitro-cyclic-GMP. *Biochemical Pharmacology*, v. 91, n. 2, p. 191–201, set. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2014.07.030>

COUCH, Yvonne; XIE, Qin; LUNDBERG, Louise; et al. A Model of Post-Infection Fatigue Is Associated with Increased TNF and 5-HT_{2A} Receptor Expression in Mice. *PLOS ONE*, v. 10, n. 7, p. e0130643, 2015. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0130643>>.

CRUZ, E. D. N. S. D. et al. Seasonal Variation in Essential Oil Composition and Antioxidant Capacity of Aniba canelilla (Lauraceae): A Reliable Source of 1-Nitro-2-phenylethane. *Molecules*, v. 28, n. 22, p. 7573, 14 nov. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules28227573>

CRUZ, Ellen de Nazaré S. da et al. Seasonal Variation in Essential Oil Composition and Antioxidant Capacity of Aniba canelilla (Lauraceae): A Reliable Source of 1-Nitro-2-phenylethane. *Molecules*, v. 28, n. 22, p. 7573, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules28227573>

CRYAN, John F.; MARKOU, Athina; LUCKI, Irwin. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends in pharmacological sciences*, v. 23, n. 5, p. 238-245, 2002. Disponível: [https://www.cell.com/AJHG/fulltext/S0165-6147\(02\)02017-5](https://www.cell.com/AJHG/fulltext/S0165-6147(02)02017-5)

DA SILVA, J. et al. Chemical Diversity, Biological Activity, and Genetic Aspects of Three *Ocotea* Species from the Amazon. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 18, n. 5, p. 1081, 18 maio 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms18051081>

DA SILVA, Joyce Kelly R. et al. Antioxidant capacity and cytotoxicity of essential oil and methanol extract of *Aniba canelilla* (HBK) Mez. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 23, p. 9422-9426, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf071928e>

DE CAMPOS, Daniele L. et al. *Aniba canelilla* (Kunth) Mez essential oil and its primary constituent, 1-nitro-2-phenylethane, inhibits acetylcholinesterase and reverse memory impairment in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 303, p. 116036, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.116036>

DE LIMA, Anderson B. et al. Antinociceptive activity of 1-nitro-2-phenylethane, the main component of *Aniba canelilla* essential oil. **Phytomedicine**, v. 16, n. 6-7, p. 555-559, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.10.007>

DE SIQUEIRA, Rodrigo Jose Bezerra et al. 1-Nitro-2-phenylethane, the main constituent of the essential oil of *Aniba canelilla*, elicits a vago-vagal bradycardiac and depressor reflex in normotensive rats. **European journal of pharmacology**, v. 638, n. 1-3, p. 90-98, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.03.060>

DE SOUSA, T. J. D. et al. Plantas medicinales como alternativa terapéutica para el trastorno Depresivo Mayor (DMD). **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 13, n. 2, p. e5646, 6 fev. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.25248/reas.e5646.2021>

DELGADO, C.; MENDEZ-CALLEJAS, G.; CELIS, C. Caryophyllene Oxide, the Active Compound Isolated from Leaves of *Hymenaea courbaril* L. (Fabaceae) with Antiproliferative and Apoptotic Effects on PC-3 Androgen-Independent Prostate Cancer Cell Line. **Molecules**, v. 26, n. 20, p. 6142, 12 out. 2021. Disponível em: [10.3390/molecules26206142](https://doi.org/10.3390/molecules26206142)

Depression and Other Common Mental Disorders. Disponível em: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/depression-global-health-estimates>.

DISABATO, D. J.; QUAN, N.; GODBOUT, J. P. Neuroinflammation: the devil is in the details. **Journal of Neurochemistry**, v. 139, n. S2, p. 136–153, out. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jnc.13607>

DOS SANTOS, Éverton Renan Quaresma; PANTOJA, Lucas Villar Pedrosa da Silva; FARIAS, Sarah Viana; *et al.* Linalool-rich rosewood essential oil (*Aniba rosaeodora* Ducke) mitigates emotional and neurochemical impairments induced by ethanol binge-like exposure during adolescence in female rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 178, p. 117120, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332224010047>.

DOUGNON, G.; ITO, M. Essential Oil from the Leaves of *Chromolaena odorata*, and Sesquiterpene Caryophyllene Oxide Induce Sedative Activity in Mice. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 7, p. 651, 6 jul. 2021. Disponível em: [10.3390/ph14070651](https://doi.org/10.3390/ph14070651)

DREVETS, W. C.; PRICE, J. L.; FUREY, M. L. Brain structural and functional abnormalities in mood disorders: implications for neurocircuitry models of depression. **Brain Structure and Function**, v. 213, n. 1–2, p. 93–118, set. 2008. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00429-008-0189-x>

DUCOTTET, Cecile; GRIEBEL, Guy; BELZUNG, Catherine. Effects of the selective nonpeptide corticotropin-releasing factor receptor 1 antagonist antalarmin in the chronic mild stress model of depression in mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 27, n. 4, p. 625– 631, 2003.

DUTRA, R. C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 4–29, out. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.01.021>

ELISABETSKY, E.; SILVA BRUM, L. F.; SOUZA, D. O. Anticonvulsant properties of linalool in glutamate-related seizure models. **Phytomedicine**, v. 6, n. 2, p. 107–113, maio 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0944-7113\(99\)80044-0](https://doi.org/10.1016/S0944-7113(99)80044-0)

FAJEMIROYE, J. O. et al. Treatment of anxiety and depression: medicinal plants in retrospect. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 30, n. 3, p. 198–215, jun. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/fcp.12186>

FERNANDES, L. M. P. et al. Repeated Cycles of Binge-Like Ethanol Intake in Adolescent Female Rats Induce Motor Function Impairment and Oxidative Damage in Motor Cortex and Liver, but Not in Blood. **Oxidative medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, p. 1–14, 19 set. 2018. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6169231/>

FERREIRA MELLO, B. S. et al. Effects of doxycycline on depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide (LPS) administration. **Journal of Psychiatric Research**, v. 47, n. 10, p. 1521–1529, out. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2013.06.008>

FIGUEREDO, C. A. D.; GURGEL, I. G. D.; GURGEL JUNIOR, G. D. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 24, n. 2, p. 381–400, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-73312014000200004>

FU, H. Q. et al. Prolonged Neuroinflammation after Lipopolysaccharide Exposure in Aged Rats. **PLOS ONE**, v. 9, n. 8, p. e106331, 29 ago. 2014. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0106331>

GARCEZ, M. L. et al. Sodium Butyrate and Indole-3-propionic Acid Prevent the Increase of Cytokines and Kynurenine Levels in LPS-induced Human Primary Astrocytes. **International Journal of Tryptophan Research**, v. 13, p. 117864692097840, jan. 2020. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1178646920978404>

GILL, H. et al. Antidepressant Medications and Weight Change: A Narrative Review. **Obesity**, v. 28, n. 11, p. 2064–2072, nov. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/oby.22969>

GIONGO, J. L. et al. Trypanocidal activity of the compounds present in Aniba canelilla oil against *Trypanosoma evansi* and its effects on viability of lymphocytes. **Microbial Pathogenesis**, v. 103, p. 13–18, fev. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.12.006>

GIRIDHARAN, Sivagami; SRINIVASAN, Mythily. Mechanisms of NF- κ B p65 and strategies for therapeutic manipulation. **Journal of Inflammation Research**, v. 11, p. 407, 2018. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6217131/>.

GONÇALVES, José Francisco de Carvalho et al. Growth, photosynthesis and stress indicators in young rosewood plants (*Aniba rosaeodora* Ducke) under different light intensities. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, p. 325-334, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000300007>

GONZAGA-COSTA, K. et al. The soluble guanylate cyclase stimulator, 1-nitro-2-phenylethane, reverses monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats. **Life Sciences**, v. 275, p. 119334, jun. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119334>

GOTTLIEB, O. R. Chemosystematics of the Lauraceae. **Phytochemistry**, v. 11, n. 5, p. 1537-1570, 1972. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(72\)85001-5](https://doi.org/10.1016/0031-9422(72)85001-5)

GOUDARZI, S.; RAFIEIRAD, M. Evaluating the effect of α -pinene on motor activity, avoidance memory and lipid peroxidation in animal model of Parkinson disease in adult male rats. **Res J Pharmacog**, v. 4, n. 2, p. 53-63, 2017.

GRANGER, D. L. et al. [6] Measuring nitric oxide production in human clinical studies. Em: *Methods in Enzymology*. [s.l.] Elsevier, 1999. v. 301p. 49–61.

GRECCO, S. S. et al. Update: biological and chemical aspects of *Nectandra* genus (Lauraceae). *Tetrahedron: Asymmetry*, v. 27, n. 17–18, p. 793–810, out. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2016.07.009>

GREEN, L. C. et al. Nitrate biosynthesis in man. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 78, n. 12, p. 7764-8, Dec 1981.

GRYGIEL-GÓRNIAK, B.; LIMPHAIBOOL, N.; PUSZCZEWICZ, M. Cytokine secretion and the risk of depression development in patients with connective tissue diseases. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**, v. 73, n. 6, p. 302–316, jun. 2019. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/pcn.12826>

GUO, B. et al. Neuroinflammation mechanisms of neuromodulation therapies for anxiety and depression. **Translational Psychiatry**, v. 13, n. 1, p. 5, 9 jan. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41398-022-02297-y>

HAMON, M.; BLIER, P. Monoamine neurocircuitry in depression and strategies for new treatments. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 45, p. 54–63, ago. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.04.009>

HARSANYI, S. et al. Selected Biomarkers of Depression: What Are the Effects of Cytokines and Inflammation? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 1, p. 578, jan. 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/1/578>

HARTLEY, C. A.; PHELPS, E. A. Changing Fear: The Neurocircuitry of Emotion Regulation. **Neuropsychopharmacology**, v. 35, n. 1, p. 136–146, 26 ago. 2009. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/npp2009121>

HEIDARI, A.; YAZDANPANA, N.; REZAEI, N. The role of Toll-like receptors and neuroinflammation in Parkinson's disease. **Journal of Neuroinflammation**, v. 19, n. 1, p. 135, 6 jun. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12974-022-02496-w>

HEINRICH, M. et al. Medicinal plants in Mexico: healers' consensus and cultural importance. **Social Science & Medicine**, v. 47, n. 11, p. 1859–1871, dez. 1998. Disponível em: 10.1016/s0277-9536(98)00181-6

HENSSLER, J. et al. Antidepressant Withdrawal and Rebound Phenomena. *Deutsches Ärzteblatt international*, 17 maio 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3238%2Farztebl.2019.0355>

HERNANDEZ-LEON, A. et al. Role of β -Caryophyllene in the Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects of *Tagetes lucida* Cav. Essential Oil. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 675, 5 fev. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25030675>

HUO, M. et al. Anti-inflammatory effects of linalool in RAW 264.7 macrophages and lipopolysaccharide-induced lung injury model. **Journal of Surgical Research**, v. 180, n. 1, p. e47–e54, mar. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jss.2012.10.050>

HURLEY, L. L.; TIZABI, Y. Neuroinflammation, Neurodegeneration, and Depression. **Neurotoxicity Research**, v. 23, n. 2, p. 131–144, fev. 2013. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12640-012-9348-1>

INTERAMINENSE, Leylliane de Fátima Leal et al. Cardiovascular effects of 1-nitro-2-phenylethane, the main constituent of the essential oil of Aniba canelilla, in spontaneously hypertensive rats. **Fundamental & clinical pharmacology**, v. 25, n. 6, p. 661-669, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2010.00891.x>

INTERAMINENSE, Leylliane de Fátima Leal et al. Vasorelaxant effects of 1-nitro-2-phenylethane, the main constituent of the essential oil of Aniba canelilla, in superior mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, n. 4-5, p. 709-716, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2012.12.033>

ISINGRINI, Elsa; CAMUS, Vincent; LE GUIQUET, Anne Marie; et al. Association between repeated unpredictable chronic mild stress (UCMS) procedures with a high fat diet: A model of fluoxetine resistance in mice. **PLoS ONE**, v. 5, n. 4, 2010.

JARCZAK, D.; NIERHAUS, A. Cytokine Storm—Definition, Causes, and Implications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 19, p. 11740, jan. 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/19/11740>

JEON, S.-A. et al. NLRP3 Inflammasome Contributes to Lipopolysaccharide-induced Depressive-Like Behaviors via Indoleamine 2,3-dioxygenase Induction. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 20, n. 11, p. 896–906, 1 nov. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyx065>

JESULOLA, Emmanuel; MICALOS, Peter; BAGULEY, Ian J. Understanding the pathophysiology of depression: From monoamines to the neurogenesis hypothesis model-are we there yet?. **Behavioural brain research**, v. 341, p. 79-90, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.12.025>

KALEMBA, D.; KUSEWICZ, D.; ŚWIĄDER, K. Antimicrobial properties of the essential oil of *Artemisia asiatica* Nakai. **Phytotherapy Research**, v. 16, n. 3, p. 288–291, maio 2002. Disponível em: 10.1002/ptr.856

KARTHIKEYAN, R. et al. Alpha pinene modulates UVA-induced oxidative stress, DNA damage and apoptosis in human skin epidermal keratinocytes. **Life Sciences**, v. 212, p. 150–158, nov. 2018. Disponível em: <https://10.1016/j.lfs.2018.10.004>

KHAWAM, E. A.; LAURENCIC, G.; MALONE, D. A. Side effects of antidepressants: an overview. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, v. 73, n. 4, p. 351–353, 1 abr. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.3949/ccjm.73.4.351>

KHOSHNAZAR, M.; PARVARDEH, S.; BIGDELI, M. R. Alpha-pinene exerts neuroprotective effects via anti-inflammatory and anti-apoptotic mechanisms in a rat model of focal cerebral ischemia-reperfusion. **Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases**, v. 29, n. 8, p. 104977, ago. 2020. Disponível em: <https://10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.104977>

KHROUD, N. K.; REDDY, V.; SAADABADI, A. Neuroanatomy, Locus Ceruleus. Em: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022.

KIECOLT-GLASER, J. K.; DERRY, H. M.; FAGUNDES, C. P. Inflammation: Depression Fans the Flames and Feasts on the Heat. **The American journal of psychiatry**, v. 172, n. 11, p. 1075, 11 nov. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6511978/>

KIM, D.-S. et al. Alpha-Pinene Exhibits Anti-Inflammatory Activity Through the Suppression of MAPKs and the NF- κ B Pathway in Mouse Peritoneal Macrophages. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 43, n. 04, p. 731–742, jan. 2015. Disponível em: <https://10.1142/S0192415x15500457>

KIM, Y.-K. et al. The role of pro-inflammatory cytokines in neuroinflammation, neurogenesis and the neuroendocrine system in major depression. **Progress in Neuro Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 64, p. 277–284, 4 jan. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278584615001359?via%3Dihub>

KOHN, H.; LIVERSEDGE, Margaret. ON A NEW AEROBIC METABOLITE WHOSE PRODUCTION BY BRAIN IS INHIBITED BY APOMORPHINE, EMETINE, ERGOTAMINE, EPINEPHRINE, AND MENADIONE. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 1944.

KOPSCHINA FELTES, P. et al. Anti-inflammatory treatment for major depressive disorder: implications for patients with an elevated immune profile and non-responders to standard antidepressant therapy. **Journal of Psychopharmacology**, v. 31, n. 9, p. 1149–1165, set. 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5606303/>

KRAEUTER, Ann-Katrin; GUEST, Paul C.; SARNYAI, Zoltán. The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. In: GUEST, Paul C. (Org.). **Pre-Clinical Models**. New York, NY: Springer New York, 2019, v. 1916, p. 99–103. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-8994-2_9.

KRAFT, A. D.; HARRY, G. J. Features of Microglia and Neuroinflammation Relevant to Environmental Exposure and Neurotoxicity. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 8, n. 7, p. 2980–3018, 20 jul. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijerph8072980>

KWON, H. S.; KOH, S.-H. Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: the roles of microglia and astrocytes. **Translational Neurodegeneration**, v. 9, n. 1, p. 42, dez. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40035-020-00221-2>

LAHLOU, Saad et al. Cardiovascular effects of the essential oil of Aniba canelilla bark in normotensive rats. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 46, n. 4, p. 412-421, 2005. Disponível em: https://journals.lww.com/cardiovascularpharm/fulltext/2005/10000/cardiovascular_effects_of_the_essential_oil_of.3.aspx

LATALIZA, A. A. B. et al. Antidepressant-like effect of rosmarinic acid during LPS -induced neuroinflammatory model: The potential role of cannabinoid receptors/ PPAR - γ signaling pathway. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 12, p. 6974–6989, dez. 2021. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ptr.7318>

LATALIZA, Alexandre Augusto Barros; DE ASSIS, Pollyana Mendonça; DA ROCHA LAURINDO, Larissa; *et al.* Antidepressant-like effect of rosmarinic acid during LPS -induced neuroinflammatory model: The potential role of cannabinoid receptors/ PPAR - γ signaling pathway. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 12, p. 6974–6989, 2021. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.7318>.

LEE, Bombi; YEOM, Mijung; SHIM, Insop; *et al.* Inhibitory effect of carvacrol on lipopolysaccharide-induced memory impairment in rats. **The Korean Journal of Physiology & Pharmacology**, v. 24, n. 1, p. 27, 2020. Disponível em: <https://synapse.koreamed.org/DOIx.php?id=10.4196/kjpp.2020.24.1.27>.

LEE, G.-Y. et al. Amelioration of Scopolamine-Induced Learning and Memory Impairment by α -Pinene in C57BL/6 Mice. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, p. 1–9, 2017. Disponível em: <https://10.1155/2017/4926815>

LEE, Seok; KIM, Hyun-Bum; HWANG, Eun-Sang; *et al.* Antidepressant-like Effects of p-Coumaric Acid on LPS-induced Depressive and Inflammatory Changes in Rats. **Experimental Neurobiology**, v. 27, n. 3, p. 189, 2018. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6050412/>>.

LEITE, P. M.; CAMARGOS, L. M.; CASTILHO, R. O. Recent progress in phytotherapy: A Brazilian perspective. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 41, p. 101270, jan. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2020.101270>

LEONARD, B.; MAES, M. Mechanistic explanations how cell-mediated immune activation, inflammation and oxidative and nitrosative stress pathways and their sequels and concomitants play a role in the pathophysiology of unipolar depression. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 36, n. 2, p. 764–785, 1 fev. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0149763411002120?via%3Dihub>

LI, S. *et al.* Levomilnacipran ameliorates lipopolysaccharide-induced depression-like behaviors and suppressed the TLR4/Ras signaling pathway. **International Immunopharmacology**, v. 122, p. 110595, set. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.110595>

LI, W. *et al.* Ibrutinib alleviates LPS-induced neuroinflammation and synaptic defects in a mouse model of depression. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 92, p. 10–24, fev. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.11.008>

LI, Weifen; ALI, Tahir; ZHENG, Chengyou; *et al.* Fluoxetine regulates eEF2 activity (phosphorylation) via HDAC1 inhibitory mechanism in an LPS-induced mouse model of depression. **Journal of Neuroinflammation**, v. 18, n. 1, p. 38, 2021. Disponível em: <<https://jneuroinflammation.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12974-021-02091-5>>.

LI, Y. *et al.* The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 148, p. 80–89, mar. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>

LI, Z. *et al.* Molecular mechanism overview of metabolite biosynthesis in medicinal plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 204, p. 108125, nov. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.108125>

LIMA, W. D. *et al.* Volatile Constituents of the Leaves of *Aniba hostmanniana* (Lauraceae) and their Antibacterial Activities. *Natural Product Communications*, v. 10, n. 7, p. 1934578X1501000, jul. 2015. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1934578X1501000747>

LINCK, V. D. M. *et al.* Inhaled linalool-induced sedation in mice. **Phytomedicine**, v. 16, n. 4, p. 303–307, abr. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.08.001>

LINCK, V. M. *et al.* Effects of inhaled Linalool in anxiety, social interaction and aggressive behavior in mice. **Phytomedicine**, v. 17, n. 8–9, p. 679–683, jul. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.10.002>

LIU, Fu-yi; CAI, Jing; WANG, Chun; *et al.* Fluoxetine attenuates neuroinflammation in early brain injury after subarachnoid hemorrhage: a possible role for the regulation of TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway. **Journal of Neuroinflammation**, v. 15, n. 1, p. 347, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1388-x>

LOCATELI, Gelvani; DE OLIVEIRA ALVES, Bianca; MIORANDO, Daniela; *et al.* Antidepressant-like effects of solidagenone on mice with bacterial lipopolysaccharide (LPS)-induced depression. **Behavioural Brain Research**, v. 395, p. 112863, 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432820305623>>.

MAIA, José Guilherme S.; ANDRADE, Eloísa Helena A. Database of the Amazon aromatic plants and their essential oils. **Química Nova**, v. 32, p. 595-622, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300006>

MALDANER, J. et al. Bioherbicide and anesthetic potential of Aniba canelilla essential oil, a contribution to the demands of the agricultural sector. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 42, p. 102353, jul. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102353>

MARTINS, J.; S, B. Phytochemistry and pharmacology of anti-depressant medicinal plants: A review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 104, p. 343–365, ago. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.05.044>

MARTINS, J.; S, B. Phytochemistry and pharmacology of anti-depressant medicinal plants: A review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 104, p. 343–365, ago. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.05.044>

MEDIESSE, Francine Kengne; BOUDJEKO, Thaddée; HASITHA, Anantharaju; *et al.* Inhibition of lipopolysaccharide (LPS)-induced neuroinflammatory response by polysaccharide fractions of *Khaya grandifoliola* (C.D.C.) stem bark, *Cryptolepis sanguinolenta* (Lindl.) Schltr and *Cymbopogon citratus* Stapf leaves in raw 264.7 macrophages and U87 glioblastoma cells. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 18, n. 1, p. 86, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12906-018-2156-2>>.

MELLO, Bruna Stefânia; MONTE, Aline Santos; MCINTYRE, Roger S.; *et al.* Effects of doxycycline on depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide (LPS) administration. **Journal of Psychiatric Research**, v. 47, n. 10, p. 1521–1529, 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002239561300191X>>.

MESQUITA, T. J. B. et al. Análise fitoquímica e determinação da capacidade antioxidante em extratos de Aniba canelilla (HBK) Mez. In: **Anais Do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química; Blucher Chemical Engineering Proceedings: Florianópolis, SC, Brazil**. 2014. Disponível em:10.5151/chemeng-cobeq2014-2075-15962-176825

MILLER, A. H.; MALETIC, V.; RAISON, C. L. Inflammation and Its Discontents: The Role of Cytokines in the Pathophysiology of Major Depression. **Biological psychiatry**, v. 65, n. 9, p. 732–741, 1 maio 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2680424/>

MINETO, Alexandre Rolim et al. Development by design of experiment and validation of a HPLC-UV method for simultaneous quantification of 1-nitro-2-phenylethane and methyleugenol: Application to nail permeation/retention studies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 239, p. 115889, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2023.115889>

Mishra, A., Bandopadhyay, R., Singh, P. K., Mishra, P. S., Sharma, N., & Khurana, N. (2021). Neuroinflammation in neurological disorders: Pharmacotherapeutic targets from bench to bedside. *Metabolic Brain Disease*, 36(7), 1591–1626. <https://doi.org/10.1007/s11011-021-00806-4>

MOGHROVYAN, A. et al. Antinociceptive, anti-inflammatory, and cytotoxic properties of *Origanum vulgare* essential oil, rich with β -caryophyllene and β -caryophyllene oxide. **The Korean Journal of Pain**, v. 35, n. 2, p. 140–151, 1 abr. 2022. Disponível em: 10.3344/kjp.2022.35.2.140

MORAIS, A. A. D. et al. Óleos essenciais de espécies do gênero Aniba. *Acta Amazonica*, v. 2, n. 1, p. 41–44, abr. 1972. <https://doi.org/10.1590/1809-43921972021041>

McCORD, J.M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. Na enzyme function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*v. 244, p. 6049-6055, 1969.

MUZIO, L.; VIOTTI, A.; MARTINO, G. Microglia in Neuroinflammation and Neurodegeneration: From Understanding to Therapy. **Frontiers in Neuroscience**, v. 15, p. 742065, 24 set. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.742065>

NAFIS, A. et al. Antioxidant activity and evidence for synergism of Cannabis sativa (L.) essential oil with antimicrobial standards. **Industrial Crops and Products**, v. 137, p. 396–400, out. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.032>

OGUNDELE, O. M. et al. Glia activation and its role in oxidative stress. **Metabolic Brain Disease**, v. 29, n. 2, p. 483–493, 1 jun. 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11011-013-9446-7>

OHGI, Yuta; FUTAMURA, Takashi; KIKUCHI, Tetsuro; *et al.* Effects of antidepressants on alternations in serum cytokines and depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 103, n. 4, p. 853–859, 2013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091305712003279>.

OLIVEIRA, C; LIMA, T; CAROBREZ, A. Structure of the rat behaviour in the forced swimming test. **Behavioural Brain Research**, v. 158, n. 2, p. 243–250, 2005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432804003626>.

OYEMITAN, Idris Ajayi et al. Hypnotic, anticonvulsant and anxiolytic effects of 1-nitro-2-phenylethane isolated from the essential oil of *Dennettia tripetala* in mice. **Phytomedicine**, v. 20, n. 14, p. 1315-1322, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2013.07.005>

PALAZIDOU, E. The neurobiology of depression. **British Medical Bulletin**, v. 101, n. 1, p. 127–145, 14 fev. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/bmb/lds004>

PANT, P.; PANDEY, S.; DALL'ACQUA, S. The Influence of Environmental Conditions on Secondary Metabolites in Medicinal Plants: A Literature Review. **Chemistry & Biodiversity**, v. 18, n. 11, p. e2100345, nov. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100345>

PARK, B. S.; LEE, J.-O. Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 45, n. 12, p. e66–e66, dez. 2013. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/emm201397>

PARK, C. et al. Stress, epigenetics and depression: A systematic review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 102, p. 139–152, jul. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.04.010>

PARK, K.-R. et al. β -Caryophyllene oxide inhibits growth and induces apoptosis through the suppression of PI3K/AKT/mTOR/S6K1 pathways and ROS-mediated MAPKs activation. **Cancer Letters**, v. 312, n. 2, p. 178–188, dez. 2011. Disponível em: 10.1016/j.canlet.2011.08.001

PASSOS, B. G. et al. Essential oils from *Ocotea* species: Chemical variety, biological activities and geographic availability. **Fitoterapia**, v. 156, p. 105065, jan. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2021.105065>

PEANA, A. T. et al. (-)-Linalool inhibits in vitro NO formation: Probable involvement in the antinociceptive activity of this monoterpene compound. **Life Sciences**, v. 78, n. 7, p. 719–723, jan. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.05.065>

PEANA, A. T. et al. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. **Phytomedicine**, v. 9, n. 8, p. 721–726, jan. 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1078/094471102321621322>

PEANA, Alessandra Tiziana et al. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. **Phytomedicine**, v. 9, n. 8, p. 721-726, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1078/094471102321621322>

PEKONY, M. et al. Astrocytes: a central element in neurological diseases. *Acta Neuropathologica*, v. 131, n. 3, p. 323–345, 1 mar. 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00401-015-1513-1>

PERCÁRIO, S., VITAL, A., & JABLONKA, F. (1994). **Dosagem do malondialdeído (MDA)**. *NewsLab*, 2(6), 46–50.

PICCA, A. et al. Mitochondrial Dysfunction, Oxidative Stress, and Neuroinflammation: Intertwined Roads to Neurodegeneration. **Antioxidants**, v. 9, n. 8, p. 647, 22 jul. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox9080647>

PIERRE, W. C. et al. Alteration of the brain methylation landscape following postnatal inflammatory injury in rat pups. **The FASEB Journal**, v. 34, n. 1, p. 432–445, jan. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1096/fj.201901461R>

PLOSKI, J. E.; VAIDYA, V. A. The Neurocircuitry of Posttraumatic Stress Disorder and Major Depression: Insights Into Overlapping and Distinct Circuit Dysfunction—A Tribute to Ron Duman. **Biological Psychiatry**, v. 90, n. 2, p. 109–117, jul. 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8383211/>

PORSOLT; M, Le Pichon; M, Jalfre. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v. 266, n. April, p. 730–732, 1977.

PRICE, J. L.; DREVETS, W. C. Neurocircuitry of Mood Disorders. **Neuropsychopharmacology**, v. 35, n. 1, p. 192–216, 19 ago. 2009. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/npp2009104>

QIN, L. et al. Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. **Glia**, v. 55, n. 5, p. 453–462, abr. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/glia.20467>

QUEIROZ, Letícia Yoshitome; DE OLIVEIRA, Igor Gonçalves; CARTÁGENES, Sabrina de Carvalho; et al. Repeated cycles of binge-like ethanol exposure induces neurobehavioral changes during short- and long-term withdrawal in adolescent female rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, p. 7207755, 2022. Disponível em:

Quinet, A., Baitello, J. B., Moraes, P. L. R., de Assis, L., Alves, F. M. (2015). *Lauraceae*, in *Lista de Espécies da Flora do Brasil, Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB143>

Ribeiro, J. E. L. S., Hopkins, M. J. G., Vicentini, A., Sothers, C. A., Costa, M. A. S., Brito, J. M., et al. (1999). *Flora da Reserva Ducke: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central* (Manaus: INPA).

RODRIGUES, E.; CARLINI, E. A. Plants used by a Quilombola group in Brazil with potential central nervous system effects. **Phytotherapy Research**, v. 18, n. 9, p. 748–753, set. 2004. Disponível em: 10.1002/ptr.1535

RODRIGUES, F. T. S. et al. Major depression model induced by repeated and intermittent lipopolysaccharide administration: Long-lasting behavioral, neuroimmune and neuroprogressive alterations. **Journal of Psychiatric Research**, v. 107, p. 57–67, dez. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2018.10.003>

ROHWER, Jens G. Lauraceae. In: **Flowering Plants- Dicotyledons: Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid Families**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1993. p. 366-391.

SAIN, Soumyadeep et al. Beta caryophyllene and caryophyllene oxide, isolated from *Aegle marmelos*, as the potent anti-inflammatory agents against lymphoma and neuroblastoma cells. **Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents)**, v. 13, n. 1, p. 45-55, 2014. Disponível em: [10.2174/18715230113129990016](https://doi.org/10.2174/18715230113129990016)

SALAZAR, Alexander; GONZALEZ-RIVERA, Bryan L.; REDUS, Laney; *et al.* Indoleamine 2,3-dioxygenase mediates anhedonia and anxiety-like behaviors caused by peripheral lipopolysaccharide immune challenge. **Hormones and Behavior**, v. 62, n. 3, p. 202–209, 2012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0018506X12000992>.

SAMEER, A. S.; NISSAR, S. Toll-Like Receptors (TLRs): Structure, Functions, Signaling, and Role of Their Polymorphisms in Colorectal Cancer Susceptibility. **BioMed Research International**, v. 2021, p. 1–14, 12 set. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2021/1157023>

SAMEER, A. S.; NISSAR, S. Toll-Like Receptors (TLRs): Structure, Functions, Signaling, and Role of Their Polymorphisms in Colorectal Cancer Susceptibility. **BioMed Research International**, v. 2021, p. 1–14, 12 set. 2021. Disponível em: [10.1155/2021/1157023](https://doi.org/10.1155/2021/1157023)

SAMPAIO, L. D. F. S. et al. Linalool from Rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) Oil Inhibits Adenylate Cyclase in the Retina, Contributing to Understanding its Biological Activity. **Phytotherapy Research**, v. 26, n. 1, p. 73–77, jan. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ptr.3518>

SANTOS, Everton Renan Quaresma dos. Óleos essenciais ricos em linalol (*Aniba Rosaeodora*, *A. Parviflora* e *Acollanthus Suaveolens*) na Amazônia e seus efeitos neurocomportamentais em roedores. Orientador: José Guilherme Soares Maia. 2017. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, Belém, 2017. Disponível em: <http://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/10542>.

SANTOS, F. M. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from the leaves and flowers of *Aloysia gratissima*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 583–588, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000400015>

SASIBHUSHANA, R.B.; SHANKARANARAYANA RAO, B.S.; SRIKUMAR, Bettadapura N. Repeated finasteride administration induces depression-like behavior in adult male rats. **Behavioural Brain Research**, v. 365, p. 185–189, 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432818314505>.

SEN, T.; SAMANTA, S. K. Medicinal Plants, Human Health and Biodiversity: A Broad Review. Em: MUKHERJEE, J. (Ed.). **Biotechnological Applications of Biodiversity**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2014. v. 147p. 59–110. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/10_2014_273

SHABAB, T. et al. Neuroinflammation pathways: a general review. **International Journal of Neuroscience**, v. 127, n. 7, p. 624–633, 3 jul. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00207454.2016.1212854>

SHAO, F. et al. Microglia and Neuroinflammation: Crucial Pathological Mechanisms in Traumatic Brain Injury-Induced Neurodegeneration. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 14, p. 825086, 25 mar. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.825086>

SHARAPOV, M. G. et al. Role of Glutathione Peroxidases and Peroxiredoxins in Free Radical-Induced Pathologies. **Biochemistry (Moscow)**, v. 86, n. 11, p. 1418–1433, nov. 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1134/S0006297921110067>

SHAW, D. et al. Anxiolytic effects of lavender oil inhalation on open-field behaviour in rats. **Phytomedicine**, v. 14, n. 9, p. 613–620, set. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2007.03.007>

SILVA, A. C. R. D. et al. Biological Activities of α -Pinene and β -Pinene Enantiomers. *Molecules*, v. 17, n. 6, p. 6305–6316, 25 maio 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules17066305>

SILVA, Geverson Façanha da et al. Estudo do potencial biotecnológico de Aniba canelilla (HBK) Mez para obtenção de cosméticos. 2012. Disponível em: <http://repositorioinstitucional.uea.edu.br/handle/riuea/2412>

SKRZYPCZAK-WIERCIOCH, A.; SAŁAT, K. Lipopolysaccharide-Induced Model of Neuroinflammation: Mechanisms of Action, Research Application and Future Directions for Its Use. **Molecules**, v. 27, n. 17, p. 5481, 26 ago. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules27175481>

SOEUR, J. et al. Selective cytotoxicity of Aniba rosaeodora essential oil towards epidermoid cancer cells through induction of apoptosis. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 718, n. 1–2, p. 24–32, jan. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2010.10.009>

SOFRONIEW, M. V.; VINTERS, H. V. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathologica*, v. 119, n. 1, p. 7–35, 1 jan. 2010. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00401-009-0619-8>

SOLTANI KHABOUSHAN, A.; YAZDANPANA, N.; REZAEI, N. Neuroinflammation and Proinflammatory Cytokines in Epileptogenesis. **Molecular Neurobiology**, v. 59, n. 3, p. 1724–1743, 1 mar. 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12035-022-02725-6>

SOUSA, P. J. C. et al. Phytochemical and Toxicological Evaluations of the Essential Oil From the Bark of Aniba canelilla (HBK) Mez. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, n. 4, p. 381–384, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10412905.2009.9700197>

SOUZA-JUNIOR, F. J. C.; CUNHA, L. C.; LISBOA, S. F. Toll-like receptor 4 in the interface between neuroimmune response and behavioral alterations caused by stress. **Exploration of Neuroprotective Therapy**, p. 182–209, 31 out. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.37349/ent.2022.00028>

SQUILLACE, S.; SALVEMINI, D. Toll-like receptor-mediated neuroinflammation: relevance for cognitive dysfunctions. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 43, n. 9, p. 726–739, set. 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9378500/>

STREIT, W. J.; MRAK, R. E.; GRIFFIN, W. S. T. Microglia and neuroinflammation: a pathological perspective. **Journal of Neuroinflammation**, v. 1, n. 1, p. 14, 2004. Disponível em: <https://jneuroinflammation.biomedcentral.com/articles/10.1186/1742-2094-1-14>

SUBHRAMANYAM, C. S. et al. Microglia-mediated neuroinflammation in neurodegenerative diseases. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 94, p. 112–120, out. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.05.004>

SUNESON, K. et al. Inflammatory Depression—Mechanisms and Non-Pharmacological Interventions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, p. 1640, 6 fev. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms22041640>

SWIERGIEL, Artur H.; DUNN, Adrian J. Effects of Interleukin-1 β and Lipopolysaccharide on Behavior of Mice in the Elevated Plus-Maze and Open Field Tests. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 86, n. 4, p. 651, 2007. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2014736/>

TAKSANDE, Brijesh G.; FALDU, Dharmesh S.; DIXIT, Madhura P.; *et al.* Agmatine attenuates chronic unpredictable mild stress induced behavioral alteration in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 720, n. 1–3, p. 115–120, 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014299913008029>>.

TAVEIRA, Francisca Socorro N. *et al.* Seasonal essential oil variation of Aniba canelilla. **Biochemical systematics and ecology**, v. 31, n. 1, p. 69-75, 2003.

TELEANU, D. M. *et al.* An Overview of Oxidative Stress, Neuroinflammation, and Neurodegenerative Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 11, p. 5938, 25 maio 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms23115938>

TELES, A. M. *et al.* Aniba rosaeodora (Var. amazonica Ducke) Essential Oil: Chemical Composition, Antibacterial, Antioxidant and Antitrypanosomal Activity. **Antibiotics**, v. 10, n. 1, p. 24, 30 dez. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010024>

TOMAZ, V.S.; CORDEIRO, R.C.; COSTA, A.M.N.; *et al.* Antidepressant-like effect of nitric oxide synthase inhibitors and sildenafil against lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice. **Neuroscience**, v. 268, p. 236–246, 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306452214002383>>.

TROUBAT, R. *et al.* Neuroinflammation and depression: A review. **European Journal of Neuroscience**, v. 53, n. 1, p. 151–171, jan. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ejn.14720>

VALE, Joyce KL *et al.* Evaluation and theoretical study on the anti-inflammatory mechanism of 1-nitro-2-phenylethane. **Planta medica**, p. 628-633, 2013. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0032-1328402>

VARATHARAJ, Aravinthan; GALEA, Ian. The blood-brain barrier in systemic inflammation. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 60, p. 1–12, 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159116300551>>.

VERKHRATSKY, A.; NEDERGAARD, M.; HERTZ, L. Why are Astrocytes Important? **Neurochemical Research**, v. 40, n. 2, p. 389–401, 1 fev. 2015. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11064-014-1403-2>

WANG, H. *et al.* Microglia in depression: an overview of microglia in the pathogenesis and treatment of depression. **Journal of Neuroinflammation**, v. 19, n. 1, p. 132, 6 jun. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12974-022-02492-0>

WANG, H. *et al.* Microglia in depression: an overview of microglia in the pathogenesis and treatment of depression. **Journal of Neuroinflammation**, v. 19, n. 1, p. 132, 6 jun. 2022. Disponível em: 2 <https://doi.org/10.1186/s12974-022-02492-0>

WANG, X.; QUINN, P. J. Lipopolysaccharide: Biosynthetic pathway and structure modification. **Progress in Lipid Research**, v. 49, n. 2, p. 97–107, abr. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2009.06.002>

WEI, N. *et al.* The Sesquiterpene, Selin-11-en-4 α -ol, from *Artemisia vulgaris* Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Responses in RAW264.7 Cells via MAPK and NF- κ B Signaling Pathways. **Natural Product Communications**, v. 18, n. 11, nov. 2023. Disponível em: [10.1177/1934578X231207268](https://doi.org/10.1177/1934578X231207268)

WOODBURN, S. C.; BOLLINGER, J. L.; WOHLEB, E. S. The semantics of microglia activation: neuroinflammation, homeostasis, and stress. **Journal of Neuroinflammation**, v. 18, n. 1, p. 258, 6 nov. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12974-021-02309-6>

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Depressive disorder (depression)**. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>.

XAVIER, J. K. A. M. et al. Chemical Diversity and Biological Activities of Essential Oils from Licaria, Nectrandra and Ocotea Species (Lauraceae) with Occurrence in Brazilian Biomes. *Biomolecules*, v. 10, n. 6, p. 869, 5 jun. 2020. Disponível: <https://doi.org/10.3390/biom10060869>

XAVIER, Julia Karla AM et al. Essential oil composition and DNA barcode and identification of Aniba species (Lauraceae) growing in the Amazon region. *Molecules*, v. 26, n. 7, p. 1914, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules26071914>

XIE, Yongyan; FANG, Cong; LU, Longhui; et al. Extract of *Tinospora sinensis* alleviates LPS-induced neuroinflammation in mice by regulating TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 337, p. 118807, 2025. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874124011061>>.

YANKELEVITCH-YAHAV, Roni; FRANKO, Motty; HULY, Avraham; et al. The Forced Swim Test as a Model of Depressive-like Behavior. *Journal of Visualized Experiments*, n. 97, p. 52587, 2015. Disponível em: <<https://app.jove.com/v/52587>>.

YIN, J. et al. The Role of Microglia and Macrophages in CNS Homeostasis, Autoimmunity, and Cancer. *Journal of Immunology Research*, v. 2017, p. 1–12, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2017/5150678>

YIN, R. et al. Lipopolysaccharide-induced depression-like model in mice: meta-analysis and systematic evaluation. *Frontiers in Immunology*, v. 14, p. 1181973, 8 jun. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1181973>

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Química Nova*, v. 24, p. 147–152, fev. 2001. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/xKJp5JFgRDh7wbsfLD5kKVR/>

ZAŁUSKI, D.; JANECKO, Z. Variation in phytochemicals and bioactivity of the fruits of *Eleutherococcus* species cultivated in Poland. *Natural Product Research*, v. 29, n. 23, p. 2207–2211, 2 dez. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.1002091>

ZAMYAD, M. et al. The anticonvulsant effects of *Ducrosia anethifolia* (Boiss) essential oil are produced by its main component alpha-pinene in rats. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, v. 77, n. 2, p. 106–114, fev. 2019. Disponível em: <https://10.1590/0004-282X20180147>

ZHANG, Bo; WANG, Ping-Ping; HU, Kai-Li; et al. Antidepressant-Like Effect and Mechanism of Action of Honokiol on the Mouse Lipopolysaccharide (LPS) Depression Model. *Molecules*, v. 24, n. 11, p. 2035, 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/24/11/2035>>.

ZHANG, Feng; ZHOU, Hui; WILSON, Belinda C.; et al. Fluoxetine protects neurons against microglial activation-mediated neurotoxicity. *Parkinsonism & Related Disorders*, v. 18, p. S213–S217, 2012. Disponível: [https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(11\)70066-9](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(11)70066-9)

ZHAO, J. et al. Neuroinflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment in mice. *Scientific Reports*, v. 9, n. 1, p. 5790, 8 abr. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42286-8>

ZHU, Lihong; BI, Wei; LU, Dan; et al. Regulation of ubiquitin-specific processing protease 8 suppresses neuroinflammation. *Molecular and Cellular Neuroscience*, v. 64, p. 74–83, 2015.

ZOGHBI, Maria das Gracas Bichara; SALOMÃO, Rafael de Paiva; GUILHON, Giselle Maria Skelding Pinheiro. Leaf essential oils of *Dicypellium caryophyllaceum* (Mart.) Nees (Lauraceae): an almost extinct species in the Amazon. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 2013.



ANEXO



ANEXO

ANEXO A – Certificado de Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa



UFPA
Universidade Federal do Pará

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeitos do óleo essencial de Aniba canelilla no processo de neuroinflamação.", protocolada sob o CEUA nº 5320260521 (ID 001693), sob a responsabilidade de **Enéas de Andrade Fontes Júnior e equipe; Pablo Henrique Franco Santos de Souza; Eloise Karoline Serrão Cardoso; Pablo Luis Baia Figueiredo** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Pará (CEUA/UFPA) na reunião de 24/06/2021.

We certify that the proposal "Effects of Aniba canelilla essential oil on the neuroinflammation process.", utilizing 120 Heterogenics rats (120 males), protocol number CEUA 5320260521 (ID 001693), under the responsibility of **Enéas de Andrade Fontes Júnior and team; Pablo Henrique Franco Santos de Souza; Eloise Karoline Serrão Cardoso; Pablo Luis Baia Figueiredo** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Para (CEUA/UFPA) in the meeting of 06/24/2021.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **05/2021 a 05/2022**

Área: **Farmacologia da Inflamação E do Comportamento - Lafico**

Origem: **Biotério Central ICB/UFPA**

Espécie: **Ratos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **30 a 40 dias**

N: **120**

Linhagem: **Rattus norvegicus/wistar**

Peso: **180 a 200 g**

Local do experimento: : **Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Comportamento - LAFICO**

Belém, 01 de fevereiro de 2024

Prof. Dra. Barbarella de Matos Macchi
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Pará

Prof. Dr. James Tony Lee
Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Pará