

Estudo pré-clínico de um nutracêutico sedativo à base de fitonutrientes, ProSleep™, em camundongos machos: comparação com o zolpidem

PAULA DA SILVA RODRIGUES

Universidade Paulista (Unip), São Paulo, SP, Brasil.

E-mail: paulaa.rodrigues@live.com

MARIA MARTHA BERNARDI

Universidade Paulista (Unip), São Paulo, SP, Brasil.

E-mail: maria.bernardi@docente.unip.br

Resumo

Este trabalho visou comparar o efeito sedativo de um nutracêutico à base de fitonutrientes, o ProSleep™, em camundongos machos com os do zolpidem, um fármaco hipnótico empregado como indutor de sono. Para tanto, foram feitos três testes visando comparar os efeitos dos dois produtos: 1. a latência e duração da anestesia induzida por cetamina e xilazina, 2. a sedação observada em campo aberto e 3. ansiedade observada em labirinto em cruz elevado. Os resultados mostraram o seguinte: 1. na indução e duração da anestesia induzida por cetamina e xilazina, a comparação entre o zolpidem e o ProSleep™ não mostrou diferenças significantes; 2. no campo aberto, o zolpidem e o ProSleep™ reduziram de forma similar as frequências de locomoção total e periférica e aumentaram a imobilidade quando comparados ao grupo controle; 3. no labirinto em cruz elevada, não foram observadas diferenças significantes após os tratamentos quando comparados ao grupo controle em todos os parâmetros observados. Tanto o zolpidem como o ProSleep™ melhoraram a indução e duração da anestesia e induziram sedação no campo aberto. Além disso, tanto o zolpidem como o ProSleep™ não mostraram efeitos ansiolíticos. Assim, pode-se sugerir que o ProSleep™ tem o mesmo perfil farmacológico do zolpidem.

Palavras-chave

Indutor de sono. Cetamina. Xilazina. Sedação. Zolpidem. Nutracêutico.

Recebido em: 10.2.2020

Aprovado em: 23.4.2020

INTRODUÇÃO

O ProSleep™ é um nutracêutico à base de uma mistura de fitonutrientes selecionados de uma série de frutos que promove uma sensação de calma e reduz a insônia crônica ou causada por exaustão, esgotamento e excesso de estímulos da rotina diária, resultando em maior facilidade em adormecer. Os efeitos do ProSleep™ são atribuídos à presença de fitonutrientes que neutralizam as citocinas pró-inflamatórias relacionadas ao estresse oxidativo, o qual reduz o triptofano mantendo os níveis de serotonina e melatonina, substâncias importantes na manutenção do sono (SCHRÖCKSNADEL *et al.*, 2006). Além disso, alguns estudos mostram que os componentes do ProSleep™ aumentam a atividade das ondas alfa do cérebro, os níveis de dopamina, serotonina e glicina, além daqueles do ácido gama-aminobutírico (*gamma-aminobutyric acid* – GABA). Ainda exercem efeitos neuroprotetores por antagonizarem os receptores do glutamato (PETROFF, 2002).

O zolpidem (tartarato de zolpidem ou bitartarato de zolpidem) é um fármaco hipnótico, do grupo das imidazopiridinas, não benzodiazepínico, de rápida ação e de meia-vida curta, empregado no tratamento da insônia (MACFARLANE; MORIN; MONTPLAISIR, 2014). O zolpidem é um modulador alostérico positivo do GABA com afinidade de ligação preferencial e eficácia para a subunidade $\alpha 1$, contendo receptores GABA (A) ($\alpha 1$ -GABA (A) Rs) (FITZGERALD; WRIGHT; HELDT, 2014). O zolpidem não tem propriedades anticonvulsivantes ou miorelaxantes, não provoca efeitos de abstinência e ocasiona mínima insônia rebote e pequena ou nenhuma tolerância com o uso prolongado (GREENBLATT; ROTH, 1993).

Na atualidade, atenção especial está sendo dada aos vários aspectos da ciência da nutrição, permitindo conhecer muito mais a ação de cada nutriente no organismo e, ainda, de algumas substâncias presentes normalmente nos alimentos, como os compostos bioativos que ainda não são considerados alimentos, mas podem ser importantes, principalmente para a redução do risco de doenças. Pode-se, então, definir nutracêuticos como suplementos alimentares que contêm a forma concentrada de um composto bioativo de alimento, apresentado separadamente da matriz alimentar e utilizado com a finalidade de melhorar a saúde, em doses que excedem aquelas que poderiam ser obtidas de alimentos. No entanto, para a validação de seu emprego e confirmação de sua efetividade, é necessário comparar seus efeitos com fármacos já consagrados na medicina. O objetivo deste trabalho é comparar os efeitos do nutracêutico ProSleep™ com o zolpidem em modelos animais de sono, sedação e ansiedade.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Utilizaram-se camundongos Balb-c, machos, adquiridos do biotério de criação do Instituto de Ciências Biomédicas II da Universidade de São Paulo. Na chegada ao biotério de Laboratório de Pesquisas Multidisciplinares da Universidade Paulista, os animais foram alojados em microisoladores em número de cinco por microisolador, em sala com temperatura mantida em $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, umidade entre 50% e 55% e ciclo de luz de 12 horas com luz ligada às 7 horas. Água filtrada e ração irradiada foram oferecidas *ad libitum* aos animais, exceto seis horas antes da administração do nutracêutico e do medicamento por gavagem. Os experimentos foram iniciados após dez dias da chegada dos animais para habituação às condições do biotério. Os procedimentos experimentais foram submetidos à Comissão de Ética Animal da Universidade Paulista (Unip) (permit CEUA 5826020320 - ID 000443).

Drogas

Utilizaram-se os seguintes fármacos: cloridrato de cetamina (Dopalen, Ceva), xilazina (Anasedan, Ceva), zolpidem (Stilnox, Sanofi) e o nutracêutico ProSleep™ (Attivos Magisttrais). O cloridrato de cetamina foi empregado juntamente com a xilazina e dissolvido em salina a 0,9% para indução de anestesia, administrados por via intraperitoneal. O zolpidem e o ProSleep™ foram dissolvidos em solução salina a 0,9% e administrados por via oral ou intraperitoneal, dependendo do experimento.

PROCEDIMENTOS

Anestesia

Para o estabelecimento da dose anestésica, realizaram-se estudos-piloto com dois animais por dose, no intuito de evitar perdas de vida dos animais ou insuficiência de doses anestésicas. Dessa forma, a anestesia foi induzida por uma mistura de cloridrato de cetamina (100 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg), administradas por via intraperitoneal em solução de 0,5 ml (75 mg) de cetamina + 0,25 ml (5 mg) de xilazina + 4,25 ml de água para injeção, administrando 0,1 ml/10 de peso do camundongo. Anotaram-se o tempo para perda do reflexo de endireitamento em segundos e o tempo de retorno do reflexo de endireitamento em minutos. Uma vez que a anestesia por cetamina é dissociativa e não

tem efeito analgésico, avaliou-se a presença de resposta ao estímulo na cauda durante a anestesia. O teste foi realizado em uma sala de experimentação, sempre no mesmo horário (entre 13 e 17 horas) e sempre pelo mesmo manipulador.

Campo aberto

Observou-se a atividade geral de camundongos em campo aberto, com o objetivo de caracterizar de forma quantitativa e qualitativa parâmetros exploratórios e motores deles (BROADHURST, 1957). O campo aberto consiste em uma arena circular de cor preta com 40 cm de diâmetro e parede lateral de aço com 50 cm de altura. O animal foi colocado na porção central do aparelho, e os seguintes comportamentos foram registrados durante cinco minutos: número de cruzamentos das áreas do chão do campo aberto, tempo de imobilidade em segundos (tempo em que o animal permanece imóvel) e número de entradas no centro do campo aberto. O teste foi realizado em uma sala de experimentação sempre no mesmo horário (entre 13 e 17 horas) e sempre pelo mesmo manipulador. Antes e após a colocação de cada animal no aparelho, este foi limpo com solução de etanol a 5%.

Labirinto em cruz elevada

Esse teste foi validado em 1990 por Lister (1987) para avaliar a ansiedade de camundongos em um espaço aberto. Utilizou-se o teste para avaliar a resposta de aversão a um espaço aberto de cada grupo de camundongos, sendo modelo útil para avaliar efeitos ansiolíticos de drogas. O aparato utilizado para o teste consiste em uma cruz com dois dos braços abertos e dois fechados que se cruzam perpendicularmente no centro, com 30 cm de comprimento cada um, e parede de 16 cm de altura nos braços fechados, apoiada em uma base com aproximadamente 50 cm de altura. Os animais foram colocados na intersecção da cruz e analisados por três minutos. Nesse tempo, mediram-se a quantidade de entradas nos braços abertos e nos braços fechados, o tempo em que o animal passou em cada um deles e o tempo em que permaneceu no centro do aparelho. Entre cada animal, o aparelho foi limpo com solução a 5% de álcool. O teste foi realizado em uma sala de experimentação sempre no mesmo horário (entre 13 e 17 horas) e sempre pelo mesmo manipulador.

Análise estatística

Os resultados obtidos nos testes comportamentais foram submetidos à análise estatística por meio do teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de

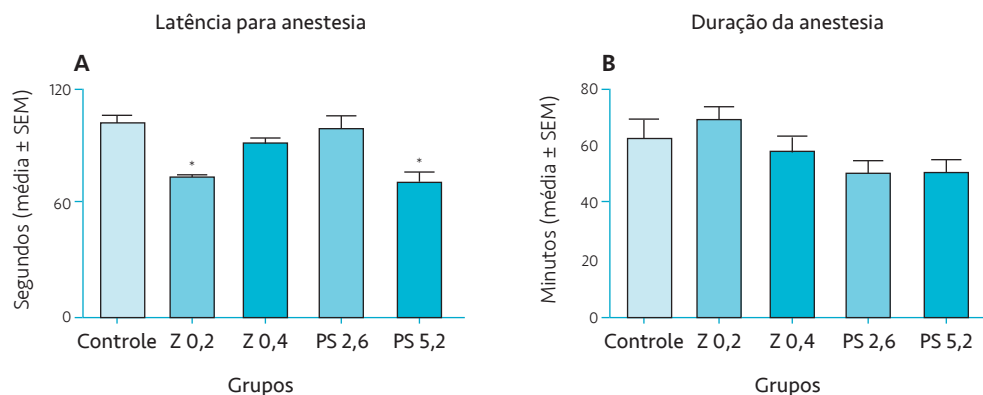
comparações múltiplas de Dunn para dados não paramétricos ou a Anova de uma via, seguida pelo teste de Bonferroni para dados paramétricos, por meio do programa GraphPad Prism 5.03. A probabilidade de 5% foi considerada capaz de evidenciar diferenças significativas entre os grupos.

Delineamento experimental

- *Experimento 1*: Comparação dos efeitos do ProSleep™ e do zolpidem em parâmetros da anestesia induzida por cetamina + xilazina.

Trinta e cinco camundongos BALB-c foram divididos em cinco grupos: quatro experimentais e um controle. Dois grupos receberam por gavagem 0,2 ou 0,4 mg/kg do zolpidem, e, meia hora depois, foram anestesiados com a mistura cetamina + xilazina. Os outros dois grupos experimentais receberam 2,6 ou 5,2 mg/kg do ProSleep™, e foram anestesiados uma hora depois. Os animais do grupo controle foram apenas submetidos à anestesia após gavagem com água. Adotou-se o procedimento descrito no item “Material e métodos”.

Gráfico 1 Comparação entre a latência (A) e a duração (B) da anestesia induzida pela mistura de cloridrato de cetamina + xilazina (100 mg/kg + 10 mg/kg) em camundongos pré-tratados com zolpidem (grupos Z 0,2 ou Z 0,4 mg/kg) ou com o nutracêutico ProSleep™ (grupos PS 2,6 ou PS 5,2 mg/kg). Teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de comparações múltiplas de Dunn



* $p < 0,05$ com relação ao grupo controle.

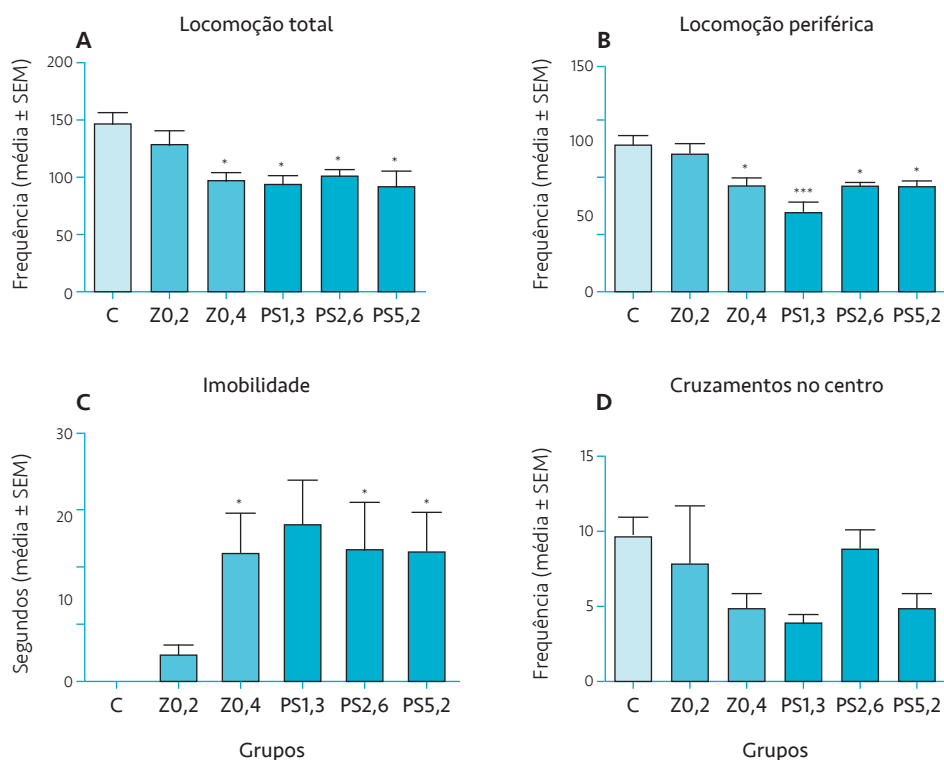
Fonte: Elaborado pelas autoras.

A observação da resposta ao estímulo da cauda foi presente em todos os animais, indicando que nenhum dos pré-tratamentos alterou esse reflexo.

- *Experimento 2*: Comparação do efeito sedativo e ansiolítico do ProSleep™ e do zolpidem.

Trinta e seis camundongos Balb-c foram divididos em seis grupos: cinco experimentais e um controle. Dois grupos experimentais receberam por via intraperitoneal 0,2 ou 0,4 mg/kg de zolpidem, e, meia hora depois, foram observados no campo aberto. Logo após essa observação, os mesmos animais foram introduzidos no labirinto em cruz elevada. Injetaram-se nos três grupos experimentais restantes 1,3, 2,6 ou 5,2 mg/kg de ProSleep™, e, uma hora depois, foram observados no campo aberto e, em seguida, no labirinto em cruz elevada, como descrito em “Material e métodos”.

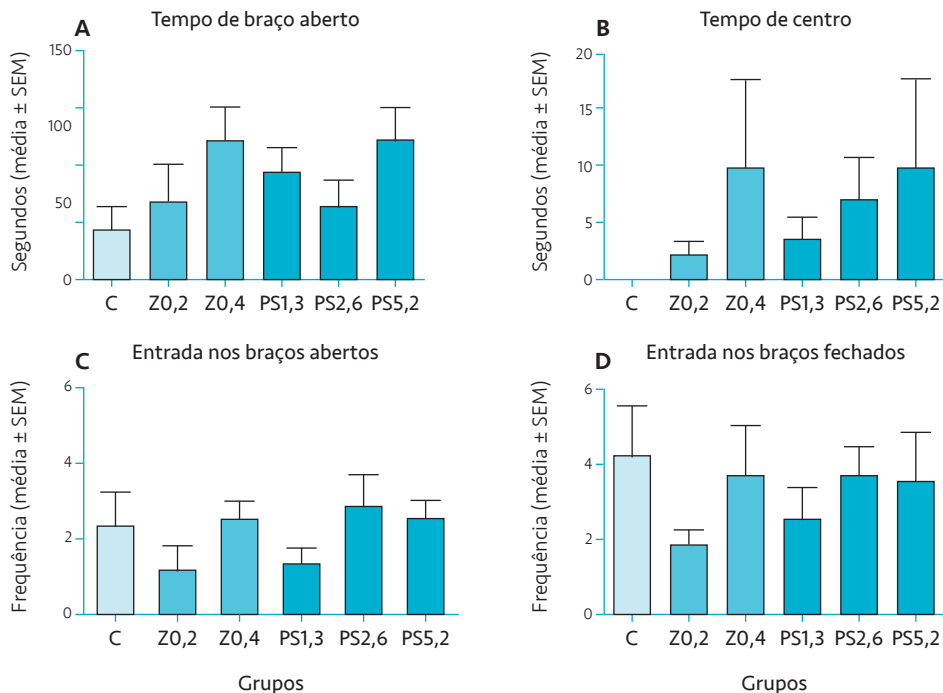
Gráfico 2 Comparação da atividade geral de camundongos tratados com zolpidem ou ProSleep™. Os camundongos foram tratados com 0,2 (Z0,2) ou 0,4 (Z0,4) mg/kg de zolpidem e 1,3 (PS1,3), 2,6 (PS2,6) ou 5,2 (PS5,2) mg/kg de ProSleep™. Anova de uma via seguida pelo teste de Bonferroni



* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ em relação ao grupo controle (C).

Fonte: Elaborado pelas autoras.

Gráfico 3 Comparação do comportamento no labirinto em cruz elevada de camundongos tratados com zolpidem ou ProSleep™. Os camundongos foram tratados com 0,2 (Z0,2) ou 0,4 (Z0,4) mg/kg de zolpidem e 1,3 (PS1,3), 2,6 (PS2,6) ou 5,2 (PS5,2) mg/kg de ProSleep™. Anova de uma via



Fonte: Elaborado pelas autoras.

Eutanásia

Ao final dos experimentos, os animais foram submetidos à eutanásia por administração, via intraperitoneal, de sobredosagem de cloridrato de cetamina (300 mg /kg) + xilazina (30 mg/kg), após confirmação da perda de consciência e da morte.

RESULTADOS

- *Experimento 1*: Comparação dos efeitos do ProSleep™ e do zolpidem em parâmetros da anestesia induzida por cetamina + xilazina.

O Gráfico 1 ilustra a comparação entre a latência para anestesia (A) e a duração da anestesia (B) de camundongos pré-tratados com 0,2 e 0,4 mg/kg de zolpidem e 2,6 e 5,2 mg/kg de ProSleep™.

A Anova de uma via indicou diferenças entre os grupos na latência para anestesia ($KW = 19,72$, $p = 0,0006$, Gráfico 1A). O teste de múltiplas comparações indicou que os animais do grupo tratado com zolpidem (0,2 mg/kg) e ProSleep™ (5,2 mg/kg) apresentaram menor latência para anestesia quando comparados ao grupo controle. Não foram observadas diferenças significativas entre esses dois grupos. Com relação aos grupos tratados com 0,4 mg/kg de zolpidem e 5,2 mg/kg de ProSleep™, não foram observadas diferenças significativas com relação ao grupo controle, mas os dois grupos apresentaram maior latência para anestesia com relação aos grupos tratados com zolpidem (0,2 mg/kg) e ProSleep™ (5,2 mg/kg).

Quanto à duração da anestesia, não se observaram diferenças significativas entre os grupos ($KW = 5,64$, $p = 0,23$, Gráfico 1B).

- *Experimento 2: Comparação do efeito sedativo e ansiolítico do zolpidem e do ProSleep™.*

O Gráfico 2 ilustra os dados obtidos da comparação dos efeitos na atividade geral de camundongos observados em campo aberto tratados com zolpidem ou com o nutracêutico ProSleep™.

A Anova de uma via indicou diferenças significativas entre as frequências de locomoção total (Gráfico 2A) dos diferentes grupos ($F_{5,30} = 4,47$, $p = 0,04$). O teste de Bonferroni mostrou que os grupos Z0,4, PS1,3, PS2,6 e PS5,2 apresentaram redução significativa na frequência do parâmetro com relação ao grupo controle, não havendo diferenças entre esses grupos.

Na frequência de locomoção periférica (Gráfico 2B), houve diferenças significativas entre os grupos ($F_{5,30} = 7,33$, $p = 0,0001$). Os grupos Z0,4, PS1,3, PS2,6 e PS5,2 apresentaram redução significativa na frequência do parâmetro com relação ao grupo controle, não havendo diferenças entre esses grupos.

Na duração de imobilidade (Gráfico 2C), também foi observada diferença significativa entre os grupos ($KW = 19,5$, $p = 0,001$). Os grupos Z0,4, PS1,3, PS2,6 e PS5,2 apresentaram aumento significativo no parâmetro com relação ao grupo controle; não houve diferenças entre esses grupos.

Na frequência de entradas no centro do campo aberto (Gráfico 2D), também foram observadas diferenças significativas entre os grupos ($KW = 13,42$, $p = 0,02$). Os grupos Z0,4, PS1,3 e PS5,2 apresentaram redução significativa no parâmetro em relação ao grupo controle, sem diferenças entre eles.

O Gráfico 3 ilustra o comportamento dos camundongos tratados com zolpidem ou ProSleep™ observados no labirinto em cruz elevada. Não se constataram diferenças significativas entre todos os grupos, em todos os parâmetros observados.

DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo mostram similaridade entre os efeitos do nutracêutico ProSleep™ e do zolpidem, tanto no procedimento de anestesia como nos comportamentais.

O zolpidem não é um medicamento empregado em pré-anestesia, mas sim como um sedativo administrado na noite anterior a uma cirurgia para melhorar o sono (KOIRALA *et al.*, 2006). Empregou-se o modelo anestesia por cetamina + xilazina *versus* zolpidem e ProSleep™ não para uso clínico, mas para evidenciar efeitos similares dos dois medicamentos.

Observou-se que ambas as drogas promoveram uma menor latência para anestesia e mesma duração da anestesia. As doses do zolpidem empregadas neste experimento foram estabelecidas em estudos-piloto, calculados em relação a 50 kg de peso. Assim, a dose de 0,2 mg/kg de zolpidem equivaleria à administração de um comprimido de 10 mg; e a dose de 0,4 mg/kg, a dois comprimidos de 10 mg. O mesmo cálculo foi feito para o ProSleep™. Dessa forma, a dose de 2,6 mg/kg corresponde à administração de um comprimido do ProSleep™; e a dose de 5,2 mg/kg, a dois comprimidos. Portanto, os efeitos das duas substâncias são equivalentes, porém foi necessário o dobro da dose do ProSleep™ para redução na indução do efeito anestésico quando comparado ao efeito do zolpidem. No entanto, como o interesse deste estudo foi examinar a similaridade do perfil dos dois medicamentos, pode-se afirmar que o zolpidem e o ProSleep™ comportam-se de forma similar. Nota-se, então, que as doses de 0,2 mg/kg do zolpidem e 5,2 mg/kg do ProSleep™ são equivalentes e promovem os mesmos efeitos na indução da anestesia por cetamina + xilazina, não alterando a duração da anestesia e a resposta do reflexo à pressão na cauda dos animais.

O zolpidem é um agente hipnótico/sedativo, não benzodiazepínico, empregado clinicamente na insônia, reduzindo apenas a ansiedade promovida pela ausência de sono (FAVA *et al.*, 2009) e melhorando o sono de pacientes com depressão (ASNIS *et al.*, 1999). Esse medicamento reduz a latência para o sono e aumenta sua duração (MACFARLANE; MORIN; MONTPLAISIR, 2014).

O modelo campo aberto tem sido empregado para avaliar efeitos sedativos e ansiolíticos de drogas e princípios ativos oriundos de plantas (DENG *et al.*

2010; ALNAMER *et al.*, 2012; ABDOLLAHNEJAD *et al.*, 2016). Altas doses de medicamentos sedativos como o diazepam levam à redução dos parâmetros observados nesse aparelho (MATSUBARA; MATSUSHITA, 1982), enquanto baixas doses promovem aumento na atividade geral nesse aparelho por reduzir a emocionalidade pela novidade dele (CAGNI *et al.*, 2012; SIEMIATKOWSKI *et al.*, 2000).

Estudos mostram que o zolpidem tem efeitos sedativos similares ao diazepam quando observados em campo aberto (LIER *et al.*, 2004). Porém, Sanger e Zivkovic (1988) mostram que o zolpidem apresenta preferencialmente atividade sedativa no campo aberto, o que explica, neste trabalho, a redução da atividade geral no campo aberto.

A comparação entre o zolpidem e o ProSleep™ revela perfis similares de atividade geral no campo aberto de ambas as substâncias. De fato, verificam-se redução na locomoção total e aumento na duração de imobilidade. Quanto à locomoção periférica, tomada em muitos estudos como um sinal de ansiedade (LAMPREA *et al.* 2008), ela aumenta sob o efeito de drogas ansiolíticas. Portanto, a redução tanto da frequência de locomoção quanto da locomoção periférica e o aumento da duração de imobilidade resultaram do efeito sedativo do zolpidem e revelam um efeito específico do ProSleep™ similar ao do zolpidem. Dessa forma, O labirinto em cruz elevada é um modelo consagrado para avaliação dos efeitos ansiolíticos de diferentes medicamentos (BOURIN, 2015). No labirinto em cruz elevada, os efeitos ansiolíticos são associados ao aumento do tempo em que o animal permanece nos braços abertos do equipamento (CRAWLEY; GOODWIN, 1980). Estudos clínicos não indicam efeitos ansiolíticos do zolpidem em pacientes (FAVA *et al.*, 2009), porém os dados de estudos pré-clínicos são controversos. Alguns autores mostram que o zolpidem apresenta efeitos ansiolíticos e outros não fazem qualquer menção a isso (FITZGERALD; WRIGHT; HELDT, 2014). Os resultados deste estudo mostram que, na dose terapêutica e em duas vezes maior que esta, o zolpidem não apresentou efeitos ansiolíticos em camundongos. Da mesma forma, o ProSleep™ não apresentou efeitos ansiolíticos nas doses equivalentes a um ou dois comprimidos. Portanto, o zolpidem e o ProSleep™ apresentam o mesmo perfil farmacológico em camundongos, no teste do labirinto em cruz elevada.

CONCLUSÕES

A comparação entre os efeitos farmacológicos do zolpidem e do ProSleep™ mostra que o nutracêutico tem o mesmo perfil farmacológico, o que foi evi-

denciado pela redução na latência para anestesia, redução na atividade geral em campo aberto e ausência de efeitos ansiolíticos no labirinto em cruz elevada quando testados em camundongos.

Pre-clinical study of a sedative nutraceutical based on phytonutrients, ProSleep™, in male mice: comparison with zolpidem

Abstract

This study aimed to compare the sedative effect of a nutraceutical based on phytonutrients, ProSleep™, in male mice with those of zolpidem, a hypnotic drug used as a sleep inducer. For this purpose, three tests were carried out to compare the effects of the two products: 1. the latency and duration of anesthesia induced by ketamine and xylazine, 2. sedation observed in the open field and 3. anxiety observed in an elevated plus-maze. The results showed that: 1. in the induction and duration of anesthesia the comparison between zolpidem and ProSleep™: showed no significant differences; 2. in the open field, zolpidem and ProSleep™ similarly reduced the frequencies of total and peripheral locomotion and increased immobility when compared to the control group; 3. in the elevated plus-maze, no significant differences were observed after treatment when compared to the control group in all observed parameters. Both zolpidem and ProSleep™ improved the induction and duration of anesthesia and induced sedation in the open field. In addition, both zolpidem and ProSleep™ showed no anxiolytic effects. Thus, it can be suggested that ProSleep™ has the same pharmacological profile as zolpidem.

Keywords

Sleep inducer. Ketamine. Xylazine. Sedation. Zolpidem. Nutraceutical.

Estudio preclínico de un nutraceutico sedativo basado en fitonutrientes, ProSleep™, en ratones macho: comparación con zolpidem

Resumen

Este trabajo tuvo como objetivo comparar el efecto sedante de un nutraceutico basado en fitonutrientes, ProSleep™, en ratones macho con los de

zolpidem, un medicamento hipnótico utilizado como inductor del sueño. Con este fin, se realizaron tres pruebas para comparar los efectos de los dos productos: 1. la latencia y la duración de la anestesia inducida por la cetamina y la xilazina, 2. sedación observada en campo abierto y 3. ansiedad observada en un laberinto cruzado elevado. Los resultados mostraron que: 1. en anestesia inducida por cetamina y xilazina, la comparación entre zolpidem y ProSleep™: no mostró diferencias significativas en la latencia y la duración de la anestesia; 2. en campo abierto, zolpidem y ProSleep™ redujeron de manera similar las frecuencias de locomoción total y periférica y aumentaron la inmovilidad en comparación con el grupo de control; 3. en el laberinto cruzado elevado, no se observaron diferencias significativas después del tratamiento en comparación con el grupo control en todos los parámetros observados. Tanto zolpidem como ProSleep™ mejoraron la inducción y la duración de la anestesia y la sedación inducida. Además, tanto zolpidem como ProSleep™ no mostraron efectos ansiolíticos. Por lo tanto, se puede sugerir que ProSleep™ tiene el mismo perfil farmacológico que zolpidem.

Palabras clave

Inductor del sueño. Cetamina. Xilazina. Sedación. Zolpidem. Nutracéutico.

REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHNEJAD, F. *et al.* Investigation of sedative and hypnotic effects of *Amygdalus communis* L. extract: behavioral assessments and EEG studies on rat. *Journal of Natural Medicines*, v. 70, n. 2, p. 190-197, 2016.
- ALNAMER, R. *et al.* Sedative and hypnotic activities of the methanolic and aqueous extracts of *Lavandula officinalis* from Morocco. *Advances in Pharmacological Sciences*, v. 2012, 2011. DOI: 10.1155/2012/270824
- ASNIS, G. M. *et al.* Zolpidem for persistent insomnia in SSRI-treated depressed patients. *Journal of Clinical Psychiatry*, v. 60, n. 10, p. 668-676, 1999.
- BOURIN, M. Animal models for screening anxiolytic-like drugs: a perspective. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, v. 17, n. 3, p. 295-303, 2015.
- BROADHURST, P. Determinants of emotionality in the rat. I. Situational factors. *British Journal of Psychology*, v. 48, n. 1, p. 1-12, 1957.
- CAGNI, P. *et al.* Diazepam-induced decrease in anxiety-like behaviors of marmoset monkeys exposed to a novel open-field. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 100, n. 3, p. 518-521, 2012.

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

DENG, J. *et al.* Anxiolytic and sedative activities of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 128, n. 1, p. 148-153, 2010.

FAVA, M. *et al.* Zolpidem extended-release improves sleep and next-day symptoms in comorbid insomnia and generalized anxiety disorder. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, v. 29, n. 3, p. 222-230, 2009.

FITZGERALD, A. C.; WRIGHT, B. T.; HELDT, S. A. The behavioral pharmacology of zolpidem: evidence for the functional significance of $\alpha 1$ -containing GABAA receptors. *Psychopharmacology*, v. 231, n. 9, p. 1865-1896, 2014.

GREENBLATT, D. J.; ROTH, T. Zolpidem for insomnia. *The Medical Letter on Drugs and Therapeutics*, v. 35, n. 895, p. 35-36, 1993.

KOIRALA, B. *et al.* A comparative evaluation of newer sedatives in conscious sedation. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, v. 30, n. 4, p. 273-276, 2006.

LAMPREA, M. R. *et al.* Thigmotactic responses in an open-field. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 41, n. 2, p. 135-140, 2008.

LIER, H. van *et al.* Effects of diazepam and zolpidem on EEG beta frequencies are behavior-specific in rats. *Neuropharmacology*, v. 47, n. 2, p. 163-174, 2004.

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

MACFARLANE, J.; MORIN, C. M.; MONTPLAISIR, J. Hypnotics in insomnia: the experience of zolpidem. *Clinical Therapeutics*, v. 36, n. 11 p. 1676-1701, 2014.

MATSUBARA, K.; MATSUSHITA, A. Changes in ambulatory activities and muscle relaxation in rats after repeated doses of diazepam. *Psychopharmacology*, v. 77, n. 3, p. 279-283, 1982.

PETROFF, O. A. C. GABA and glutamate in the human brain. *Neuroscientist*, v. 8, n. 6, p. 562-573, 2002. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12467378>. Acesso em: 22 maio 2020.

SANGER, D. J.; ZIVKOVIC, B. Further behavioural evidence for the selective sedative action of zolpidem. *Neuropharmacology*, v. 27, n. 11, p. 1125-1130, 1988.

SCHRÖCKSNADEL, K. *et al.* Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation. *Clinica Chimica Acta*, v. 364, n. 1-2, p. 82-90, 2006.

SIEMIATKOWSKI, M. *et al.* Effects of buspirone, diazepam, and zolpidem on open field behavior, and brain [3H]muscimol binding after buspirone pretreatment. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 66, n. 3, p. 645-651, 2000.