

Avaliação da Toxicidade Aguda e do Efeito Ansiolítico de um Derivado Sintético da Carvona

Evaluation of Acute Toxicity and Anxiolytic Effect of a Synthetic Derivative of Carvone

DAYANE ALVES COSTA¹
GUILHERME ANTÔNIO LOPES DE OLIVEIRA²
JESSICA PEREIRA COSTA³
GEANE FELIX DE SOUZA³
DAMIÃO PERGENTINO DE SOUSA⁴
RIVELILSON MENDES DE FREITAS⁵

RESUMO

Objetivo: Avaliar a segurança da ciano-carvona por meio de estudos de toxicidade aguda e o seu potencial ansiolítico. **Material e Métodos:** Camundongos *Swiss* machos foram tratados com ciano-carvona (v.o) em doses crescentes de 25 a 2000 mg/kg e observados durante 14 dias em relação às alterações comportamentais e taxa de mortalidade. Posteriormente foram realizados exames hematológicos, bioquímicos e análise macroscópica dos principais órgãos. Além disso, outros grupos de animais foram tratados com as doses de 25, 50 e 75 mg/kg, para avaliação da atividade locomotora, do efeito ansiolítico e da coordenação motora. **Resultados:** No teste hipocrático, devido à ausência de mortalidade, a DL₅₀ não foi determinada. Os sinais clínicos foram discretos, reversíveis e observados apenas nas maiores doses. Dessa forma, em relação às análises hematológicas e bioquímicas não foram verificadas alterações significativas. Nos estudos comportamentais verificou-se uma redução da atividade locomotora, um maior número de entradas nos braços abertos, bem como um maior tempo de permanência nos braços abertos, sugerindo um possível efeito ansiolítico. Em relação ao teste do *rota rod* não foi verificada alteração no tempo de permanência na barra giratória, bem como não foi detectado mudanças no número de quedas. **Conclusão:** Este estudo demonstrou que a ciano-carvona não apresenta toxicidade aguda, sugerindo um efeito ansiolítico que precisa ser melhor investigado para a elucidação do seu mecanismo de ação.

DESCRIPTORIOS

Ansiolítico. Monoterpeno. Toxicidade Aguda. Sistema Nervoso Central.

SUMMARY

Objective: To evaluate the safety of cyano-carvone by means of acute toxicity studies and to investigate its anxiolytic potential. **Material and Methods:** *Swiss* male mice were treated with cyano-carvone (v.o) in escalating doses from 25 to 2000 mg/kg and observed for 14 days as regards behavioral changes and mortality rate. After this time period, hematological, biochemical and morphological analyses of the main macroscopic organs were carried out. In addition, other groups of animals were treated with doses of 25, 50 and 75 mg/kg in order to assess locomotor activity, anxiolytic effect and motor coordination. **Results:** In the Hippocratic test, the compound did not cause any deaths among the mice, thus the LD₅₀ was not determined and clinical signs that emerged were discrete, reversible and observed only in higher doses. Accordingly, hematological and biochemical analyses did not show significant alterations. In the behavioral analysis, it was found a reduction of locomotor activity and a greater number of entries in open arms, as well as a longer time spent with open arms, suggesting an anxiolytic effect. In the *Rota-rod* test it was observed no change in the permanence time on the spinning rod, as well as no changes were detected for the number of falls. **Conclusion:** This study demonstrated that cyano-carvone has no acute toxicity, and suggests a possible anxiolytic effect that needs to be further investigated in order to elucidate its mechanism of action.

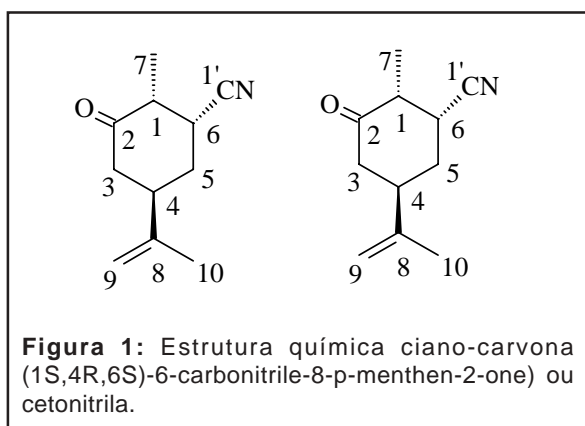
DESCRIPTORS

Anxiety. Monoterpenes. Acute Toxicity. Central Nervous System.

- 1 Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina/Piauí, Brasil.
- 2 Graduando em Biomedicina e Bolsista de Iniciação Científica do Laboratório de Pesquisa em Neuroquímica Experimental da Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina/PI, Brasil.
- 3 Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza/CE, Brasil.
- 4 Doutor e Professor do Departamento de Fisiologia, Universidade Federal do Sergipe (UFS), Aracaju/SE, Brasil.
- 5 Doutor e Professor do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina/PI, Brasil.

A (R)-(-)-carvona (p-mentha-6,8-dien-2-ona) é um monoterpene representante do grupo químico das cetonas. Esse monoterpene é o componente majoritário do óleo essencial da hortelã (*Mentha spicata* L.) que pode ser obtido por hidrodestilação a partir das folhas desta planta.

A carvona apresenta propriedades estomáquicas e carminativas, sendo a esta também atribuída ação galactagoga e emenagoga. Na indústria farmacêutica de cosméticos e alimentícia pode ser utilizada como flavorizante e saporificante (EHLERT *et al.*, 2002). A ciano-carvona (1S, 2S, 5R) - 5-isopropenil-2-metil-3-oxo-ciclohexanocarbonitrila ou cetonitrila (Figura 1) é um derivado sintético monoterpênico da (R)-(-)-carvona.



Dessa forma o presente estudo avaliou a toxicidade aguda desta substância, a fim de verificar a sua segurança para uma possível aplicação pela indústria farmacêutica na produção de novos fármacos para tratamento de doenças neurodegenerativas. Atualmente houve um aumento dos estudos envolvendo a avaliação de compostos sintéticos e semi-sintéticos, já que aproximadamente 85% dos fármacos disponíveis na terapêutica moderna são de origem sintética (SOUSA, RAPHAEL, BROCKSOM, 2010), reforçando a necessidade desse estudo.

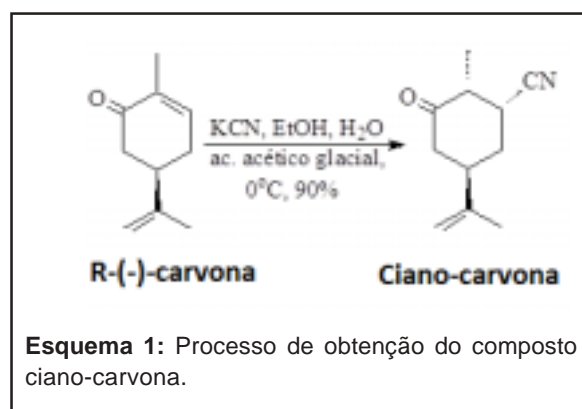
Diante do exposto o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade aguda por meio da análise morfológica macroscópica dos principais órgãos, e dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de camundongos. Além disso, o presente estudo investigou o possível efeito ansiolítico em modelos experimentais, após tratamento agudo com ciano-carvona.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção da ciano-carvona

A ciano-carvona foi obtida a partir do seguinte

processo de síntese. A um balão contendo 12,5 g (83,50 mmols) de R-(-)-carvona em 37,5 mL de etanol a 0°C, adicionou-se lentamente uma solução de 7,5 g (115 mmols) de KCN em 17,5 mL de água. Em seguida, foi adicionado a esta mistura 5,5 mL de ácido acético glacial em 1 hora. Agitou-se por mais 16 horas a 0°C. Depois, filtrou-se a mistura reacional e o precipitado foi lavado com água/etanol (1:1). O produto recristalizado do etanol resultou em 13,28 g (75,02 mmols) de ciano-carvona com 90% de rendimento. A primeira etapa da reação foi realizada adicionando-se cianeto em meio aquoso a R-(-)-carvona a 0°C, sendo em seguida acrescentado ácido acético à mistura. Obteve-se o composto ciano-carvona com 90% de rendimento (Esquema 1).



Animais e Tratamento

Camundongos *Swiss* machos com 2 meses de idade e peso variando de 25 a 30 g, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí foram utilizados nos experimentos. Os animais receberam água e dieta (Labina®) *ad libitum* e foram mantidos sob condições controladas de iluminação (ciclo 12 h claro/escuro) e temperatura (26 ± 1°C). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da Universidade Federal do Piauí (Número do protocolo 016/2011).

Determinação da toxicidade aguda da ciano-carvona

Para os estudos de toxicidade aguda foram usados setenta camundongos *Swiss* machos (2 meses de idade; 25 a 30 g). Os animais foram divididos em sete grupos de 10 animais por grupo (n = 10/grupo). O grupo controle foi tratado com Tween 80 0,05% dissolvido em solução salina 0,9% por via oral (v.o.; veículo). Os outros seis grupos foram tratados com ciano-carvona emulsão no veículo nas doses de 25, 50, 75, 500, 1000 e 2000 mg/kg (v.o.).

Durante 14 dias de observação e a cada 2 dias foram observados os animais de todos os grupos. Durante esse período os seguintes parâmetros relacionados ao comportamento dos animais foram observados o estado de consciência e a disposição, a coordenação motora, tônus muscular, reflexos, atividade do sistema nervoso central e a atividade do sistema nervoso autônomo.

Após o tratamento agudo os animais foram observados durante 14 dias consecutivos. Após o décimo quarto dia de observação os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg/kg, i.p.) e em seguida foi feita a coleta de sangue por rompimento do plexo retro-orbital com auxílio de capilar de vidro dos grupos tratados com as doses de 25, 50 e 75 mg/kg (CC 25, CC 50, CC 75, respectivamente).

Análise dos parâmetros bioquímicos e hematológicos

Os parâmetros bioquímicos avaliados foram glicose, uréia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), colesterol total e triglicerídeos. Os ensaios foram realizados em aparelho automático.

A análise hematológica foi realizada imediatamente após a coleta por meio do analisador automático de células hematológicas. Os parâmetros determinados foram eritrócitos, leucócitos, plaquetas, hemoglobina, hematócrito, índices hematimétricos e contagem diferencial de leucócitos.

Determinação dos efeitos da ciano-carvona na atividade locomotora de camundongos

A atividade locomotora dos animais foi verificada por meio de um campo aberto feito de acrílico com paredes transparentes e piso preto, 30 x 30 x 15 cm e dividido em 9 quadrantes iguais (ARCHER, 1973). Os animais foram divididos em cinco grupos. O grupo controle foi tratado com Tween 80 0,05% dissolvido em solução salina 0,9% e o grupo controle positivo foi tratado com diazepam (2 mg/kg). Os outros três grupos foram tratados com CC 25, CC 50 e CC 75, todos por via oral.

Após 30 minutos dos tratamentos, os animais, um por vez, foram colocados no centro do campo aberto onde o número de cruzamentos com as quatro patas (atividade locomotora espontânea; ALE), número de comportamento de autolimpeza (*grooming*) e o número de levantamentos (*rearing*), o teste foi realizado durante 5 minutos.

Determinação dos efeitos ansiolíticos da ciano-carvona em camundongos

Neste experimento foram utilizados cinco grupos.

O grupo controle foi tratado com Tween 80 0,05% dissolvido em solução salina 0,9% e o grupo controle positivo foi tratado com diazepam (2 mg/kg) por via oral. Os outros três grupos foram tratados com CC 25, CC 50 e CC 75 (v.o.). Trinta minutos após os tratamentos cada animal foi colocado no centro do labirinto, colocada em direção ao braço aberto e observado por um período de cinco minutos, registrando-se o número de entradas e o tempo total de permanência nos braços, abertos e fechados.

Determinação da coordenação motora dos camundongos tratados com ciano-carvona

O teste do *rota rod* avalia o efeito do relaxamento muscular ou incoordenação motora produzidos por drogas nos animais (CARLINI, BURGOS, 1979). Neste experimento foram utilizados cinco grupos com oito camundongos por grupo. O primeiro grupo foi tratado com veículo (v.o.), o segundo grupo com diazepam (2 mg/kg) e os demais grupos foram tratados com CC 25, CC 50 e CC 75 (v.o.). Para este teste, os camundongos foram colocados com as quatro patas sobre uma barra de 2,5 cm de diâmetro, elevada a 25 cm do piso, em uma rotação de 17 rpm, por um período de 3 minutos. Foram registrados o tempo de permanência na barra giratória, em segundos (s), e o número de quedas, com três reconduções, no máximo.

Análises estatísticas

Os valores foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). As diferenças entre os grupos foram determinadas através da Análise de Variância (ANOVA), seguida, quando detectada diferença, pelo teste *t-Student-Newman-Keuls* como *post hoc* teste. O nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade foi sempre de $p < 0.05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As diversas aplicações da carvona e seus derivados como a α -epoxi-carvona, ciano-carvona que podem ser utilizados como fragrâncias, saporificantes, flavorizantes e agentes antimicrobianos (GONÇALVES *et al.*, 2010, SOUSA *et al.*, 2007), bem como pela sua relevância no campo da medicina, justificam o interesse neste monoterpene de origem sintética, uma vez que pode-se detectar efeitos que podem ser explorados pela indústria farmacêutica provavelmente com menores custos e menor incidência de reações adversas (ALMEIDA *et al.*, 2008, CARVALHO, FONSECA, 2006, KUNANUSORN *et al.*, 2011).

Neste estudo não foi possível determinar a dose

letal 50% (DL_{50}) da ciano-carvona devido ausência de morte dos animais durante os 14 dias após a administração da droga. A ciano-carvona não alterou de forma significativa a massa corpórea dos animais, bem como não produziu mudanças no consumo de água, ração e na produção de excretas. Após a administração oral de ciano-carvona foram observadas discretas alterações nos parâmetros, como estado de consciência e disposição, sistema motor e muscular, que se revelaram diminuídos, bem como os animais apresentaram respiração ofegante, agitação, sudorese, grunido e piloereção. Durante o tratamento essas alterações foram normalizadas, e não foram observados sinais clínicos de toxicidade e nenhuma morte foi registrada (Tabela 1).

Após o período de observação os animais foram eutanasiados e dissecados para análise morfológica macroscópica dos principais órgãos. Durante essa análise não foi observadas alterações morfológicas macroscópica no estômago, fígado, rins, pulmões, cérebro e coração dos camundongos tratados com as doses estudadas do composto sintético ciano-carvona durante o período de 14 dias de observação.

A avaliação da toxicidade aguda demonstrou que a ciano-carvona não produziu alterações de importância clínica. Nos estudos comportamentais nenhum animal morreu e poucos apresentaram alterações comportamentais decorrentes da administração dessa substância.

A avaliação hematológica realizada após tratamento agudo com a CC 25, CC 50 e CC 75 não apresentou alteração nos glóbulos vermelhos. Em relação ao hematócrito e aos índices hematimétricos (VCM, HCM e CHCM) também não houve mudança significativa após o tratamento agudo com as doses de 25, 50 e 75 mg/kg de ciano-carvona por via oral (Tabela 2). Outros trabalhos corroboram com o estudo, uma vez que outros monoterpenos também demonstram ausência de toxicidade pela avaliação dos parâmetros hematológicos (HARIRI *et al.*, 2011, HOSSEINZADEH, TALEBZADEH, 2005).

Nenhuma alteração nos leucócitos (WBC) foi detectada. Os resultados dos exames hematológicos são resumidos na Tabela 2. Em relação ao WBC não houve nenhuma mudança significativa, assim como nos neutrófilos contados ($p > 0,05$), semelhantes a outros estudos encontrados com extratos e substâncias isoladas que podem ser usados de forma segura e com eficácia no SNC (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

A Tabela 3 demonstra o efeito do tratamento agudo com ciano-carvona nas doses de 25, 50 e 75 mg/kg (v.o.) nos parâmetros bioquímicos do soro obtido de camundongos após 14 dias de observação. A ciano-carvona nas doses administradas não alterou de forma significativa os níveis plasmáticos dos parâmetros

bioquímicos. Os resultados obtidos para os parâmetros glicose, uréia, creatinina e triglicerídeos em nosso estudo estão de acordo com os valores de referência. Conforme podemos constatar após realização da análise estatística, que demonstrou ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os grupos tratados com as diferentes doses da CC e o grupo controle tratado com veículo.

Posteriormente foi avaliado os efeitos ansiolíticos no teste do campo aberto (Tabela 4) e as doses de 25, 50 e 75 mg/kg da ciano-carvona não alterou o número de *groomings* quando comparado ao grupo controle ($p > 0,05$). Por fim, reforçando o emprego da ciano-carvona como possível agente ansiolítico em novas formulações farmacêuticas foi observado que as doses de 25, 50 e 75 mg/kg reduzem o número de *rearing* de 85,3% ($6,80 \pm 0,86$), 83% ($6,00 \pm 0,70$) e 86% ($5,00 \pm 1,88$), quando comparado ao grupo controle ($35,38 \pm 1,86$; $p < 0,05$), respectivamente. Em comparação ao grupo diazepam ($13,29 \pm 2,81$; $p < 0,05$) também foi verificada uma diminuição significativa no número de *rearing*s. Dados semelhantes foram encontrados para outros monoterpenos como o citrol, mirceno e limoneno (VALE *et al.*, 2002). Quando o animal é colocado em uma ambiente estranho há uma diminuição do apoio do animal sobre as patas traseiras (*rearing*) variando de acordo com o estresse sofrido pelo animal (BARBOSA *et al.*, 2008) aumentando as tentativas e ações de levantar-se, assim a droga testada diminuiu o número de *rearing*s, sugerindo que a ciano-carvona possui um possível efeito ansiolítico.

Dessa forma, verificamos uma redução no número de cruzamentos de 54,32, 52,06 e 44,49% nas doses de 25 mg/kg ($40,60 \pm 9,61$), 50 mg/kg ($42,60 \pm 4,55$) e 75 mg/kg ($49,33 \pm 5,01$), quando comparado ao controle ($88,86 \pm 3,09$; $p < 0,001$), respectivamente. Para avaliar um possível efeito sedativo da ciano-carvona, camundongos adultos foram tratados com as mesmas doses que produziram efeito ansiolítico nos modelos empregados e foram submetidos ao teste do *rota rod* (Tabela 5), que consiste em colocar camundongos sobre uma barra giratória a uma velocidade constante e verificar o tempo de permanência (TP) por meio da capacidade do animal equilibrar-se sobre a mesma. Em nenhuma das doses testadas (25 mg/kg: TP = $174,1 \pm 3,19$ s; 50 mg/kg: TP = $174,9 \pm 3,68$ s; 75 mg/kg: TP = $174,7 \pm 1,66$ s) houve alteração no TP em segundos (s) sobre a barra giratória sugerindo que não induz mudanças na atividade locomotora dos animais quando comparado ao grupo controle (TP = $175,3 \pm 1,29$ s; $p > 0,05$). Também não foi verificada nenhuma alteração no número de quedas nos grupos tratados com ciano-carvona nas doses de 25, 50 e 75 mg/kg por via oral

Tabela 1: Efeitos da administração aguda por via oral da ciano-carvona em camundongos durante 14 dias de observação.

Doses (mg/kg)	Camundongos			Sinais e sintomas de toxicidade
	n/Dose	Sexo	Mortalidade	
00	05	Macho	0/5	-
	05	Fêmea	0/5	
25	05	Macho	0/5	Respiração ofegante e agitação.
	05	Fêmea	0/5	
50	05	Macho	0/5	Respiração ofegante e agitação.
	05	Fêmea	0/5	
75	05	Macho	0/5	Respiração ofegante e agitação.
	05	Fêmea	0/5	
500	05	Macho	0/5	Respiração ofegante e agitação.
	05	Fêmea	0/5	
1000	05	Macho	0/5	Respiração ofegante, agitação e frênilo vocal.
	05	Fêmea	0/5	
2000	05	Macho	0/5	Respiração ofegante, agitação e frênilo vocal.
	05	Fêmea	0/5	

Tabela 2. Parâmetros hematológicos de camundongos *Swiss*, tratados com ciano-carvona por via oral.

Parâmetros	Veículo	CC 25	CC 50	CC 75
Hemácias (mm ³)	8,09 ± 0,24	8,11 ± 0,51	7,95 ± 0,31	8,30 ± 0,47
Hemoglobina (g/dL)	13,37 ± 0,15	13,9 ± 0,87	13,02 ± 0,54	13,1 ± 0,78
Hematócrito (%)	39,15 ± 0,30	39,5 ± 2,71	39,75 ± 1,74	39,0 ± 2,4
VCM (fL)	60,09 ± 0,28	61,01 ± 1,48	59,89 ± 2,45	59,09 ± 1,65
HCM (pg)	20,99 ± 0,34	21,13 ± 0,38	21,15 ± 0,74	20,69 ± 0,57
CHCM (g/dL)	35,09 ± 0,62	34,45 ± 0,51	34,03 ± 0,52	34,75 ± 0,46
Neutrófilos (%)	18,66 ± 0,03	18,52 ± 2,01	18,01 ± 1,82	18,50 ± 4,8
Linfócitos (%)	78,49 ± 0,31	78,50 ± 2,71	79,55 ± 2,13	78,50 ± 5,02

Parâmetros hematológicos obtidos de camundongos machos *Swiss* tratados por via oral com 0,1 ml/10g de Tween 80 0,05% dissolvido em solução salina 0,9% (Controle, n = 10) e ciano-carvona nas doses 25, 50 e 75 mg/kg e observados durante 24 horas (n = 10 por grupo). Os valores representam a média ± E.P.M. do número de animais usados nos experimentos. n – representa o número de animais em cada grupo.

TABELA 3. Parâmetros bioquímicos obtidos do soro de camundongos *Swiss*, tratados com ciano-carvona por via oral.

Parâmetros	Veículo (0,1 ml/10g)	Ciano-carvona (25 mg/kg)	Ciano-carvona (50 mg/kg)	Ciano-carvona (75 mg/kg)
Glicose (mg/dL)	91,15 ± 9,69	90,10 ± 10,1	89,89 ± 8,29	89,39 ± 11,7
Uréia (mg/dL)	52,89 ± 1,44	51,80 ± 3,65	51,01 ± 1,33	51,33 ± 3,91
Creatinina (mg/dL)	0,57 ± 0,01	0,58 ± 0,59	0,57 ± 0,53	0,56 ± 0,57
Triglicerídeos (mg/dL)	105,6 ± 3,12	109,4 ± 10,5	104,6 ± 8,5	106,0 ± 7,7
AST (U/mL)	49,67 ± 3,62	48,2 ± 5,81	50,60 ± 2,15	48,90 ± 7,17
ALT (U/mL)	91,67 ± 1,92	91,2 ± 12,62	92,6 ± 10,69	91,01 ± 6,09

Parâmetros bioquímicos obtidos do soro de camundongos machos *Swiss* tratados por via oral com Tween 80 0,05% dissolvido em solução salina 0,9% (Controle, n = 10) e ciano-carvona nas doses 25, 50 e 75 mg/kg e observados durante 24 horas (n = 10 por grupo). Os valores representam a média ± E.P.M. do número de animais usados nos experimentos. n – representa o número de animais em cada grupo.

Tabela 4: Efeitos da ciano-carvona no teste de campo aberto em camundongos.

Grupos (n)	Número de cruzamentos	Número de Rearing	Número de Grooming
Controle (12)	88.86 ± 3.09	35.38 ± 2.71	4.25 ± 0.49
DZP (12)	29.00 ± 1.79 ^a	13.29 ± 1.06 ^a	2.28 ± 0.52 ^a
CC 25 (7)	40.60 ± 9.61 ^a	6.80 ± 0.86 ^a	4.30 ± 3.35
CC 50 (7)	42.60 ± 4.55 ^{a,b}	6.00 ± 0.70 ^{a,b}	4.29 ± 0.87
CC 75 (7)	49.33 ± 5.01 ^{a,b}	5.00 ± 1.88 ^{a,b}	4.28 ± 1.42

Os valores foram expressos como a média ± E.P.M. para o número de cruzamentos com as quatro patas, número de *grooming* e o número de *rearing* dos animais utilizados nos experimentos. ^ap<0,01 (ANOVA seguido de *t*-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste), quando comparado ao grupo controle. ^bp<0,001 (seguido de *t*-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste), quando comparado ao grupo diazepam.

Tabela 5: Efeitos da ciano-carvona no teste do *rota rod* em camundongos.

Grupos (n)	Número de quedas	Tempo de permanência (s)
Controle (12)	1.70 ± 0.26	175.3 ± 1.28
Diazepam (12)	2.10 ± 0.27 ^a	171.4 ± 0.84 ^a
CC 25 (7)	1.70 ± 0.44	174.1 ± 3.19
CC 50 (7)	1.72 ± 0.35	174.9 ± 3.68
CC 75 (7)	1.72 ± 0.52	174.7 ± 1.65

Os valores foram expressos como a média ± E.P.M. do número de quedas e tempo de permanência em segundo do número de animais utilizados nos experimentos. ^ap<0,01 (ANOVA seguido de *t*-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste), quando comparado ao grupo controle.

quando comparado ao grupo controle ($p>0,05$), sugerindo que este monoterpene não produz efeito relaxante muscular e não altera a coordenação motora. Por outro lado, o diazepam usado como droga de referência foi capaz de reduzir o tempo de permanência e de aumentar o número de quedas, demonstrando sua capacidade de provocar relaxamento muscular. Dessa forma, podemos sugerir que o composto avaliado

apresenta um possível efeito sedativo, semelhante ao diazepam no teste do campo aberto, mas por outro lado demonstra um melhor potencial farmacológico de importância clínica, uma vez que não altera a coordenação motora.

Para determinar o possível efeito ansiolítico da ciano-carvona foi utilizado o teste de labirinto em cruz elevado (Tabela 6). O labirinto em cruz elevado foi

Tabela 6: Efeito da ciano-carvona no teste do labirinto em cruz elevado em camundongos.

Grupos (n)	NEBA	PEBA	TPBA	PTBA
Controle (12)	10.67 ± 0.74	40.00 ± 2.25	122.5 ± 6.37	40.75 ± 2.16
Diazepam (12)	15.71 ± 0.28 ^a	75.43 ± 2.08 ^a	208.4 ± 3.57 ^a	69.25 ± 1.26 ^a
CC 25 (7)	10.40 ± 0.65	41.32 ± 10.08	123.3 ± 8.00	41.9 ± 3.71
CC 50 (7)	10.65 ± 0,74	40.25 ± 9.85	120.4 ± 12.05	42.06 ± 3.42
CC 75 (7)	14.57 ± 0.80 ^a	73.05 ± 4.04 ^a	210.4 ± 17.58 ^a	64.65 ± 3.02 ^a

Os valores foram expressos como a média ± E.P.M. do número de entradas nos braços abertos (NEBA); da porcentagem de entradas nos braços abertos PEBA (PEBA); do tempo de permanência nos braços abertos (TPBA); e da porcentagem de tempo de permanência nos braços abertos (PTBA) do número de animais utilizados nos experimentos. ^ap<0,01 (ANOVA seguido de *t*-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste), quando comparado ao grupo controle.

realizado após trinta minutos à administração da ciano-carvona (25 e 50 e 75 mg/kg) ou diazepam (2 mg/kg), a estatística revelou efeitos significativos da ciano-carvona sobre a porcentagem de entradas para os braços abertos na maior dose testada (75 mg/kg) houve um aumento de 33,05%, quando comparado ao grupo controle. Apesar de que não houve alteração significativa na porcentagem de entradas nos braços abertos nas menores doses (25 e 50 mg/kg), quando comparado ao grupo controle ($p > 0,05$; Tabela 6). Os efeitos sobre a exploração de braços abertos após o tratamento com a ciano-carvona na maior dose sugere um possível efeito ansiolítico sobre o SNC.

Resultados demonstram que as doses de 25 e 50 mg/kg não altera os parâmetros NEBA, PEBA, TPBA e PTBA, avaliados no teste do labirinto em cruz elevado quando comparados ao grupo controle. Por sua vez a dose de 75 mg/kg de ciano-carvona aumentou de forma significativa todos os parâmetros avaliados em comparação ao grupo controle. Além disso, esse aumento foi semelhante ao observado com o grupo tratado com diazepam (droga de referência), sugerindo que a dose de 75 mg/kg apresenta efeitos ansiolíticos, com menor efeito sedativo e relaxante muscular. No entanto, futuros estudos devem ser realizados com o uso de drogas antagonistas de diferentes sistemas para esclarecer o seu mecanismo de ação ansiolítico.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA RN, SOUSA DP, NÓBREGA FFF, CLAUDINO FS, ARAÚJO DAM, LEITE JR, MATTEI R. Anticonvulsant effect of a natural compound á,â-epoxy-carvone and its action on the nerve excitability. *Neurosci Lett*, 443(1): 51–55, 2008.
- ARCHER J. Tests for emotionality in rats and mice. A review. *Anim. Behav*, 21(2): 205-235, 1973.
- BARBOSA PR, VALVASSORI SS, BORDIGNON CL, KAPPEL VD, MARTINS MR, GAVIOLI EC, QUEVEDO J, REGINATTO FH. The aqueous extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* reduce anxiety-related behaviors without affecting memory process in rats. *J Med Food*, 11(2): 282-288, 2008.
- CARLINI EA, BURGOS V. *Screening farmacológico de ansiolíticos: metodologia laboratorial e comparação entre o diazepam e o clorobenzapam*. *Rev Assoc Bras Psiq*, 1(3): 25-31, 1979.
- CARVALHO CCR, FONSECA MMR. Carvone: Why and how should one bother to produce this terpene. *Food Chem*, 95(3): 413-422, 2006.
- EHLERT PAD, CHAVES, FCM, MING LCU, SILVA MAS. Effect of substrata on the development of stem cuttings of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. limonene-carvone chemotype. *Hortic Bras*, 576(576): 259-262, 2002.
- GONÇALVES JCR, ALVES AMH, ARAÚJO AEV, SANTOS-CRUZ J, ARAÚJO DAM. Distinct effects of carvone analogues on the isolated nerve of rats. *Eur J Pharmacol*, 645(1): 108-112, 2010.
- HALL AC, TURCOTTE CM, BETTS BA, YOUNG WY, AGYEMAN AS, BURK LA. Modulation of human GABAA and glycine receptor currents by menthol and related monoterpenoids. *Eur J Pharmacol*, 506(1): 9-16, 2004.
- HARIRI AT, MOALLEMB SA, MAHMOUDI M, HOSSEINZADEHD H. The effect of crocin and safranal, constituents of saffron, against subacute effect of diazinon on hematological and genotoxicity indices in rats. *Phytomedicine*, 18(6): 499-504, 2011.
- HOSSEINZADEH H, TALEBZADEH F. Anticonvulsant evaluation of safranal and crocin from *Crocus sativus* in mice. *Fitoterapia*, 76(7-8): 722-724, 2005.
- KUNANUSORN P, PANTHONGAA, PITTAYANURAKB P, WANAUPATHAMKUL S, NATHASAEND N, REUTRAKUL V. Acute and subchronic oral toxicity studies of *Nelumbo nucifera* stamens extract in rats. *J Ethnopharmacol*, 134(3): 789-795, 2011.

CONCLUSÃO

O estudo realizado sobre a toxicidade aguda em camundongos demonstrou que a ciano-carvona nas doses avaliadas não produz alterações hematológicas e bioquímicas durante o período de 14 dias de observação, bem como não produz alteração morfológica nos principais órgãos. Com base nos estudos comportamentais podemos sugerir um possível efeito ansiolítico para a ciano-carvona. No entanto, mais estudos sobre a toxicidade subcrônica e crônica da ciano-carvona são necessários, bem como novos estudos em modelos experimentais de ansiedade fazendo uso de antagonistas são necessários para garantir seu uso de forma segura em problemas relacionados à saúde humana, principalmente na ansiedade.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho teve apoio técnico do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), da Coordenação de Aperfeiçoamento de pessoal de nível técnico (CAPES) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí (FAPEPI).

12. OLIVEIRA RB, NASCIMENTO MVM, VALADARES MC, PAULA JR, COSTA EA, CUNHA LC. Avaliação dos efeitos depressores centrais do extrato etanólico das folhas de *Synadenium umbellatum* Pax. e de suas frações em camundongos albinos. *Rev Bras Cienc Farm*, 44(3): 485-491, 2008.
13. OLSEN RW. Absinthe and gamma-aminobutyric acid receptors. *PNAS*, 97(9): 4417-4418, 2000.
14. SOUSA DP, NÓBREGA FFF, CLAUDINO FS, ALMEIDA RN, LEITE JR, MATTEI R. Pharmacological effects of the monoterpene α , β -epoxy-carvone in mice. *Braz J Pharmacogn*, 17(2): 170-175, 2007.
15. SOUSA DP, RAPHAEL E, BROCKSON TJ. Synthesis of (R)-(-)-Carvone Derivatives. *J Chem Scienc*, 65(11): 1381-1383, 2010.
16. VALE TG, FURTADO EC, SANTOS JG JR, VIANA GS. Central effects of citral, myrcene and limonen, constituents of essential oil chemotypes from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. *Phytomedicine*, 9(8): 709-714, 2002.

Correspondência

Rivelilson Mendes de Freitas
Universidade Federal do Piauí – UFPI, Departamento de
Bioquímica e Farmacologia, Campus Universitário Ministro
Petrônio Portella, Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas.
Bairro Ininga
Teresina – Piauí – Brasil
Cep: 64.049-550
E-mail: rivelilson@pq.cnpq.br