

FRANCIANNE POLI NOGOCEKE

**EFEITO TIPO ANTIMANÍACO DE R-(-) E S-(+)- CARVONA EM
CAMUNDONGOS**


Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Farmacologia, no Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Andreatini

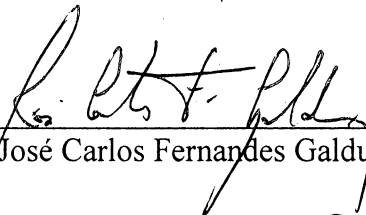
CURITIBA

2015


1 **ATA DO JULGAMENTO DA 106ª DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**
2 Ao vigésimo quarto dia do mês de março do ano de dois mil e quinze, às quatorze horas, na
3 Sala 06, Anexo I, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, reuniu-
4 se a Comissão Examinadora da Dissertação de Mestrado de autoria da pós-graduanda
5 **FRANCIANNE POLI NOGOECKE**, intitulada "Efeito Tipo Antimaniaco de R-(-) e S-
6 (+)- Carvona em Camundongos", sob orientação do Prof. Dr. Roberto Andreatini e
7 composta por: Prof. Dr. Roberto Andreatini (Presidente – Farmacologia – UFPR); Prof. Dr.
8 José Carlos Fernandes Galduróz (Psicobiologia – UNIFESP) e Prof.ª Dr.ª Maria Aparecida
9 Barbato Frazão Vital (Farmacologia – UFPR). A Banca Examinadora iniciou os trabalhos.
10 A candidata teve quarenta e cinco minutos para expor oralmente seu trabalho, sendo em
11 seguida arguida durante trinta minutos por cada um dos membros da Banca e tendo trinta
12 minutos para responder a cada uma das arguições. No final da sessão, a Comissão
13 Examinadora emitiu o seguinte parecer: APROVADA. Para a publicação, o
14 trabalho deverá sofrer as modificações sugeridas, que serão conferidas por seu orientador.
15 Nada mais havendo a tratar, o Presidente deu por encerrada a sessão, da qual foi lavrada a
16 presente ata, que será assinada pelo Presidente e pelos demais Membros da Comissão
17 Examinadora em Curitiba, 24 de março de 2015.



Prof. Dr. Roberto Andreatini (Presidente – Farmacologia – UFPR)




Prof. Dr. José Carlos Fernandes Galduróz (Psicobiologia – UNIFESP)



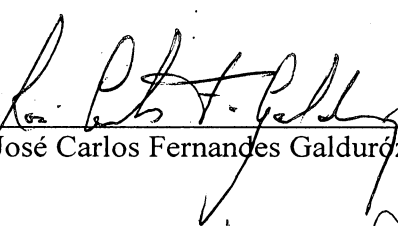
Prof.ª Dr.ª Maria Aparecida Barbato Frazão Vital (Farmacologia – UFPR)

P A R E C E R


A Comissão Examinadora da Dissertação de Mestrado intitulada "Efeito Tipo Antimaníaco de R-(-) e S-(+)- Carvona em Camundongos", de autoria da pós-graduanda FRANCIANNE POLI NOGOCECKE, sob orientação do Prof. Dr. Roberto Andreatini e composta por: Prof. Dr. Roberto Andreatini (Presidente – Farmacologia – UFPR); Prof. Dr. José Carlos Fernandes Galduróz (Psicobiologia – UNIFESP) e Prof.^a Dr.^a Maria Aparecida Barbato Frazão Vital (Farmacologia – UFPR), reuniu-se e, de acordo com o Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, a pós-graduanda foi APROVADA. Para a devida publicação o trabalho deverá sofrer as modificações sugeridas, que serão conferidas por seu orientador. Em Curitiba, 24 de março de 2015.



Prof. Dr. Roberto Andreatini (Presidente – Farmacologia – UFPR)



Prof. Dr. José Carlos Fernandes Galduróz (Psicobiologia – UNIFESP)



Prof.ª Dr.ª Maria Aparecida Barbato Frazão Vital (Farmacologia – UFPR)

Dedico este trabalho

Á minha mãe Fatima Regina Poli.

Por todo, apoio, incentivo, amor e confiança.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me permitir sonhar e me capacitar, por ter planos imensamente maiores que os meus.

A minha querida mãe Fatima que sempre sonhou, acreditou e orou para que eu alcançasse meus objetivos. Por todo apoio, incentivo, confiança, paciência, amor, e por ser um exemplo de mulher, de batalhadora, de superação e de fé.

Aos meus irmãos Laercio e Felipe pelo apoio e incentivo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Roberto Andreatini, pela oportunidade, por acreditar e confiar que eu seria capaz. Por todos ensinamentos, imensa compreensão, apoio, ajuda e pela ótima orientação que permitiu a conclusão desse trabalho.

A amiga Inara Raupp Barcaro, pelo incentivo constante e por todo ensinamento desde o início de mestrado até a conclusão. Pelo apoio, companheirismo e amizade. Sem ela eu não teria chegado até o fim.

Aos demais professores e funcionários do departamento de Farmacologia pelos ensinamentos e ajuda.

Aos funcionários do biotério do Setor de Ciências Biológicas da UFPR.

Aos amigos do mestrado e doutorado, em especial a Jeane e o Thiago pela ajuda com os camundongos e nas disciplinas cursadas.

A todos os amigos que me acompanhara nessa etapa, incentivando e dando força.

A todos que de alguma maneira tiveram alguma participação neste trabalho.

“Confie no Senhor de todo o seu coração e não se apoie em seu próprio entendimento. Em tudo quanto for fazer, lembre-se de colocar Deus em primeiro lugar. Ele guiará os seus passos pelo caminho do sucesso.”

Provérbios 3: 5,6

iv

NOTA EXPLICATIVA

Esta dissertação é apresentada em formato alternativo – artigo para publicação – de acordo com as normas do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Paraná.

SUMÁRIO

Resumo.....	1
Abstract.....	2
1. Introdução.....	3
1.1 Modelos animais de mania.....	5
1.2 Óleo essencial de hortelã.....	7
1.3 Carvona.....	10
2. Objetivos.....	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos.....	13
3. Artigo: Antimanic-like effect R-(-) and S-(+)-carvone in mice.....	14
4. Conclusão.....	31
5. Referências.....	32
ANEXO 1 - Efeito do pré-tratamento com veratrina em efeito antimaniaco de carbamazepina e carvona sobre a hiperlocomoção induzida por metilfenidato.....	40
ANEXO 2 - Certificado do CEUA.....	46

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Introdução

Tabela 1: Propriedades da hortelã.....9

Figura 1: Estrutura química da carvona11

Artigo

Tabela 1: Effects of acute intraperitoneal administration to mice of lithium carbonate (100 mg/kg), R-(+)-carvone (50 and 100 mg/kg) and S-(-)-carvone (50 and 100 mg/kg) in spontaneous locomotor activity.....20

Figura 1: Effect of acute administration (ip) of lithium (100 mg/kg, Li+), S-(+)-carvone (50 e 100 mg/kg; S-50 and S-100, respectively) and R-(-)-carvone (50 and 100 mg/kg; R-50 and R-100, respectively) in methylphenidate (5 mg/kg, ip) induced hyperlocomotion.....21

Figura 2: Effect of chronic (21 days) administration (ip) of lithium (100 mg/kg, Li+), S-(+)-carvone (100 mg/kg; S-100) and R-(-)-carvone (100 mg/kg; R-100) in methylphenidate (5 mg/kg, ip) induced hyperlocomotion.....22

Figura 3: Effect of acute administration (ip) of lithium (100 mg/kg, Li+), S-(+)-carvone (100 mg/kg; S-100) and R-(-)-carvone (100 mg/kg; R-100) in sleep deprivation-induced hyperlocomotion.....23

RESUMO

Carvona é um monoterpeneo presente em óleo essencial de hortelã e cominho que mostrou efeito anticonvulsivante, provavelmente pelo bloqueio de canais de sódio voltagem-dependente, e efeito do tipo ansiolítico. Considerando-se que alguns anticonvulsivantes que bloqueiam os canais de sódio voltagem-dependentes (por exemplo, o valproato de sódio e carbamazepina) apresentam efeito antimaníaco clinicamente, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da R-(-)- e S-(+)-carvona em modelos animais de um episódio maníaco: a hiperlocomoção induzida por metilfenidato e a hiperlocomoção induzida pela privação de sono. O lítio (100 mg/kg) foi utilizado como controle positivo. Camundongos tratados com metilfenidato (5 mg/kg) ou privados de sono durante 24 horas (método de plataformas múltiplas) mostraram um aumento da atividade locomotora em caixa de atividade automatizada. Este efeito foi bloqueado por administração aguda de R-(-)-carvona (50-100 mg/kg), S-(+)-carvona (50-100 mg / kg) e de lítio (em doses que não alteraram atividade locomotora espontânea). O tratamento prolongado (21 dias) com R-(-)-carvona (100 mg/kg), S-(+)-carvona (100 mg/kg) ou lítio também impediu a hiperatividade induzida pelo metilfenidato. Entretanto a S-(+)-carvona também acarretou diminuição da atividade locomotora espontânea, indicando um efeito sedativo. Em conclusão, os resultados sugerem que a carvona tem um potencial efeito antimaníaco.

Palavras-chave: óleo essencial, mania, camundongos, produtos naturais, psicoestimulantes.

Abstract

Carvone is a monoterpene present in spearmint and caraway essential oil that had showed anticonvulsant, probably by blockade of voltage gated sodium channel, and anxiolytic-like effects. Considering that some anticonvulsants that blocked voltage-gated sodium channels (e.g. sodium valproate and carbamazepine) showed clinical antimanic effect, the aim of the present study was to evaluate the R-(-)- and S-(+)- carvone in animal model of manic episode: hyperlocomotion induced by methylphenidate and by sleep deprivation. Lithium (100 mg/kg) was used as positive control. Mice treated with methylphenidate (5 mg/kg) or sleep deprived for 24h (multiple platform method) showed an increase in locomotor activity in automated activity box. This effect was blocked by acute R-(-)-carvone (50-100 mg/kg), S-(+)-carvone (50-100 mg/kg) and lithium pre-treatment (at doses that did not change spontaneous locomotor activity). Prolonged (21 days) treatment with R-(-)-carvone (100 mg/kg), S-(+)-carvone (100 mg/kg) and lithium also prevented methylphenidate induced hyperactivity, although S-(+)-carvone also decreased spontaneous locomotor activity, indicating a sedative effect. In conclusion, the present results suggest that carvone has a potential antimanic effect.

Key words: essential oil, mania, mice, natural product, psychostimulant,

1. INTRODUÇÃO

O transtorno de humor bipolar (THB) é considerado um dos mais graves tipos de transtorno psiquiátrico e envolve aspectos neuroquímicos, cognitivos, psicológicos, funcionais e socioafetivos. Além disso, está associado a altos índices de mortalidade e prejuízos socioeconômicos (Pereira et al., 2010). É caracterizado como um transtorno psiquiátrico crônico, recorrente, caracterizada por alterações de humor, incluindo mania, depressão e eutimia (Goodwin e Jamison, 2007). Para o diagnóstico de THB é necessário que o paciente apresente um episódio maníaco, o qual é definido pela euforia, hiperatividade, impulsividade, aumento dos comportamentos de risco, o aumento da procura de recompensa e uma diminuição da necessidade de sono (APA, 2013).

A mania afeta o humor e as funções vegetativas, como sono, cognição, psicomotricidade e nível de energia. Em um episódio maníaco clássico, o humor é expansivo ou eufórico, ocorre aumento da energia, atividades dirigidas a objetivos, atividades prazerosas, da libido, além de inquietação e até mesmo agitação psicomotora (Moreno et al., 2005). Também são características desse quadro impulsividade, agressividade e gastos econômicos excessivos estão entre os correlatos do comportamento maníaco associados com esse risco (Hirschfeldt e Vornik, 2004).

A etiologia do THB ainda é desconhecida. Acredita-se que há uma convergência de fatores ambientais, sociais, biológicos (genéticos, neuroquímicos) e psicossociais (Fontana; Fontana, 2001; Yildiz et al., 2008).

Estudos neuroanatômicos sugerem alterações da amígdala e diminuição do volume do córtex pré-frontal subgenua, estruturas que são intimamente conectadas a regiões subcorticais e estão relacionadas com o controle da resposta emocional. Estudos que avaliaram os gânglios basais demonstraram aumento de volume significativo do estriado, globo pálido e núcleo caudado em pacientes com THB (Machado-Vieira et al., 2005). Essas mudanças

anatômicas podem resultar de mudanças relacionadas aos fatores neurotróficos e ao aumento da atividade pró-apoptótica neuronal. (Kapczinski et al., 2009). Os níveis de BDNF (fator neurotrófico de desenvolvimento do cérebro), importante para a neurogênese, encontra-se diminuídos em pacientes com THB (Strakowski et al., 2005), enquanto as neurotrofinas NT3 e NT4 estão aumentadas durante o curso do THB (Walz et al., 2007; Walz et al., 2009).

Em relação à neuroquímica da fase maníaca algumas teorias são propostas, como alterações glutamatérgicas, dopaminérgicas e na proteína quinase C (PKC) (Yildiz et al., 2008; Szabo et al., 2009). O aumento do stress oxidativo e dos níveis e atividade da PKC, além do aumento da dopamina contribuem para o desenvolvimento da sintomatologia maníaca. (Yildiz et al., 2008; Bymaster e Felder, 2002).

Ainda não foram totalmente esclarecidas as alterações que ocorrem na fase maníaca, embora alterações da via de sinalização intracelular da PKC têm sido propostas (Sabioni et al., 2008). Na revisão de Armani et al. (2014) destaca-se o papel fundamental da PKC como alvo terapêutico para o tratamento do THB, e evidencia que a inibição da PKC atenua sinais maníacos de maneira semelhante às drogas antimaníacas, ao passo que a ativação de PKC relaciona-se com estados maníacos. Além disso, a inibição da PKC pelo lítio e valproato tem sido sugerida como o mecanismo de estabilização do humor de maior importância no transtorno bipolar (Manji and Chen, 2002).

O ácido gama aminobutírico (GABA), principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central, também pode estar envolvido no THB. Grande parte dos estabilizadores do humor apresenta efeitos terapêuticos mediados por modulação gabaérgica (Machado-Vieira et al., 2005). A disfunção desse neurotransmissor pode levar a estados maníacos e depressivos, visto que, em pacientes bipolares, os níveis plasmáticos de GABA estão diminuídos (Kapczinski et al., 2004).

O glutamato, principal neurotransmissor excitatório do SNC apresenta-se diminuído no THB, e estudos demonstram a ação de estabilizadores de humor na sua neurotransmissão (Kapczinski et al., 2004). Além disso, Shiah et al. (2000) sugeriram que uma função serotoninérgica central diminuída, associada a uma função noradrenérgica aumentada, poderia estar envolvida na gênese da mania.

Lítio, valproato de sódio, carbamazepina, antipsicóticos atípicos e tamoxifeno são eficazes para o tratamento de episódios maníacos agudos (Yildiz et al., 2011). No entanto, alguns pacientes não respondem adequadamente a estes tratamentos, e os efeitos adversos dessas drogas podem limitar a sua utilização ou reduzir a adesão ao tratamento (Goodwin e Jamison, 2007; Machado-Vieira et al., 2008; Nierenberg, 2010).

Portanto, há uma clara necessidade de desenvolver novos estabilizadores de humor, visando tratamentos mais eficazes e menos tóxicos. No entanto, o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos para a doença bipolar pode ser dificultado pela baixa disponibilidade de bons modelos animais (Gould et al., 2001; Gould e Einat, 2007), pois não há nenhum modelo com uma validade clara e evidente para todo o âmbito do transtorno (Kara e Einat, 2013), além da dificuldade em avaliar o efeito profilático dos estabilizadores de humor (Kato et al., 2007).

1.1 Modelos animais de mania

A mania apresenta sintomatologia multifacetada que não é adequadamente representada em modelos animais (Young et al., 2011). A natureza oscilatória do THB prejudica o desenvolvimento de modelos que represente os extremos da doença, e, assim, os diferentes estados do THB são frequentemente avaliados em modelos distintos de mania ou depressão (Machado-Vieira et al., 2004). A agitação psicomotora é comumente observada

durante a mania e a atividade locomotora é facilmente medida em roedores, e, por isso, a maioria dos modelos utiliza o aumento da atividade locomotora como principal medida para avaliação da mania e de possíveis drogas antimaníacas (Young et al., 2011).

O modelo mais utilizado para avaliar a eficácia de drogas antimaníacas é hiperlocomoção induzida por psicoestimulantes, como anfetamina e metilfenidato (Einat, 2006). Psicoestimulantes podem produzir sintomas de tipo maníacos nos animais. A hiperatividade representa uma característica importante do comportamento maníaco (Young et al., 2007). Há vários relatos mostrando que drogas antimaníacas como lítio e valproato de sódio foram eficazes em reverter a hiperlocomoção induzida por psicoestimulantes em testes animais, conferindo validade preditiva para o modelo (Gould et al., 2001; Einat, 2006).

O uso de psicoestimulantes como um modelo de mania tem uma série de limitações. A maioria dos modelos utiliza doses agudas e induzindo alterações agudas (de curta duração), enquanto a mania é uma doença crônica, com alterações comportamentais, psicológicas e moleculares a longo prazo. Além disto, esse modelo também é utilizado para outras doenças, como esquizofrenia e abuso de drogas. Finalmente, a sintomatologia da mania nem sempre inclui hiperatividade motora (Young et al., 2011).

Apesar destas limitações, o modelo tem sido considerado um modelo com boa validade preditiva, pois os sintomas são revertidos com o uso de drogas antimaníacas como o lítio. Em relação à validade de face, os comportamentos induzidos por psicoestimulantes assemelham-se aos observados nos estados maníacos, principalmente no que se refere a hiperlocomoção, mas também à insônia e ao prejuízo da avaliação de risco (Young et al., 2011; Gould et al., 2001; Machado-Vieira et al., 2004; Einat, 2006). Além disso, a validade de constructo mostra participação dos sistemas monoaminérgicos nos quadros maníacos. (Einat, 2006) Além disto, este

comportamento parece estar relacionado à neurotransmissão dopaminérgica no núcleo accumbens, uma vez que a destruição seletiva dos neurônios dopaminérgicos reduz drasticamente este efeito da anfetamina (Kelly e Iversen, 1976).

Em contraste com os modelos farmacológicos de mania, pode-se induzir o comportamento maníaco utilizando manipulações ambientais, como a privação de sono (Young et al., 2011). Depois da privação de sono os animais demonstram insônia, hiperatividade, irritabilidade, agressividade, hipersexualidade e estereotipia, o que confere validade de face ao modelo. Essas alterações no comportamento foram revertidas pelo lítio e tamoxifeno, o que corrobora para a validade preditiva do teste (Gessa et al., 1995; Armani et al., 2012). Além disso, o modelo produz alterações neuroquímicas como aumento da dopamina e hipoatividade do sistema opióide, como é visto na fase maníaca (validade de constructo) (Gessa et al., 1995; Yatham et al., 2005).

Armani et al., 2012 levantou a hipótese de que a privação de sono pode induzir uma hiperatividade de PKC através de um mecanismo comum entre perda de sono e estados maníacos. Em seu estudo, o tamoxifeno (inibidor de PKC) reverteu a hiperlocomoção induzida por privação de sono, o que sustenta sua hipótese.

1.2 Óleo essencial de hortelã

Os óleos essenciais são produtos naturais que apresentam diversas atividades biológicas, relacionadas principalmente aos monoterpenos, seu principal componente químico, e demonstrando seu potencial uso para o desenvolvimento de novas drogas (de Almeida, et al., 2003; Gonçalves et al., 2008). A literatura apresenta estudos que demonstraram que óleos essenciais penetram na barreira hematoencefálica, aumentando o interesse de pesquisadores em seu possível uso para o tratamento de doenças do Sistema

Nervoso Central (SNC), apresentando efeito analgésico, ansiolítico, antidepressivo, e propriedades anticonvulsivas (Koutroumanidou et al., 2013).

O gênero *Mentha* (família Lamiaceae – labiateae) é amplamente conhecido, ocorrendo em regiões de clima temperado, como Ásia, Austrália, África do Sul, América, Europa, China e Índia (Khanuja, 2007). Possui cerca de 25-30 espécies e a mais conhecida é a *Mentha spicata*, conhecida como hortelã (Arumugam, et al., 2008). A *M. spicata* (hortelã) é uma fonte de óleo essencial, o qual tem grande importância econômica, pois é amplamente utilizado na indústria alimentícia e farmacêutica, sendo útil na fabricação de produtos de confeitaria, goma de mascar, bebidas e pasta de dentes (Arumugam e Ramesh, 2009).

A planta é conhecida por ser dotada com uma variedade de propriedades biológicas, devido ao elevado teor de metabolitos secundários que ela possui (Choudhury et al., 2006). Popularmente, suas folhas são utilizadas para aliviar soluços, flatulência, vertigens e como remédio para bronquite e outras inflamações, além do uso como antiemético na gravidez (Arumugam e Ramesh, 2009). A tabela 1 apresenta as principais propriedades/ uso da hortelã.

TABELA1 : Propriedades da hortelã.

Propriedades/uso	Referência
Anti-alérgica	Yamamura et al. de 1998
Anti-oxidante	Kanatt et al., 2007; Arumugam et al., 2006, 2008; Arumugam e Ramesh, 2011.
Anti-agregante plaquetário	Tognolini et al., 2006.
Anti-citotóxicos	Manosroi et al., 2006.
Químio-preventivo	Salim et al., 2000.
Anti-inflamatório	Arumugam et al. 2006, 2008.
Anti-mutagênica	Yu . et al., 2004; Arumugam e Ramesh, 2009.
Modulação dos canais de cálcio dependente em processos intestinais, neuronais e cardíacos	Hawthorn et al., 1988.
Radioprotetora	Haksar et al., 2009.
Prevenção de vômitos e náusea induzidos por quimioterapia.	Tayarani-Najaran et al., 2013.
Anticonvulsivante	Koutroumanidou et al., 2013.
Larvicida e inseticida	Govindarajan et al., 2012; Koliopoulos et al., 2010.
Antimicrobiano	Orhan et al., 2011. Arumugam et al., 2009
Carminativo	Yonis e Beshir, 2004.

O Óleo de hortelã contém monoterpenos como carvona, limoneno, mentona, mentol, pulegona, dihidrocarveol e s-carvona (Arumugam et al., 2008). Monoterpenos são metabolitos secundários de plantas responsáveis pelas características da fragrância e sabor de plantas, sendo bem conhecidos como componentes típicos dos óleos essenciais (Ringer et al., 2005). Os terpenos podem conter um ou mais átomos de carbono assimétricos (quiral) que apresentam atividade óptica. A quiralidade pode influenciar na sua propriedade de odor, atividade biológica, mecanismo de ação, metabolismo e

toxicidade dos pares enantioméricos, o que deve ser cuidadosamente avaliado (Barba et al.,2013).

O óleo de hortelã é rapidamente absorvido após a administração oral e eliminado principalmente por via biliar. O principal metabolito biliar é glucuronido mentol, que sofre circulação entérica. Os metabolitos urinários resultam da hidroxilação do radical isopropil, formando uma série de mono- e dihidroximontóis e ácidos carboxílicos, alguns dos quais são excretados em parte como conjugados de ácido glucorónico (Grigoleit e Grigoleit , 2005).

1.4 Carvona

A carvona (*p*-menta-6 ,8-dien-2-ona) (FIGURA 1) é um monoterpreno cetônico quiral, que pode ser obtida por destilação, existindo naturalmente em duas formas enantioméricas: a *S*(+)-carvona, componente principal no óleo de sementes de alcarávia ou cominho (*Carum carvi*), e *R*(-)-carvona, presente no óleo de hortelã (*Mentha spicata*) (Gonçalves et al., 2010; Lambert et al., 2012; Souza et al., 2013).

Estudos utilizando modelos animais já demonstraram que a carvona apresenta diferentes efeitos depressores no sistema nervoso central, como diminuição da deambulação e na reação ao toque, ptose palpebral, aumentos de sedação (de Sousa et al., 2007). Gonçalves et al. (2010) mostraram que a carvona diminuiu a condução em nervo periférico. Buchbauer et al. (2005) realizaram um estudo utilizando carvona na forma de inalação, a qual diminuiu a atividade locomotora dos animais.

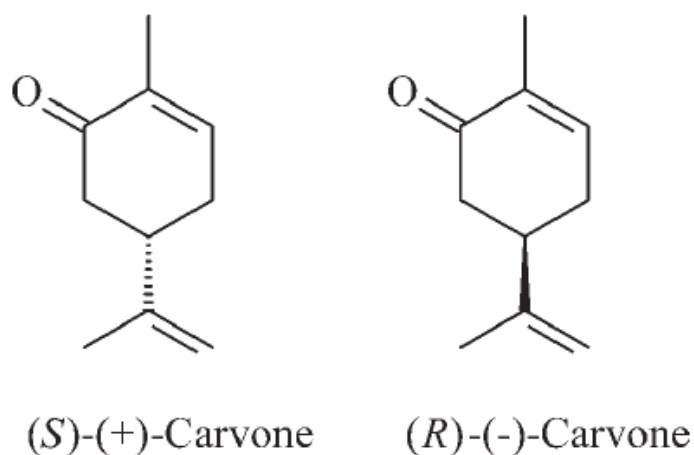


Figura 1: Estrutura química da carvona

A R-(-)-carvona apresentou atividade antinociceptiva (de Sousa, 2007) associada com a diminuição da excitabilidade nervosa periférica (Gonçalves et al., 2008), além de possuir um efeito tipo ansiolítico no labirinto em T elevado (Hatano et al., 2012). Por outro lado, a S-(+)-carvona parece possuir atividade anticonvulsiva em convulsões induzidas por pentilenotetrazol e picrotoxina (de Sousa, 2007).

Estudos utilizando derivados da carvona também mostraram efeitos semelhantes. A cianocarvona tem propriedades ansiolítica, anticonvulsivante, antioxidante e antinociceptiva (Costa et al., 2012a; Costa et al., 2012b; Marques et al., 2014a; Marques et al., 2014b). A α , β -epoxi-carvona apresentou diminuição da atividade motora (de Sousa et al., 2007a) além de efeito antinociceptivo e anti-inflamatório (da Rocha et al., 2013). A hidroxidiidrocarvona mostrou efeito depressor no SNC (de Sousa et al., 2006).

Considerando que algumas drogas usadas atualmente para mania foram originalmente desenvolvidas para outras condições, tais como drogas antiepilépticas (carbamazepina e valproato), e que a carvona (predominantemente a S - (+) - carvona) exibe efeito anticonvulsivante, o

objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de R - (-) - e S - (+) - carvona em camundongos testados em modelos animais de mania.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito tipo antimaníaco da R-(-)- e S-(+)-carvona em modelos animais.

2.2. Objetivos específicos

1. Avaliar o efeito da administração aguda da R-(-)- e S-(+)-carvona no aumento da atividade locomotora induzida por metilfenidato
2. Avaliar o efeito da administração prolongada (21 dias) da R-(-)- e S-(+)-carvona no aumento da atividade locomotora induzida por metilfenidato
3. Avaliar o efeito da administração aguda da R-(-)- e S-(+)-carvona no aumento da atividade locomotora induzida por privação de sono

3. ARTIGO

Antimanic-like effect R-(-)- and S-(+)-carvone in mice

Francianne P Nogoceke¹, Inara MR Barcaro¹, Damião P de Sousa²,
Roberto Andreatini^{1*}

¹ Department of Pharmacology, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil.

²Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil.

* Corresponding author

Roberto Andreatini

Departamento de Farmacologia, Anexo I, Setor de Ciências Biológicas, Centro Politécnico, Universidade Federal do Paraná, Jardim das Américas, Curitiba, PR, 81531-980, Brazil. Fax: +55(41)3266 2042. E-mail: randreatini@ufpr.br

Abstract

Carvone is a monoterpene present in spearmint and caraway essential oil that had showed anticonvulsant, probably by blockade of voltage gated sodium channel, and anxiolytic-like effects. Considering that some anticonvulsants that blocked voltage-gated sodium channels (e.g. sodium valproate and carbamazepine) showed clinical antimanic effect, the aim of the present study was to evaluate the R-(-)- and S-(+)- carvone in animal model of manic episode: hyperlocomotion induced by methylphenidate and by sleep deprivation. Lithium (100 mg/kg) was used as positive control. Mice treated with methylphenidate (5 mg/kg) or sleep deprived for 24h (multiple platform method) showed an increase in locomotor activity in automated activity box. This effect was blocked by acute R-(-)-carvone (50-100 mg/kg), S-(+)-carvone (50-100 mg/kg) and lithium pre-treatment (at doses that did not change spontaneous locomotor activity). Prolonged (21 days) treatment with R-(-)-carvone (100 mg/kg), S-(+)-carvone (100 mg/kg) and lithium also prevented methylphenidate induced hyperactivity, although S-(+)-carvone also decreased spontaneous locomotor activity, indicating a sedative effect. In conclusion, the present results suggest that carvone has a potential antimanic effect.

Key words: essential oil, mania, mice, natural product, psychostimulant,

INTRODUCTION

Bipolar disorder (BD) is a chronic mental illness, characterized by recurrent mood swings that include mania, depression and euthymia (Goodwin and Jamison, 2007). The diagnosis of BD requires at least one manic episode (past or present), which is characterized by euphoria, psychomotor agitation/hyperactivity, impulsivity, increase risk behavior and demand for reward and decreased need for sleep (Young et al., 2011; APA, 2013). Lithium, sodium valproate, atypical antipsychotics and tamoxifen are efficacious pharmacological treatments for acute manic episodes (Yildiz et al., 2011). However, some patients do not respond adequately to these treatments or show adverse effects that can limit their use or reduce adherence to treatment (Goodwin and Jamison, 2007; Machado-Vieira et al., 2008; Nierenberg, 2010). Therefore, there is a clear need to develop new antimanic drugs with increasing efficacy and lessening adverse effects.

Hyperactivity induced by psychostimulants (amphetamine or methylphenidate) or by sleep deprivation has been related to psychomotor agitation observed in mania (Gessa et al., 1995; Machado-Vieira et al., 2004; Einat, 2006; Young et al., 2011; Sabioni et al., 2008). This model has some drawbacks since did not capture the cycling nature of BD and it is limited to one criteria of mania which is not limited to the disorder (Einat, 2006; Young et al., 2011). However, it showed a good predictive validity, since this hyperactivity can be blocked by standard antimanic drugs like lithium, valproate, carbamazepine, antipsychotics, and tamoxifen at doses that did not impair spontaneous locomotor activity (Gessa et al., 1995; Gold et al., 2001; Armani et al., 2012; Sabioni et al., 2008; Barbosa et al., 2011; Young et al., 2011; Tonelli et al., 2013; Arunagiri et al., 2014; Kara et al., 2014; Ene et al., 2015). Moreover, it is simple and quick to perform, easily measured and cheap, turning it a good tool for screening new antimanic-like drugs.

Essential oils are natural products that have various biological activities, such as anticonvulsant and anxiolytic (Almeida et al., 2003; de Sousa et al., 2007), which has been related to monoterpenes, their main chemical component (Gonçalves et al., 2008). Essential oils have high potential for development of new drugs, as demonstrated by silexan, an essential oil from *Lavandula angustifolia*, in the treatment of generalized anxiety disorder (Woelk and Schläke, 2010). Carvone (*p*-mentha-6, 8-dien-2-one) is a chiral monoterpene ketone which can be obtained by distillation and it exists naturally in two enantiomeric forms: S (+) -carvone, the main component in the caraway essential oil (*Carum carvi*), and R (-) – carvone present in spearmint essential oil (*Mentha spicata*) (Gonçalves et al., 2010; Lambert et al., 2012; Souza et al., 2013). R-(-)-carvone presents antinociceptive activity (de Sousa, 2007) and an anxiolytic-like effect in the elevated T (Hatano et al., 2012). On the other hand, S-(+)-carvone appears to possess anticonvulsant activity in pentylenetetrazole- and picrotoxin- induced seizures (de Sousa, 2007). Both R-(-) and S-(+)-carvone decreased peripheral nerve activity, probably due to block of voltage-gated sodium channels (Gonçalves et al., 2010). Inhalation of R-(-)-carvone, but not S-(+)-carvone attenuated increased locomotor activity induced by caffeine and, depending from the experimental conditions, by amphetamine (Buchbauer et al., 2005).

Additional studies using carvone derivatives also showed similar effects. Cyane-carvone has anxiolytic, anticonvulsant, antioxidant and antinociceptive properties (Costa et al., 2012a; Costa et al., 2012b; Marques et al., 2014a; Marques et al., 2014b). The α,β -epoxy-carvone decreased motor activity (de Sousa et al., 2007a) and showed anticonvulsant, antinociceptive and anti-inflammatory effect (Almeida et al., 2008; da Rocha et al., 2013). Hydroxydihydrocarvone showed depressant effect on the CNS (de Sousa et al., 2006). Considering that some currently used drugs for mania were originally developed for other conditions, such as antiepileptic drugs (carbamazepine and valproate), which shared in common the blockade of voltage-gated sodium channels, and that carvone (predominantly the S-(+)-carvone) exhibits

anticonvulsant effect, the aim of this study was to evaluate the effect of R-(-)- and S-(+)-carvone in mice tested in animal models of mania.

MATERIAL AND METHODS

The subjects were Male Swiss mice (20-30g) from Federal University of Paraná, housed in groups of five, in polypropylene cages with wood shavings as bedding. The mice were maintained under controlled conditions of temperature ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) and light (12h light-dark cycle, light on at 7am), with free access to water and food. The experiments were carried out between 1:00 and 5:00 PM. Procedures were approved by the Ethics Committee in Animal Experimentation of UFPR (CEUA number 681).

Drugs and Treatments

Lithium Carbonate 100 mg/ kg (Eurofarma, Brasil) were dissolved in saline, with pH adjusted to 7.4 (HCl 2N) (Sabioni et al., 2007). Methylphenidate 5 mg/kg (Ritalina, Novartis, Brasil) was prepared in saline (Pereira et al., 2011). S(+) e R(-)-Carvona 50 and 100 mg/kg (supplied by DPS, Federal University of Paraíba) were prepared in Tween 80 (5% V/V)(de Sousa et al., 2007). All drugs were administered intraperitoneally.

Spontaneous Locomotor Activity

Spontaneous locomotor activity of each animal was measured during 5 min in automated activity boxes (40 x 20 x 26 cm) with wood walls equipped with 3 sensors (10 cm distance each other) and wire floor (Sabioni et al, 2008). The number of crossings (beam interruptions) was taken as measure of locomotor activity. After the test, each animal was picked up and put back to its cage.

Methylphenidate induced hyperlocomotion

The same apparatus was used to measure the hyperlocomotion induced

by methylphenidate or sleep deprivation. Mice were treated with S-(+)- and R-(-)-carvone, lithium or vehicle and after 15 minutes treated with methylphenidate or saline. After 20 min each mouse was placed inside the box and the number of crossings was measured during 20 min. In the prolonged study, mice were treated once a day for 3 weeks with test drugs and then the same protocol was done.

Sleep deprivation induced hyperlocomotion

Before sleep deprivation, mice were submitted to a basal evaluation of spontaneous locomotor activity for 20 minutes. Then, mice were treated with S-(+) or R-(-)-carvone, lithium or vehicle and submitted to sleep deprivation during 24h (Armani et al., 2012). Briefly, 5 mice were placed in a polypropylene cage (identical to their homecage) with 1cm deep water and 10 cement platforms (3cm diameter x 5cm height), with food and water freely available at the top. Thirty minutes before finishing the sleep deprivation, the mice were treated again with the same drug and returned to the sleep deprivation cage. Immediately after sleep deprivation each mouse was placed in the locomotor activity box for 20 min. The number of crossings was considered the index of locomotor activity.

Statistical analysis

Data were shown as mean \pm SEM and analyzed by one-way (treatment) ANOVA for independent samples followed by Newman-Keuls test. Statistica 7.0 software was used for data analysis. Statistical significance was set at $p \leq 0.05$.

RESULTS

Spontaneous Locomotor Activity

The results of spontaneous locomotor activity are presented in table 1. There was no significant difference between treated groups and control ($F_{5,51} = 0.188$, NS), suggesting that the drug at doses employed did not change spontaneous locomotor activity.

TABLE 1: Effects of acute intraperitoneal administration to mice of lithium carbonate (100 mg/kg), R-(+)-carvone (50 and 100 mg/kg) and S-(-)-carvone (50 and 100 mg/kg) in spontaneous locomotor activity.

Acute treatment	Locomotor Activity
Vehicle	124.2 ± 9.7
Lithium	122.9 ± 8.1
S-(+)-carvone 50	121.9 ± 6,9
S-(+)-carvone 100	124.9 ± 11.3
R-(-)-carvone 50	113.9 ± 7.0
R-(-)-carvone 100	121.1 ± 9.6

Data represent the mean ± SEM (n=9-10) of the number of beam interruptions. No significant difference was detected.

Methylphenidate induced hyperlocomotion

In both experiments, methylphenidate induced an increase in locomotor activity (Figs. 1 and 2). The positive control (lithium) and both carvone enantiomers, in tested doses, blocked methylphenidate induced hyperlocomotion after acute (Fig.1) and prolonged (Fig. 2) treatments. One-way ANOVA showed significant difference in the number of crossings in both acute ($F_{11,132}=9.51$; $p < 0.001$) and chronic ($F_{7,68}=22.26$; $p < 0.001$) treatments.

In acute experiment (Fig. 1)., *post hoc* test indicated that vehicle + methylphenidate group increased locomotor activity when compared to all other groups (all $p < 0.001$); moreover, S-100 and R-100 plus methylphenidate groups

showed higher activity than their respective vehicle group. There were no significant differences among groups that did not receive methylphenidate.

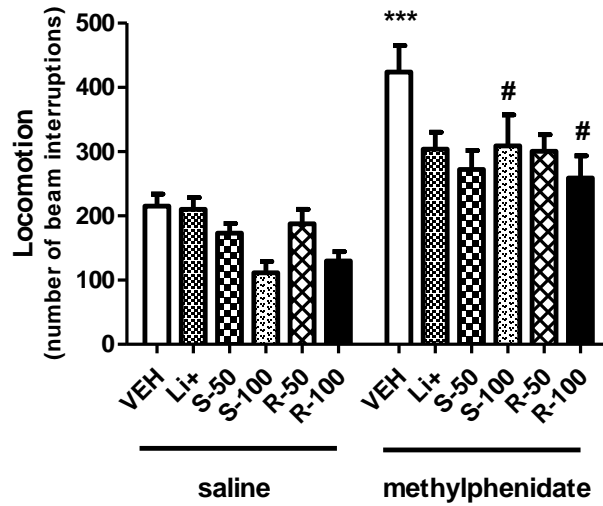


FIGURE 1: Effect of acute administration (ip) of lithium (100 mg/kg, Li+), S-(+)-carvone (50 e 100 mg/kg; S-50 and S-100, respectively) and R-(-)-carvone (50 and 100 mg/kg; R-50 and R-100, respectively) in methylphenidate (5 mg/kg, ip) induced hyperlocomotion. Data represent mean \pm SEM of numbers of beam interruptions (n=11-12 mice/group). ***p<0.001 compared to all other groups; #p<0.05 compared to its respective control treated with saline (S-100 or R-100).

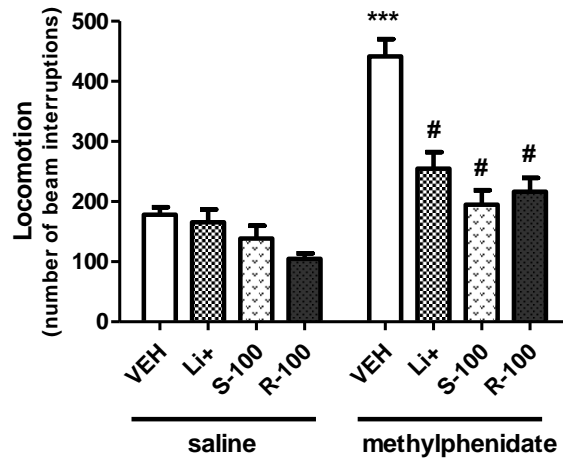


FIGURE 2: Effect of prolonged (21 days) administration (ip) of lithium (100 mg/kg, Li+), S-(+)-carvone (100 mg/kg; S-100) and R-(-)-carvone (100 mg/kg; R-100) in methylphenidate (5 mg/kg, ip) induced hyperlocomotion. Data represent mean \pm SEM of numbers of beam interruptions (n=9-10 mice/group), ***p<0.001 compared all other groups. #p<0.05 compared to its respective control (Li+ or R-100 + vehicle).

In prolonged experiment, *post hoc* test indicated statistically significant increase in locomotor activity in vehicle + methylphenidate group compared to all other groups (all p<0.001). The groups treated with lithium and R-100 + methylphenidate were different from their respective controls (Li+ or R-100 + vehicle; p<0.05). No significant effect was found between groups treated test drugs plus saline.

Sleep deprivation induced hyperlocomotion

Figure 3 shows the effect of administration of S-(+) and R-(-)-carvone and lithium in the sleep deprivation induced hyperlocomotion. One-way ANOVA showed significant effect for treatment factor ($F_{7,72}=9.47$; p<0.001). The sleep deprived mice treated with vehicle (sleep deprived + VEH) showed greater activity than all other groups (all p<0.001). S-100 + vehicle showed lower locomotion than control + vehicle group (p<0.05). No other differences among

the groups were seen. No significant difference was seen in basal activity ($F_{7,72} = 1.111$; data not shown).

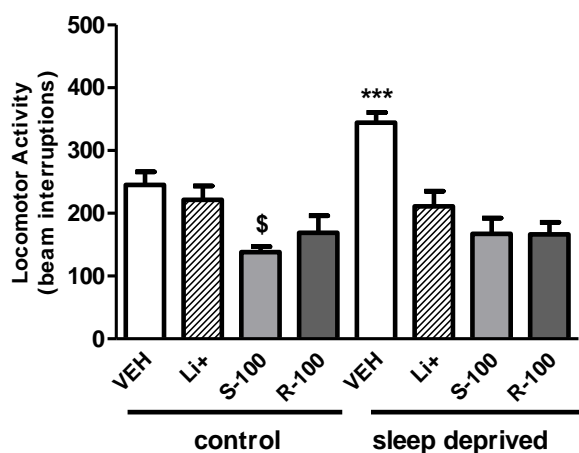


FIGURE 3: Effect of acute administration (ip) of lithium (100 mg/kg, Li+), S-(+)-carvone (100 mg/kg; S-100) and R-(-)-carvone (100 mg/kg; R-100) in sleep deprivation-induced hyperlocomotion (sleep deprivation: 24h, multiple platforms, 5 mice per cage). Data represent mean \pm SEM of numbers of beam interruptions (n=10 mice/group). *** $p < 0.001$ compared to all other groups; \$ $p < 0.05$ compared to control (control vehicle treated).

Discussion

The present study showed that acute and prolonged administration of both enantiomers of carvone blocked hyperlocomotion induced by methylphenidate. These effects were observed at doses which had no effect on spontaneous locomotor activity, indicating that the observed effects are not assigned to a sedative or depressant effect. R-(-)- and S-(+)-carvone also blocked the hyperactivity induced by sleep deprivation, although S-(+)-carvone alone reduced spontaneous locomotor activity, which indicated a sedative effect. The present results partially disagree to those observed by Buchbauer et al. (2005), whom did not observe any effect of S-(+)-carvone and a weaker effect of R-(-)-carvone in amphetamine induced increase locomotor activity. These discrepancies can be ascribed by different objectives, which lead to

different methodological design. For example, Buchbauer et al. (2005) treated female mice by inhalation, while we used higher doses administered intraperitoneally.

Blockade of the excitatory effect of psychostimulant (methylphenidate or amphetamine) is considered indicative of antimanic effect when the dose of the tested substance alone did not change the motor activity (Gould et al., 2001; Sabioni et al., 2008; Young et al., 2011). Antimanic drugs such as lithium, sodium valproate, carbamazepine and tamoxifen have similar results to those observed in our study using psychostimulant-induced hyperlocomotion (Gould et al., 2001; Sabioni et al., 2008; Barbosa et al., 2011; Pereira et al., 2011; Tonelli et al., 2013). In this line, in the present study, both acute and chronic lithium administration also blocked the methylphenidate effect, which confirms the validity of the procedure used.

Although the psychostimulant-induced hyperlocomotion model is widely used for screening antimanic drugs and it is sensitive to clinically effective mood stabilizers, this model has some drawbacks such as: it did not capture the cycling nature of BD; it evaluate only one facet of the manic episode; and hyperactivity was also seen in other disorders (Einat, 2006; Young et al., 2011). Moreover, in this model it is important to consider the possibility that pharmacokinetic interaction between test drugs and psychostimulant (methylphenidate or amphetamine) may influence the results. For example, if carvone lowered plasma levels of MPH it consequently could reduce hyperlocomotion, which would be a false positive result. This problem can be minimized using another animal model that did not employ psychostimulant drugs, such as sleep deprivation induced hyperlocomotion. Furthermore, the use of two models minimizes the probability of false results, an important issue with drug induced behaviors.

Sleep deprivation is an environmental induced model of mania (Einat, 2006), which does not use drugs to stimulate hyperlocomotion. After sleep

deprivation animals showed manic-like behaviors, like hyperactivity, delay to fall asleep and hypersexuality that were reversed with lithium, antipsychotics and tamoxifen indicating a good predictive validity of this model (Gessa et al., 1995; Armani et al., 2012). Both carvone enantiomers were effective in reversing hyperlocomotion induced by deprivation sleep, however the group treated with S-(+)-carvone alone had a lower activity compared to the control-vehicle group, indicating a sedative effect. This latter result is coherent with sedative effect observed with R-(-)- and S-(+)-carvone 200mg/kg in mice (Sousa et al., 2007).

Thus, the result from sleep deprivation model indicated that the effect of carvone on methylphenidate induced hyperlocomotion was not related to pharmacokinetic interaction. Moreover, considering that drug induction behaviors limit the study to few neurotransmitters (e.g. catecholamines), the result with sleep deprivation reinforces the putative antimanic effect of carvone.

Evidences suggest that some existing treatments for mania can exert their therapeutic action via regulation of ion channels, since they regulate neuronal excitability (Gould et al., 2004). The molecular targets for some antiepileptic drugs are voltage gated ion channels, including sodium, calcium and potassium channels. Antiepileptic drugs as valproate and carbamazepine have been successfully used in the treatment of manic episode and both decrease the flow and the sodium ions accumulate in the cell (Bourin et al., 2009; Judy and Zandi, 2013; Tonelli et al., 2013). Moreover, the antimanic-like effect of carbamazepine and phenytoin in methylphenidate induced hyperlocomotion was blocked by veratrine, an opener of voltage gated sodium channels (Tonelli et al., 2013). In this line, it is interesting to note that the anticonvulsant and antinociceptive effect of carvone enantiomers as their derivatives (e.g. α,β -epoxycarvone) may be related to voltage gated sodium channels (Gonçalves et al., 2008; Almeida et al., 2008). It is also proposed a GABA role in BD (Brady et al., 2013) and some studies suggest that carvone may affect GABAergic neurotransmission (Hall et al., 2004; Sanchez-Borzone et al., 2014).

In conclusion, the present study suggests that both carvone enantiomers have a potential antimanic effect.

References

- Almeida, RN., Motta, SC., Leite, JR. Óleos essenciais com propriedades anticonvulsivantes Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromat 2003. 2: 3–6.
- Almeida RN; de Sousa DP; Nobrega FFF; Claudino FS; Araújo DAM; Leite JR; Mattei R. Anticonvulsant effect of a natural compound α,β -epoxy-carvone and its action on the nerve excitability. *Neurosci Lett* 2008. 443(1): 51–55, 2.
- American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders 5th edn. American Psychiatric Publishing, Washington, DC 2013.
- Armani, F., Andersen, ML., Andreatini, R., Frussa-Filho, R., Tufik, S., Galduróz, JC. Successful combined therapy with tamoxifen and lithium in a paradoxical sleep deprivation-induced mania model. *CNS Neurosci Ther* 2012. 18(2): 119-125.
- Arunagiri P , Rajeshwaran K , Shanthakumar J , Tamilselvan T , Balamurugan E .Combination of omega-3 Fatty acids, lithium, and aripiprazole reduces oxidative stress in brain of mice with mania. *Biol Trace Elem Res* 2014. 160 (3): 409-417
- Barbosa F.J., Hesse B., de Almeida R.B., Baretta I.P., Boerngen-Lacerda R., Andreatini R. Magnesium sulfate and sodium valproate block methylphenidate-induced hyperlocomotion, an animal model of mania. *Pharmacol Rep* 2011. 63: 64–70.
- Bourin M., Chenu F., Hascoët M. The role of sodium channels in the mechanism of action of antidepressants and mood stabilizers. *Curr. Drug Targets* 2009. 10: 1052–1060.
- Brady R Jr ; Öngür D, Keshavan M. Neurobiology of mood-state shifts in bipolar disorder: a selective review and a hypothesis. *Harv Rev Psychiatry* 2014. 22 (1): 23-30

- Buchbauer G, Jäger W, Gruber A, Dietrich H. R-(+)- and S-(-)-carvone: influence of chirality on locomotion activity in mice. *Flavour Fragr J* 2005. 20: 686–689.
- Costa DA, De Oliveira GA, Lima TC, Dos Santos PS, De Sousa DP, De Freitas RM. Anticonvulsant and Antioxidant Effects of Cyano-carvone and Its Action on Acetylcholinesterase Activity in Mice Hippocampus. *Cell Mol Neurobiol* 2012a. 32 (4): 633-640.
- Costa DA, Oliveira GAL, Costa JP, Souza GF, De Sousa DP, Freitas RM. Avaliação da toxicidade aguda e efeito ansiolítico de um derivado sintético da carvona. *Rev Bras Ciênc Saúde*. 2012b. 16: 303-310.
- da Rocha ML, Oliveira LE, Patricio dos Santos CC, de Sousa DP, de Almeida RN, Araújo DA. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the monoterpene α,β -epoxy-carvone in mice. *J Nat Med* 2013. 67(4):743-749.
- de Sousa DP, Oliveira FS, Almeida RN. Evaluation of the central activity of hydroxydihydrocarvone. *Biol Pharm Bull* 2006. 29: 811–812.
- de Sousa DP, Nóbrega FFF, Almeida RN. Influence of the chirality of (R)-(-)- and (S)-(+)-carvone in the central nervous system: a comparative study. *Chirality* 2007. 19: 264–268.
- de Sousa DP, Nobrega FF, Claudino FS, de Almeida RN, Leite JR, Mattei R. Pharmacological effects of the monoterpene α , β -epoxy-carvone im mice. *Braz J Pharmacogn* 2007a. 17(2): 170-175
- Einat H. Modelling facets of mania: new directions related to the notion of endophenotypes. *J Psychopharmacol* 2006. 20: 714–722.
- Ene HM, Kara NZ, Einat H. The effects of the atypical antipsychotic asenapine in a strain-specific battery of tests for mania-like behaviors. *Behav Pharmacol*. 2015. *in press*
- Gessa GL, Pani L, Fadda P, Fratta W. Sleep deprivation in the rat: an animal model of mania. *Eur Neuropsychopharmacol* 1995. (5): 89–93.
- Gonçalves, JCR, Oliveira, FS, Benedito, RB, de Sousa, DP, Almeida, RN, Araújo, DAM. Antinociceptive activity of (-)-carvone: evidence of association

- with decreased peripheral nerve excitability. *Biol Pharm Bull* 2008. 31: 1017–1020.
- Gonçalves JCR, Alves AMH, Araújo AEV, Cruz JS, Araújo DAM. Distinct effects of carvone analogues on the isolated nerve of rats. *Eur J Pharmacol* 2010. 645 (1): 108-112.
- Goodwin FK, Jamison KR. *Manic-Depressive Illness: Bipolar Disorders and Recurrent Depression*, 2nd edn, Oxford University Press, New York, USA, 2007.
- Gould TJ, Keith RA, Bhat RV. Differential sensitivity to lithium's reversal of amphetamine-induced open-field activity in two inbred strains of mice. *Behav Brain Res* 2001. 118: 95–105.
- Gould TD, Quiroz JA, Singh J, Zarate CA and Manji H. K. Emerging experimental therapeutics for bipolar disorder: insights from the molecular and cellular actions of current mood stabilizers. *Mol Psychiatry* 2004. 9 :734–755.
- Hall AC, Turcotte CM, Betts BA, Yeung WY, Agyeman AS, Burk LA. Modulation of human GABAA and glycine receptor currents by menthol and related monoterpenoids. *Eur J Pharmacol* 2004. 3; 506 (1): 9-16.
- Hatano VY, Torricelli AS, Giassi AC, Coslope LA, Viana MB. Anxiolytic effects of repeated treatment with an essential oil from *Lippia alba* and (R)-(-)-carvone in the elevated T-maze. *Braz J Med Biol Res*. 2012; 45(3):238-43.
- Judy, JT and Zandi, PP. A review of potassium channels in bipolar disorder. *Frontiers in Genetics* 2013. 4 : 105.
- Kara NZ, Karpel O, Toker L, Agam G, Belmaker RH, Einat H. Chronic oral carbamazepine treatment elicits mood-stabilising effects in mice. *Acta Neuropsychiatrica* 2014. 26 (1): 29-34.
- Lambert J, Compton RN, Crawford TD. The optical activity of carvone: A theoretical and experimental investigation. *J Chem Phys* 2012. 136: 114512.
- Machado-Vieira R, Kapczinski F, Soares JC. Perspectives for the development of animal models of bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2004. 28 (2):209–24.

- Machado-Vieira R, Soares JC, Lara DR, Luckenbaugh DA, Busnello JV, Marca G, Cunha A, Souza DO, Zarate CA Jr, Kapczinski F. A double-blind, randomized, placebo-controlled 4-week study on the efficacy and safety of the purinergic agents allopurinol and dipyridamole adjunctive to lithium in acute bipolar mania. *J Clin Psychiatry*. 2008; 69(8):1237-45.
- Marques THC, Marques ML, Medeiros JV, Lima TC, de Sousa DP, de Freitas RM. Cyane-carvone, a Synthetic Derivative of Carvone, Inhibits Inflammatory Response by Reducing Cytokine Production and Oxidative Stress and Shows Antinociceptive Effect in Mice . *Inflammation* 2014a. 37 (3): 966-977.
- Marques THC, Marques ML, Medeiros JV, Lima TC, de Sousa DP, de Freitas RM. Anticonvulsant effects of acute treatment with cyane-carvone at repeated oral doses in epilepsy models. *Pharmacol Biochem Behav* 2014b. 124:421-424.
- Nierenberg AA. A critical appraisal of treatments for bipolar disorder. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry*. 2010. 12:23–29.
- Pereira M, Martynhak BJ, Baretta IP, Correia D, Siba IP, Andreatini R. Antimanic like effect of tamoxifen is not reproduced by acute or chronic administration of medroxyprogesterone or clomiphene. *Neurosci Lett*. 2011. 500(2): 95-98.
- Sabioni P, Baretta IP, Ninomiya EM, Gustafson L, Rodrigues AL, Andreatini R. The antimanic-like effect of tamoxifen: behavioural comparison with other PKC-inhibiting and antiestrogenic drugs. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2008. 32(8):1927-1931.
- Sánchez-Borzzone M, Delgado-Marín L, García DA. Inhibitory effects of carvone isomers on the GABAA receptor in primary cultures of rat cortical neurons. *Chirality*. 2014. 26 (8): 368-372.
- Souza FV, da Rocha MB, de Sousa DP, Marçal RM . (-)-Carvone: Antispasmodic effect and mode of action. *Fitoterapia* 2013. 85: 20-24

- Tonelli DA, Pereira M, Siba IP, Martynhak BJ, Correia D, Casarotto PC, Biojone C, Guimarães FS, Joca SL, Andreatini R. *Fundam Clin Pharmacol* 2013. 27 (6): 650-655.
- Woelk H and Schläfke S. A multi-center, double-blind, randomised study of the Lavender oil preparation Silexan in comparison to Lorazepam for generalized anxiety disorder. *Phytomedicine*. 2010. 17 (2): 94-99.
- Yildiz A, Vieta E, Tohen M, Baldessarini RJ. Factors modifying drug and placebo responses in randomized trials for bipolar mania. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2011.14(7):863-875.
- Young JW, Henry BL, Geyer MA. Predictive animal models of mania: hits, misses and future directions. *Br J Pharmacol* 2011. 164:1263–1284.

4. CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que a administração aguda e crônica de ambos os enantiômeros da carvona foram efetivos em bloquear a hiperlocomoção induzida por psicoestimulantes (metilfenidato). Além disto, a administração aguda de R-(-)- e S-(+)-carvona também bloqueou a hiperlocomoção por privação de sono.

As doses utilizadas não alteraram a atividade locomotora espontânea, indicando que os efeitos observados não estão atribuídos a um efeito sedativo ou depressor, apesar de que no modelo de privação de sono S-(+)-carvona sozinha reduziu a atividade locomotora espontânea, que indicou um efeito sedativo.

O lítio foi utilizado como controle positivo em ambos modelos. Tanto a administração aguda e crônica de lítio bloqueou o efeito do metilfenidato em doses que não alteraram a atividade motora espontânea, o que confirma a validade dos procedimentos utilizados.

A utilização de dois modelos minimiza a probabilidade de resultados falsos positivos ou negativos, um problema importante com os comportamentos induzidos por drogas. Assim, o resultado do modelo de privação de sono indica que o efeito da carvona na hiperlocomoção induzida por metilfenidato não estava relacionada à interação farmacocinética.

Portanto, esse estudo sugere que ambos os enantiômeros carvona têm um potencial efeito antimaníaco. Estudos adicionais devem ser realizados a fim de esclarecer possível mecanismo de ação da carvona.

5 REFERÊNCIAS ADICIONAIS

- Almeida RN, Motta SC, Leite JR. Óleos essenciais com propriedades anticonvulsivantes Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromat 2003. 2: 3–6.
- American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders 5th edn. American Psychiatric Publishing, Washington, DC 2013.
- Armani F, Andersen ML, Andreatini R, Frussa-Filho R, Tufik S, Galduróz JC. Successful combined therapy with tamoxifen and lithium in a paradoxical sleep deprivation-induced mania model. CNS Neurosci Ther 2012. 18(2): 119-125.
- Armani F, Andersen ML, Galduróz JC. Tamoxifen use for the management of mania: a review of current preclinical evidence. Psychopharmacology 2014. 231 (4): 639-649.
- Arumugam P and Ramesh A. In vivo antioxidante effects of ethyl acetate fraction of *Mentha spicata* L. on 4-nitroquinoline-1-oxide injected mice. Iran J Pharm Res 2011. 10 (4):787-793.
- Arumugam P and Ramesh A. Protective effects of solvent fractions of *Mentha spicata* (L.) leaves evaluated on 4-nitroquinoline-1-oxide induced chromosome damage and apoptosis in mice bone marrow cells. Genet. Mol. Biol. 2009. 32: 4.
- Arumugam P, Gayatri Priya N, Subathra M and Ramesh A. Anti-inflammatory activity of four solvent fractions of ethanol extract of *Mentha spicata* L. investigated on acute and chronic inflammation induced rats. Environ. Toxicol. Pharmacol. 2008. 26: 92-95.
- Arumugam P, Murugan R, Subathra M and Ramesh A. Superoxide radical scavenging and antibacterial activities of different fractions of ethanol extract of *Mentha spicata* (L). *Med. Chem. Res.* 2009. 19: 664-673.
- Arumugam P, Ramamurthy P, Santhiya ST and Ramesh A. Antioxidant activity measured in different solvent fractions obtained from *Mentha spicata* Linn.: analysis by ABTS. + decolorization assay. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.* 2006. 15: 20-24.

- Barba C, Santa-María G, Herraiz M, Martínez RM. Direct enantiomeric analysis of *Mentha* essential oils. *Food Chemistry* 2013. 141: 542–547.
- Buchbauer G, Jäger W, Gruber A, Dietrich H. R-(+)- and S-(-)-carvone: influence of chirality on locomotion activity in mice. *Flavour Fragr J* 2005. 20: 686–689.
- Bymaster FP, Felder CC. Role of the cholinergic muscarinic system in bipolar disorder and related mechanism of action of antipsychotic agents. *Mol Psychiatry*. 2002. 7 (1): S 57-63.
- Choudhury RP, Kumar A and Garg NA. Analysis of Indian mint (*Mentha spicata*) of essential, trace and toxic elements and its antioxidant behaviour. *J Pharmaceut Biomed* 2006. 41:825-832.
- Costa DA, De Oliveira GA, Lima TC, Dos Santos PS, De Sousa DP, De Freitas RM. Anticonvulsant and Antioxidant Effects of Cyano-carvone and Its Action on Acetylcholinesterase Activity in Mice Hippocampus. *Cell Mol Neurobiol* 2012a. 32 (4): 633-640.
- Costa DA, Oliveira GAL, Costa JP, Souza GF, De Sousa DP, Freitas RM. Avaliação da toxicidade aguda e efeito ansiolítico de um derivado sintético da carvona. *Rev Bras Ciênc Saúde*. 2012b. 16: 303-310.
- da Rocha ML, Oliveira LE, Patricio dos Santos CC, de Sousa DP, de Almeida RN, Araújo DA. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the monoterpene α,β -epoxy-carvone in mice. *J Nat Med* 2013. 67(4):743-749.
- de Sousa DP, Nóbrega FFF, Almeida RN. Influence of the chirality of (R)-(-)- and (S)-(+)-carvone in the central nervous system: a comparative study. *Chirality* 2007. 19: 264–268.
- de Sousa DP, Oliveira FS, Almeida RN. Evaluation of the central activity of hydroxydihydrocarvone. *Biol Pharm Bull* 2006. 29: 811–812.
- de Sousa DP, Nobrega FF, Claudino FS, de Almeida RN, Leite JR, Mattei R. Pharmacological effects of the monoterpene α , β -epoxy-carvone im mice. *Braz J Pharmacogn* 2007a. 17(2): 170-175
- Einat H. Modelling facets of mania: new directions related to the notion of endophenotypes. *J Psychopharmacol* 2006. 20: 714–722.

- Fontana AM, Fontana MCPS. Transtornos do Humor. In: Manual de Clínica em Psiquiatria. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 295 - 306.
- Gessa GL, Pani L, Fadda P, Fratta W. Sleep deprivation in the rat: an animal model of mania. *Eur Neuropsychopharmacol* 1995. (5): 89–93.
- Gonçalves JCR, Alves AMH, Araújo AEV, Cruz JS, Araújo DAM. Distinct effects of carvone analogues on the isolated nerve of rats. *Eur J Pharmacol* 2010. 645 (1): 108-112.
- Gonçalves JCR, Oliveira FS, Benedito RB, de Sousa DP, Almeida RN, Araújo DAM. Antinociceptive activity of (-)-carvone: evidence of association with decreased peripheral nerve excitability. *Biol. Pharm. Bull* 2008. 31, 1017–1020.
- Goodwin FK, Jamison KR. Manic-Depressive Illness: Bipolar Disorders and Recurrent Depression, 2nd edn, Oxford University Press, New York, USA, 2007.
- Gould TD, Einat H . Animal models of bipolar disorder and mood stabilizer efficacy:A critical need for improvement. *Neurosci Biobehav Rev* 2007. 31: 825–831.
- Gould TJ, Keith RA, Bhat RV. Differential sensitivity to lithium's reversal of amphetamine-induced open-field activity in two inbred strains of mice. *Behav Brain Res* 2001. 118: 95–105.
- Govindarajan M, Sivakumar R, Rajeswari M, Yogalakshmi K. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Mentha spicata* (Linn.) against three mosquito species . *Parasitol Res* 2012.110:2023–2032.
- Grigoleit HG and, Grigoleit P. Phytomedicine. Gastrointestinal clinical pharmacology of peppermint oil 2005. 12(8):607-11.
- Haksar A, Sharma A, Chawla R, et al. Mint Oil (*Mentha spicata* Linn.) offers Behavioral Radioprotection: A Radiationinduced Conditioned Taste Aversion Study .*Phytother. Res.* 2009. 23: 293–296.
- Hatano VY, Torricelli AS, Giassi AC, Coslope LA, Viana MB. Anxiolytic effects of repeated treatment with an essential oil from *Lippia alba* and (R)-(-)-carvone in the elevated T-maze. *Braz J Med Biol Res.* 2012; 45(3):238-43.

- Hawthorn M, Ferrante J, Luchowski E, Rutledge A, Wei XY, Triggle DJ. The actions of peppermint oil and menthol on calcium channel dependent processes in intestinal, neuronal and cardiac preparations. *Aliment Pharmacol Ther* 1988. 2:101–118.
- Hirschfeld RMA; Vornik LA. Recognition and diagnosis of bipolar disorder. *Journal Clinical Psychiatry*. 2004. 65: 5 - 9.
- Kanatt SR, Chander R and Sharma A. Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. *Food Chem* . 2007. 100:451-458.
- Kapczinski F, Dias VV, Kauer Sant'Anna M, Brietzke E, Vázquez GH, Vieta E, Berk M. The potential use of biomarkers as an adjunctive tool for staging bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psych* 2009. 33(8): 1366-1371.
- Kapczinski, Flavio. Fisiopatologia do transtorno afetivo bipolar: o que mudou nos últimos 10 anos? *Rev Bras Psiqu* 2004. 26:17-21.
- Kara NZ, Einat H. Rodent models for mania: practical approaches. *Cell Tissue Res* 2013. 354:191–201.
- Kato T, Kubota M, Kasahara T. Animal models of bipolar disorder. *Neurosci Biobehav Rev* 2007. 31: 832–842.
- Kelly PH; Iversen SD. Selective 6-OHDA-induced destruction of mesolimbic dopamine neurons: abolition of psychostimulant-induced locomotor activity in rats. *European Journal of Pharmacology* 1976. 40(1):45-56.
- Khanuja SPS. Employ contract farming to boost area under cultivation for essential oil bearing crops. In: *Business enabling of aromatic plants and products*. Dehradun. Chem Weekly 2007. 21. 22: 180–184.
- Koliopoulos G, Pitarokili D, Kioulos E, Michaelakis A, Tzakou O. Chemical composition and larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia*, and *Melissa* essential oils against the West Nile virus mosquito *Culex pipiens*. *Parasitol Res* 2010. 107:327–335.
- Koutroumanidou E, Kimbaris A, Kortsaris A, Bezirtzoglou E, Polissiou M, Charalabopoulos K, Pagonopoulou O. Increased seizure latency and

- decreased severity of pentylenetetrazol-induced seizures in mice after essential oil administration. *Epilepsy Res Treat*. 2013: 2013 1-6.
- Lambert J, Compton RN, Crawford TD. The optical activity of carvone: A theoretical and experimental investigation. *J Chem Phys* 2012. 136: 114512.
- Machado-vieira R et al. As bases neurobiológicas do transtorno bipolar. *Rev Psiquiátrica Clínica* 2005. 32: 28-33.
- Machado-Vieira R, Kapczinski F, Soares JC. Perspectives for the development of animal models of bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2004. 28 (2):209–24.
- Machado-Vieira R, Soares JC, Lara DR, Luckenbaugh DA, Busnello JV, Marca G, Cunha A, Souza DO, Zarate CA Jr, Kapczinski F. A double-blind, randomized, placebo-controlled 4-week study on the efficacy and safety of the purinergic agents allopurinol and dipyridamole adjunctive to lithium in acute bipolar mania. *J Clin Psychiatry*. 2008; 69(8):1237-45.
- Manji HK. and Chen G. PKC, MAP kinases and the bcl-2 family of proteins as longterm targets for mood stabilizers. *Molecular Psychiatry*. 2002. 7: S46-56.
- Manosroi J, Dhumtanom P and Manosroi A. Anti-proliferative activity of essential oil extracted from Thai medicinal plants on KB and P388 cell lines. *Cancer Lett* 2006. 235:14-120.
- Marques THC, Marques ML, Medeiros JV, Lima TC, de Sousa DP, de Freitas RM. Cyane-carvone, a Synthetic Derivative of Carvone, Inhibits Inflammatory Response by Reducing Cytokine Production and Oxidative Stress and Shows Antinociceptive Effect in Mice . *Inflammation* 2014a. 37 (3): 966-977.
- Marques THC, Marques ML, Medeiros JV, Lima TC, de Sousa DP, de Freitas RM. Anticonvulsant effects of acute treatment with cyane-carvone at repeated oral doses in epilepsy models. *Pharmacol Biochem Behav* 2014b. 124:421-424.
- Moreno RA; Moreno DH; Ratzke R. Diagnóstico, tratamento e prevenção da mania e da hipomania no transtorno bipolar. *Rev Psiquiátrica Clínica* 2005. 32: 39 – 48.

- Nierenberg AA. A critical appraisal of treatments for bipolar disorder. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry*. 2010. 12:23–29.
- Orhan IE, Ozcelik B, Kan Y, Kartal M. Inhibitory Effects of Various Essential Oils and Individual Components against Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) Produced by *Klebsiella pneumoniae* and Their Chemical Compositions. *J Food Science* 2011. 76 (8): 538-546.
- Pereira, LL et al. Transtorno bipolar: reflexões sobre diagnóstico e tratamento. *Perspectiva*. 2010. 34:128. 152-166.
- Ringer KL, Davis EM, Croteau R. Monoterpene Metabolism. Cloning, Expression, and Characterization of (2)-Isopiperitenol/(2)-Carveol Dehydrogenase of Peppermint and Spearmint. *Plant Physiology*. 2005. 137: 863–872.
- Sabioni P, Baretta IP, Ninomiya EM, Gustafson L, Rodrigues AL, Andreatini R. The antimanic-like effect of tamoxifen: behavioural comparison with other PKC-inhibiting and antiestrogenic drugs. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2008. 32(8):1927-1931.
- Saleem M, Alam A and Sultana S. Attenuation of benzoyl peroxide-mediated cutaneous oxidative stress and hyperproliferative response by the prophylactic treatment of mice with spearmint (*Mentha spicata*). *Food Chem Toxicol* 2000. 38:939-948.
- Shiah IS, Yatham LN. Serotonin in mania and in the mechanism of action of mood stabilizers: a review of clinical studies. *Bipolar Disord* 2000. 2(2):77-92.
- Souza FV, da Rocha MB, de Souza DP, Marçal RM . (-)-Carvone: Antispasmodic effect and mode of action. *Fitoterapia* 2013. 85: 20-24.
- Strakowski SM, Delbello MP, Adler CM. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a review of neuroimaging findings *Molecular Psychiatry* 2005. 10: 105–116.
- Szabo ST, Machado-Vieira R, Yuan P, Wang Y, Wei Y, Falke C, Cirelli C, Tononi G, Manji HK, Du J. Glutamate receptors as targets of protein kinase

- C in the pathophysiology and treatment of animal models of mania. *Neuropharmacology* 2009. 56 (1): 47-55.
- Tayarani-Najaran Z, Talasaz-Firoozi E, Nasiri R, Jalali N and Hassanzadeh MK. Antiemetic activity of volatile oil from *Mentha spicata* and *Mentha × piperita* in chemotherapy-induced nausea and vomiting. *ecancer* 2013, 7:290.
- Tognolini M, Barocelli E, Ballabeni V, Bruni R, Bianchi A, Chiavarini M and Impicciatore M. Comparative screening of plant essential oils: phenylpropanoid moiety as basic core for antiplatelet activity. *Life Sci.* 2006. 78: 1419-1432.
- Walz JC, Andrezza AC, Frey BN, Cacilhas AA, Cereser KM, Cunha AB, et al. Serum neurotrophin-3 is increased during manic and depressive episodes in bipolar disorder. *Neurosci Lett*, 2007. 415(1): 87–89.
- Walz JC, Magalhaes PV, Giglio LM, Cunha AB, Stertz L, Fries GR, et al. Increased serum neurotrophin-4/5 levels in bipolar disorder. *J Psychiatr Res* 2009. 43(7): 721–723.
- Yamamura S, Ozawa K, Ohtani K, Kasai R and Yamasaki K. Antihistaminic flavones and aliphatic glycosides from *Mentha spicata*. *Phytochem.* 1998. 48: 131-136.
- Yathan LN, Kennedy SH et al. Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) guidelines for the management of patients with bipolar disorder: consensus and controversies. *Bipolar Disord* 2005. 7(3): S5-69.
- Yildiz A, Guleryuz S, Ankerst D, Ongür D, Renshaw P. Protein kinase C inhibition in the treatment of mania. A double blind, placebo-controlled trial of tamoxifen. *Arch Gen Psychiatry* 2008. 65 (3): 255-263.
- Yildiz A, Vieta E, Tohen M, Baldessarini RJ. Factors modifying drug and placebo responses in randomized trials for bipolar mania. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2011.14(7):863-875.
- Yonis YM, Beshir SM. Carvone rich essential oil from *Mentha longifolia* (L) Huds. Ssp. Schimperii Briq. and *Mentha spicata* L. grown in Sudan. *J Essent Oil Res* 2004. 16:539–541

- Yonis YM, Beshir SM. Carvone rich essential oil from *Mentha longifolia* (L) Huds. Ssp. Schimper Briq. and *Mentha spicata* L. grown in Sudan. *J Essent Oil Res* 2004. 16:539–541.
- Young JW, Henry BL, Geyer MA. Predictive animal models of mania: hits, misses and future directions. *Br J Pharmacol* 2011. 164:1263–1284.
- Young JW, Minassian A, Paulus MP, Geyer MA, Perry W. A reverse-translational approach to bipolar disorder: rodent and human studies in the Behavioral Pattern Monitor. *Neurosci Biobehav Rev* 2007. 31: 882–896.
- Yu T, Xu M and Dashwood RH. Antimutagenic activity of Spearmint. *Environ Mol Mutagen* 2004. 44:387-393.

ANEXO 1

Efeito do pré-tratamento com veratrina no efeito tipo antimaníaco de carbamazepina e carvona sobre a hiperlocomoção induzida por metilfenidato.

A veratrina, um fármaco que ativa os canais de sódio voltagem dependentes, tem sido utilizado para avaliar o papel desta proteína na ação de fármacos anticonvulsivantes (Codagnone et al., 2007; Mirza et al., 2005; Prica et al., 2008; Tonelli et al., 2013). Neste estudo, o pré-tratamento com veratrina foi utilizado para avaliar a participação dos canais de sódio voltagem dependentes no efeito tipo antimaníaco da carvona. A carbamazepina, um anticonvulsivante bloqueador dos canais de sódio voltagem dependentes com ação antimaníaca (Cipriani et al., 2011; Tonelli et al., 2013), foi empregada como controle ativo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados camundongos Swiss machos, com peso médio de 30g, nascidos e criados no biotério do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná. Os animais foram mantidos em condições controladas de temperatura (21 ± 1 ° C); ciclo claro-escuro de 12 horas (luzes acesas às 7:00h) e comida e água à vontade. Todos os experimentos foram realizados no período de 13h às 17h e em conformidade com o National Institutes of Health Guide para o Cuidado e Utilização de Animais de Laboratório, sendo aprovados pelo Comitê de Ética e Experimentação do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.(Protocolo n.º. 681).

Drogas

Metilfenidato (Ritalina; Novartis, Brasil) dissolvido em solução salina na dose de 5,0 mg / kg. Carbamazepina (Tegretol; Novartis, Brasil) diluída em água destilada + Tween 80 na dose de 20 mg / kg. Veratrina (Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA) diluída em solução salina na dose de 0,4 mg / kg. S(+) e R(-)-Carvona 100 mg/kg dissolvido em água destilada + Tween 80 (5% V/V). Todas as drogas e seus veículos foram administrados por via intraperitoneal (ip) em um volume constante de 10 ml/kg. As doses propostas foram baseadas em estudos anteriores em nosso laboratório (metilfenidato - Pereira et al., 2011; lítio - Sabioni et al., 2008; carbamazepina e veratrina – Tonelli et al., 2013) e em dados da literatura (de Sousa et al., 2007).

Procedimento experimental

Os animais receberam veículo ou 0,4 mg/kg veratrina. Dez minutos mais tarde foi administrado veículo, 20 mg/kg de CBZ, R-carvona 100mg/kg ou S-carvona 100 mg/kg. Após 10 min, eles receberam uma terceira dose de veículo ou de 5 mg/kg MPH. Vinte minutos depois de receber a última injeção, os animais foram colocados na caixa de locomoção durante 5 minutos para avaliar a atividade locomotora.

Análise estatística

Os valores estão expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). As diferenças entre os grupos foram determinadas através da Análise de Variância (ANOVA) de uma via, seguida, quando detectada diferença, pelo pós teste de Newman-Keuls. O nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade foi de $p < 0.05$. Foram utilizados os programas Statistica 7.0 e Graph Prisma 5.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tanto a carbamazepina (CBZ) quanto os enantiômeros da carvona foram efetivos em reverter a hiperlocomoção induzida por metilfenidato após o tratamento agudo (Fig. 1). A ANOVA de uma via mostrou diferença significativa no fator tratamento. ($F_{15, 122} = 22.03$; $p < 0,001$). Esse efeito foi observado com doses que não alteraram a atividade locomotora.

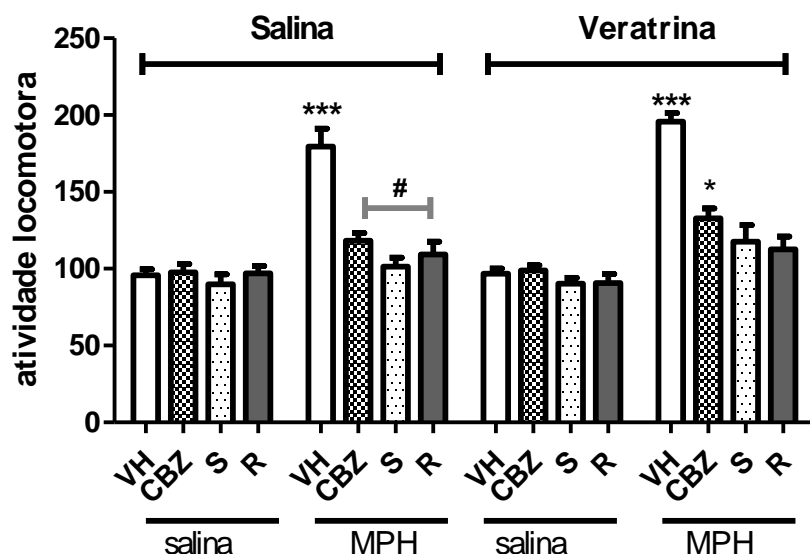


Figura 1. Efeito do pré-tratamento com veratrina (0,4mg/kg; ip) em efeito antimaníaco de carbamazepina (20mg/kg; ip), R-carvona (100mg/kg; ip) e S-carvona (100mg/kg, ip) sobre a hiperlocomoção induzida por metilfenidato (5mg/kg, ip). ANOVA de uma via. Dados representam média \pm EPM do número de interrupções do sensor fotoelétrico (n= 8 camundongos/grupo). *** $p < 0,001$ comparado com o grupo controle (veículo + salina). # $p < 0,05$ comparado com o grupo veículo + MPH. * $p < 0,05$ comparado com seu respectivo controle (veículo + veratrina).

A carbamazepina (CBZ) é utilizada clinicamente como um fármaco anticonvulsivante. Estudos preliminares mostraram os efeitos antimaníacos e estabilizadores do humor da CBZ, e vários anticonvulsivantes foram subsequentemente testados para o tratamento de THB. Antiepilépticos como o valproato e carbamazepina já foram usados com sucesso no tratamento de um episódio maníaco (Cipriani et al., 2011).

As evidências sugerem que alguns tratamentos existentes para a mania podem exercer a sua ação terapêutica através da regulação de canais de íons, uma vez que eles regulam a excitabilidade neuronal (Gould et al., 2004). Além disso, o efeito tipo antimaníaco de carbamazepina e fenitoína na hiperlocomoção induzida por MPH foi bloqueado por veratrina, um abridor de canais de sódio voltagem dependente (Tonelli et al., 2013).

No presente estudo a veratrina foi capaz de reverter parcialmente a ação da carbamazepina no modelo de hiperlocomoção por MPH, mas não afetou o efeito tipo antimaníaco das carvonas. Estes resultados diferem do estudo realizado por Tonelli et al. (2013), onde a veratrina reverteu completamente ação da CBZ, sugerindo que os canais de sódio voltagem dependentes desempenham um papel fundamental nos efeitos tipo antimaníacos da CBZ. Essas diferenças podem ser devido a forma farmacêutica utilizada da carbamazepina ser diferente nos estudos. Além disso, a atividade locomotora foi avaliada pelo teste de campo aberto, diferente do nosso estudo, em que foi realizado em caixas de movimentação automatizadas. Devemos considerar também a dose da veratrina pode ter sido insuficiente para uma reversão completa do efeito da CBZ.

A veratrina na dose utilizada não reverteu o efeito tipo antimaníaco da carvona. Alguns estudos sugerem que o efeito anticonvulsivo e antinociceptivo da carvona e de seus derivados (por exemplo, α , β -epoxycarvone) podem estar relacionados com os canais de sódio sensíveis a voltagem (Gonçalves et al., 2008; Almeida et al., 2008). Outros estudos sugerem que a carvona pode afetar a neurotransmissão GABAérgica (Hall et al., 2004; Sanchez-Borzzone et al., 2014).

Em conclusão nosso estudo mostrou que os resultados obtidos com a carvona foram replicáveis, mostrando um potencial efeito antimaníaco, o qual não foi revertido com a veratrina, um estimulante de canais de sódio voltagem dependentes. Portanto, estudos adicionais devem ser realizados a fim de esclarecer possível mecanismo de ação da carvona.

REFERENCIAS

- Bourin M., Chenu F., Hascoët M. The role of sodium channels in the mechanism of action of antidepressants and mood stabilizers. *Curr. Drug Targets* 2009. 10: 1052–1060.
- Cipriani A, Barbui C, Salanti G, Rendell J, Brown R, Stockton S, Purgato M, Spinelli LM, Goodwin GM, Geddes JR. Comparative efficacy and acceptability of antimanic drugs in acute mania: a multiple-treatments meta-analysis. *Lancet*. 2011; 378(9799):1306-15.
- Codagnone FT, Consoni FT, Rodrigues AL, Vital MA, Andreatini R. Veratrine blocks the lamotrigine-induced swimming increase and immobility decrease in the modified forced swimming test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2007; 31(6):1307-11.
- de Sousa DP, Nóbrega FFF, Almeida RN. Influence of the chirality of (R)-(-) and (S)-(+)-carvone in the central nervous system: a comparative study. *Chirality* 2007. 19: 264–268.
- Gonçalves, JCR, Oliveira, FS, Benedito, RB, de Sousa, DP, Almeida, RN, Araújo, DAM. Antinociceptive activity of (-)-carvone: evidence of association with decreased peripheral nerve excitability. *Biol Pharm Bull* 2008. 31: 1017–1020.
- Gould TD, Quiroz JA, Singh J, Zarate CA and Manji H. K. Emerging experimental therapeutics for bipolar disorder: insights from the molecular and cellular actions of current mood stabilizers. *Mol Psychiatry* 2004. 9:734–755.
- Hall AC, Turcotte CM, Betts BA, Yeung WY, Agyeman AS, Burk LA. Modulation of human GABA_A and glycine receptor currents by menthol and related monoterpenoids. *Eur J Pharmacol* 2004. 3; 506 (1): 9-16.
- Mirza NR, Bright JL, Stanhope KJ, Wyatt A, Harrington NR. Lamotrigine has an anxiolytic-like profile in the rat conditioned emotional response test of anxiety: a potential role for sodium channels? *Psychopharmacology (Berl)*. 2005; 180(1):159-68.

- Pereira M, Martynhak BJ, Baretta IP, Correia D, Siba IP, Andreatini R. Antimanic like effect of tamoxifen is not reproduced by acute or chronic administration of medroxyprogesterone or clomiphene. *Neurosci Lett*. 2011. 500(2): 95-98.
- Prica C, Hascoet M, Bourin M. Antidepressant-like effect of lamotrigine is reversed by veratrine: a possible role of sodium channels in bipolar depression. *Behav Brain Res*. 2008; 191(1):49-54.
- Sabioni P, Baretta IP, Ninomiya EM, Gustafson L, Rodrigues AL, Andreatini R. The antimanic-like effect of tamoxifen: behavioural comparison with other PKC-inhibiting and antiestrogenic drugs. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2008. 32(8):1927-1931.
- Sánchez-Borzone M, Delgado-Marín L, García DA. Inhibitory effects of carvone isomers on the GABAA receptor in primary cultures of rat cortical neurons. *Chirality*. 2014. 26 (8): 368-372.
- Tonelli DA, Pereira M, Siba IP, Martynhak BJ, Correia D, Casarotto PC, Biojone C, Guimarães FS, Joca SL, Andreatini R. *Fundam Clin Pharmacol* 2013. 27 (6): 650-655.

ANEXO 2



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Comissão de Ética no Uso de Animais
(CEUA)



Nº 681

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, instituído pela PORTARIA Nº 787/03-BL, de 11 de junho de 2003, com base nas normas para a constituição e funcionamento da CEUA, estabelecidas pela RESOLUÇÃO Nº 01/03-BL, de 09 de maio de 2003 e considerando o contido no Regimento Interno da CEUA, **CERTIFICA** que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa abaixo especificado, estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e exigências estabelecidas em "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

CERTIFICATION

The Ethics Animal Experiment Committee of the Setor de Ciências Biológicas of the Federal University of Paraná, established by the DECREE Nº 787/03-BL on June 11th 2003, based upon the RESOLUTION Nº 01/03-BL from May 9th 2003, and upon the CEUA internal regiment, CERTIFIES that the procedures using animals in the research project specified below are in agreement with the ethical principals established by the Experimental Animal Brazilian Council (COBEA), and with the requirements of the "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

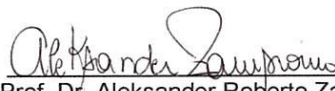
PROCESSO: 23075.005157/2013-86

APROVADO: 18/04/2013 – R.O. 03/2013

TÍTULO: Efeito da (+) e (-) Carvona em modelos de depressão e mania

AUTORES: Roberto Andreatini, Marcela Pereira, Francianne Poli Nogoceke, Isadora Pozzetti Siba

DEPARTAMENTO: Farmacologia


Prof. Dr. Aleksander Roberto Zamprônio
Coordenador da CEUA