



Calendula officinalis: Efeito Depressor Central e Toxicidade Subaguda

Leila M.L. PARENTE ^{1*}, Elson A. COSTA ², Lécia G. MATOS ², José R. de PAULA ³,
Luiz C. CUNHA ³, Geraldo V. JÚNIOR ³ & Nusa A. SILVEIRA ²

¹ Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás - UFG.
Campus Samambaia (Campus II). Caixa postal 131 - 74001-970 - Goiânia, GO - Brasil.

² Instituto de Ciências Biológicas II, Universidade Federal de Goiás - UFG.
Campus Samambaia (Campus II). Caixa postal 131 - 74001-970 - Goiânia, GO - Brasil

³ Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás, Unidade I,
Avenida Universitária com 1ª Avenida, s/nº, Setor Universitário, 74605-220 Goiânia, GO - Brasil.

RESUMO. Flores da *Calendula officinalis* L. (calêndula) vêm sendo utilizadas popularmente como cicatrizante, anti-inflamatório e sedativo, entre outras atividades. Os principais componentes químicos encontrados nas flores são óleos essenciais, ácido salicílico, carotenóides, flavonóides, taninos e saponinas triterpênicas. Atividades ansiolítica e analgésica foram relatadas em plantas que apresentam flavonóides em sua composição. Nesse trabalho a atividade do extrato etanólico das flores da calêndula sobre o sistema nervoso central foi avaliada por meio dos modelos do sono induzido por barbitúricos, do rota rod e do campo aberto. A toxicidade subaguda do extrato por via oral também foi testada em ratos por meio de gaiolas metabólicas. Observou-se efeito depressor central, com diminuição da movimentação espontânea. Observou-se efeito hipoglicêmico e não foram evidenciados sinais de toxicidade suaguda.

SUMMARY. “*Calendula officinalis*: Central Depressive Effect and Subacute Toxicity”. Flowers of *Calendula officinalis* L. (calendula) have been popularly used due to some attributed medicinal properties as wound healing, anti-inflammatory and sedative activities. The principal chemical compounds found in flowers are essential oils, salicylic acid, carotenoids, flavonoids, tannins and triterpenic saponins. Other medicinal plants that present flavonoids in his composition have also been used as anxiolytic and analgesic. In this work the activity of calendula was evaluated on the central nervous system, with models of sleep induced by barbiturates, rota rod and open field. Subacute toxicity was evaluated in rats in metabolic cages. Central depressive effect was observed, with decrease of the spontaneous movement. Hypoglycemic effect was observed but signs of subacute toxicity were not evidenced.

INTRODUÇÃO

As flores da *Calendula officinalis* L. (Asteraceae), conhecida popularmente como calêndula, vêm sendo utilizadas pelo homem há muito tempo. Dentre as principais atividades terapêuticas atribuídas às flores da planta estão: anti-inflamatória, cicatrizante, sedativa, hipotensora, antibiótica e anti-séptica ^{1,2}. Em um estudo clínico de fase III, a utilização de uma pomada de calêndula em pacientes com câncer de mama submetidas à radioterapia diminuiu a dermatite aguda e a dor ³.

Flores da *C. officinalis* apresentam como principais componentes químicos: óleos essen-

ciais, ácido salicílico, carotenóides, flavonóides, taninos e saponinas triterpênicas ^{1,4,5}.

Os flavonóides são os compostos do metabolismo secundário utilizados para identificação das flores dessa espécie vegetal ^{5,6}. Ressalta-se que os flavonóides presentes na *Cissus quadrangularis* L. e *Passiflora edulis* foram associados às atividades analgésica e ansiolítica observadas nessas duas espécies ^{7,8}.

Estudos na área de farmacologia comportamental permitem avaliar as interações entre drogas e alterações comportamentais ⁹. Plantas medicinais com atuação no sistema nervoso central são utilizadas no tratamento de insônia, dor de

PALAVRAS-CHAVE: Calêndula, Efeito central, Plantas medicinais.

KEY WORDS: Calendula, Central effect, Medicinal plants.

* Autor a quem correspondência deve ser enviada: E-mail: lathosvet@hotmail.com

cabeça, ansiedade e depressão, entre outras alterações¹⁰. Embora a atividade sedativa não seja a principal atividade farmacológica associada à calêndula, devido à presença dos flavonóides em sua composição e por sua atuação na diminuição da dor após radioterapia em pacientes com câncer de mama³, nesse trabalho a atividade depressora central do extrato etanólico das flores da *C. officinalis* cultivadas no Brasil foi avaliada, tendo sido também realizado um estudo de toxicidade subaguda.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e preparação do extrato etanólico das flores da *C. officinalis*

Flores secas e pulverizadas da *C. officinalis* cultivadas no Estado do Paraná (fevereiro, 2006) foram obtidas da Empresa Clorophila (Goiânia, Goiás, Brasil). Para o controle de qualidade foi realizada a avaliação farmacognóstica do material botânico no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás (UFG), de acordo com técnicas descritas para essa espécie vegetal^{5,6}.

Para a obtenção do extrato etanólico (EEC), 200 g das flores pulverizadas foram extraídos com 1000 mL de etanol PA 96 °GL, por maceração (3 dias) à temperatura ambiente, com agitação ocasional e concentrado em evaporador rotativo à 40 °C.

Animais

Foram utilizados ratos (*Rattus norvegicus albinus*), da linhagem Wistar, machos, com 60 dias de idade e peso entre 160 a 190 g, e camundongos machos albinos *Swiss* (20-30 g), com 60 dias de idade e peso entre 20 e 30 g. Todos os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da UFG. Os animais foram mantidos em ambiente ventilado sob temperatura controlada, com ciclo de claro e escuro de 12 h, água e ração *ad libitum* e aclimatados por um período de 10 dias. Foram obedecidos os princípios éticos em experimentação animal preconizados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório SBCAL – COBEA.

Teste geral de atividade farmacológica em camundongos

Grupos de camundongos ($n = 5$) foram tratados pelas vias: oral, intraperitoneal e subcutânea com EEC nas doses de 0,1, 0,3 e 1 g/kg ou água destilada utilizada na diluição do EEC, em volu-

me proporcional às doses utilizadas. Os efeitos observados em diferentes tempos após os tratamentos foram registrados em ficha padrão de triagem farmacológica¹¹.

Avaliação da atividade depressora central pelo método da indução do sono por barbitúricos em camundongos

Grupos de camundongos ($n = 9$) foram tratados com veículo (10 mL/kg, v.o.) ou o EEC (0,1, 0,3 e 1 g/kg, v.o.). Após 60 min, todos os animais foram tratados com pentobarbital sódico (50 mg/kg, ip). A perda e a recuperação do reflexo postural foram tomadas como medida de início e término do sono, respectivamente¹².

Avaliação da coordenação motora pelo teste do “rota-rod” em camundongos.

Grupos de camundongos ($n = 9$) foram tratados com veículo (10 mL/kg, v.o.) ou EEC (0,5, 1,0 e 2,0 g/kg, v.o.). O diazepam (5 mg/kg, ip) foi usado como droga de referência. Após 60 min, foram registrados o tempo de permanência (16 rotações/min) e o número de quedas dos animais colocados na barra giratória (“rota-rod”), com três reconduções no máximo à barra, durante um período de 1 min¹³.

Avaliação da atividade exploratória pelo teste de campo aberto em camundongos

Grupos de camundongos ($n = 9$) foram tratados com veículo (10 mL/kg, v.o.) ou EEC (0,5, 1,0 e 2,0 g/Kg, v.o.). O diazepam (5 mg/Kg, i.p) foi usado como droga de referência. Após 60 minutos, os animais foram colocados em um campo-aberto quadrado, com altura de 19 cm, comprimento e largura de 31 cm, dividido em nove quadrados (9,5 x 9,5 cm). Os animais foram observados por um período de 5 min^{14,15}.

Avaliação da toxicidade subaguda¹⁶

Os ratos foram colocados individualmente em gaiolas metabólicas e aclimatados por um período de 15 dias. Grupos de animais ($n = 10$) foram tratados diariamente no mesmo horário, por via oral (gavagem), nas doses de 0,1, 0,3 e 1,0 g/kg de EEC ou com o veículo da diluição do EEC (água filtrada), durante um período de quatro semanas. Diariamente foram registrados para cada animal: o volume de água ingerida (mL), o peso da ração consumida (g), o volume de urina excretada (mL) e o peso das fezes produzidas (g). Em intervalos de sete dias, os animais foram pesados para a determinação da evolução ponderal durante o período experimental. Nesse mesmo período de tempo, foi

realizado o teste de uranálise com tira reagente Urofito 10 (Laboratório Biobrás). Os animais foram eutanasiados por meio de punção cardíaca no dia 29 e coletou-se sangue para realização de exames hematológicos e avaliações bioquímicas.

O exame hematológico realizado foi o hemograma completo e foi realizado na Clínica Veterinária Cães e Gatos em Inhumas, Goiás.

As avaliações bioquímicas foram realizadas para testar a função hepática, com dosagem de fosfatase alcalina (UI L⁻¹), alanina aminotransferase - AST - (UI L⁻¹), proteínas totais (g dL⁻¹) e albumina (g dL⁻¹). A função renal foi avaliada por meio da dosagem da uréia (mg dL⁻¹) e creatinina (mg dL⁻¹). Também foram avaliados a concentração sérica do colesterol (mg dL⁻¹), triglicéridios (mg dL⁻¹) e glicemia (mg dL⁻¹). Todos os exames bioquímicos foram realizados por meio do Sistema Automatizado Autolab-Boehringer Mannheim, no Laboratório Saluti em Goiânia.

Análise estatística

Os resultados foram expressos como médias \pm erro padrão das médias e submetidos à análise de variância (ANOVA). O teste "t" de Student permitiu comparar as médias dos grupos experimentais com o grupo controle. Foram considerados significativos valores de $p < 0,05$ ¹⁷.

RESULTADOS

Avaliação farmacognóstica

Os dados obtidos estão de acordo com as especificações da Farmacopéia Brasileira IV (2001) e Monografias da OMS (WHO, 2002), indicando que o material botânico testado corresponde às flores pulverizadas da *C. officinalis*. O rendimento do EEC foi de 28,75%.

Teste geral de atividade farmacológica em camundongos

Observou-se presença do comportamento de

autolimpeza e diminuição na movimentação espontânea, nas três vias de administração, nas doses de 0,1, 0,3 e 1,0 g/Kg até quatro h após o tratamento com EEC. Não foram observadas alterações quanto aos demais parâmetros. O tratamento com EEC na dose de 1,0 g/kg pela via intraperitoneal provocou um óbito.

Avaliação da atividade depressora central pelo método da indução do sono por barbitúricos em camundongos

O tratamento com EEC 1,0 g/kg aumentou significativamente o tempo de duração do sono induzido por barbitúrico (Tabela 1).

Avaliação da coordenação motora pelo teste do "rota-rod" em camundongos

Os tratamentos com EEC 0,5, 1,0 e 2,0 g/kg não alteraram o tempo de permanência na barra giratória e nem o número de quedas dos animais quando comparados com o controle. O diazepam, usado como controle positivo, apresentou diferença significativa em relação ao controle e reduziu o tempo de permanência e aumentou o número de quedas dos animais (Tabelas 2 e 3).

Avaliação da atividade exploratória pelo teste de campo aberto em camundongos

O tratamento com EEC 1,0 e 2,0 g/kg diminuiu significativamente o número de quadrados invadidos (Tabela 4) e aumentou significativamente o tempo de imobilidade dos animais em relação ao controle (Tabela 5). Não foram observadas alterações significativas quanto ao movimento de levantar, ao comportamento de autolimpeza e a defecação.

Teste de toxicidade do extrato etanólico das flores de *C. officinalis*

Alterações comportamentais e evolução ponderal

O tratamento com EEC 0,1 g/kg aumentou significativamente o consumo de água na 3ª e

Tratamento	Dose e via	Tempo de sono (min)	% Diferença	% Potenciação
Controle	10 mL/kg, v.o	48,9 \pm 3,4	100,0	–
EEC	0,1 g/kg, v.o	60,7 \pm 4,6	124,2	24,2
EEC	0,3 g/kg, v.o	71,7 \pm 6,5	146,7	46,7
EEC	1,0 g/kg, v.o	80,9 \pm 9,6 *	165,5	65,5

Tabela 1. Valores médios e erro padrão da média do efeito dos grupos controle e do extrato etanólico das flores da *Calendula officinalis* (EEC) na duração do sono (minutos) induzido por barbitúricos em camundongos ($n = 9$). Os valores representam média \pm e.p.m. na duração do sono (minutos) induzido por barbitúricos (Pentobarbital sódico - 50 mg/kg, i.p) e a porcentagem da diferença e do aumento relativos ao grupo controle ($n = 9$). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (ANOVA, Teste *t* de Student).

Tratamento	Dose e via	Tempo de permanência (seg.)	% diferença	% diminuição
Controle	10 mL/kg, v.o.	55,9 ± 2,8	100,0	–
Diazepam	5,0 mg/kg, i.p.	21,4 ± 6,2*	38,3	61,7
EEC	0,5 g/kg, v.o.	46,4 ± 5,8	83,0	17,0
	1,0 g/kg, v.o.	53,0 ± 0,8	94,8	5,2
	2,0 g/kg, v.o.	51,7 ± 2,9	92,5	7,5

Tabela 2. Valores médios e erro padrão da média do efeito dos grupos controle e do extrato etanólico das flores da *Calendula officinalis* (EEC) no tempo de permanência (segundos) dos camundongos ($n = 9$) no “rota rod”. Os valores representam a média ± e.p.m. do tempo de permanência no “rota rod” (segundos) e a porcentagem da diferença e da diminuição relativos ao grupo controle ($n = 9$). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (ANOVA, Teste t de Student).

Tratamento	Dose e via	Quedas (n°)	% diferença	% aumento
Controle	10 mL/kg, v.o.	0,6 ± 0,3	100,0	–
Diazepam	5,0 mg/kg, i.p.	2,7 ± 0,3 *	450,0	350
EEC	0,5 g/kg, v.o.	1,6 ± 0,2	266,6	166,6
	1,0 g/kg, v.o.	1,7 ± 0,6	283,3	183,3
	2,0 g/kg, v.o.	1,4 ± 0,4	233,3	133,3

Tabela 3. Valores médios e erro padrão da média do efeito dos grupos controle e do extrato etanólico das flores da *Calendula officinalis* (EEC) no número de quedas dos camundongos ($n = 9$) no “rota rod”. Os valores representam a média ± e.p.m. do número de quedas dos camundongos no “rota rod” e a porcentagem da diferença e do aumento relativos ao grupo controle ($n = 9$). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (ANOVA, Teste t de Student).

Tratamento	Dose e via	Quadrados Invasidos (n°)	% diferença	% diminuição
Veículo	110 mL/kg, v.o.	77,0 ± 8,8	100,0	–
Diazepam	5,0 mg/kg, i.p.	23,3 ± 12,3*	30,3	69,7
EEC	0,5 g/kg, v.o.	65,9 ± 7,8	85,6	14,4
	1,0 g/kg, v.o.	50,6 ± 7,7*	65,7	34,3
	2,0 g/kg, v.o.	43,5 ± 3,5*	56,5	43,5

Tabela 4. Valores médios e erro padrão da média do efeito do do extrato etanólico das flores da *Calendula officinalis* (EEC) no número de quadrados invadidos pelos camundongos no campo aberto ($n = 9$). Os valores representam média ± e.p.m. do número de quadrados invadidos pelos camundongos no campo aberto e a porcentagem da diferença e da diminuição relativos ao grupo controle ($n = 9$). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (ANOVA, Teste t de Student).

Tratamento	Dose e via	Tempo de imobilidade (s)	% diferença	% aumento
Controle	10 mL/kg, v.o.	100,7 ± 19,5	100,0	–
Diazepam	5,0 mg/kg, i.p.	224 ± 23,8 *	223,0	123
EEC	0,5g/kg, v.o.	138,9 ± 21,8	138,0	38
	1,0 g/kg, v.o.	169,6 ± 15,7*	168,4	68,4
	2,0 g/kg, v.o.	182 ± 10,1*	180,7	80,7

Tabela 5. Valores médios e erro padrão da média do efeito dos grupos controle, diazepam e do extrato etanólico das flores da *Calendula officinalis* (EEC) no tempo (segundos) de imobilidade dos camundongos no campo aberto ($n = 9$). Os valores representam média ± e.p.m do tempo (segundos) de imobilidade dos camundongos no campo aberto e a porcentagem da diferença e do aumento relativos ao grupo controle ($n = 9$). * $p < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA, Teste t de Student).

na 4ª semana, para $38,9 \pm 2,5$ mL e $41,3 \pm 2,7$ mL em relação ao controle ($24,2 \pm 3,4$ mL e $32,6 \pm 3,4$ mL respectivamente). No mesmo período observou-se também aumento significativo no volume urinário para $18,8 \pm 1,5$ mL em relação ao controle ($13,3 \pm 1,3$ mL). O aumento no consumo diário de água ocasionou aumento no volume urinário diário, o que não indica atividade diurética do EEC. Ainda em relação ao tratamento com EEC 0,1 g/kg, observou-se aumento significativo quanto ao consumo de ração na 1ª semana para $25,5 \pm 3,2$ g em relação ao controle ($16,3 \pm 2,1$ g) e bem como na produção de fezes para $3,3 \pm 0,3$ g em relação ao controle ($2,7 \pm 0,1$ g). Assim, o aumento no consumo diário de ração produziu um aumento na produção de fezes e não interferiu no ganho de peso. Destaca-se que não ocorreu diferença significativa no ganho de peso dos animais entre os grupos testes e controle. Dessa forma, admite-se que o EEC não interferiu na evolução ponderal dos animais durante o período experimental.

Uranálise

Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos testes e o controle quanto aos parâmetros avaliados na uranálise.

Hemograma

O tratamento com EEC 1 g/kg diminuiu significativamente o número de linfócitos e aumentou significativamente o número de neutrófilos em relação ao grupo controle (Tabela 6).

Bioquímica sérica

Os resultados dos exames das avaliações bioquímicas indicaram diferença significativa quanto aos parâmetros creatinina, glicemia, proteínas totais e albuminas em relação ao controle (Tabela 7). Os tratamentos com EEC 0,1 g/kg e 0,3 g/kg aumentaram significativamente a taxa de creatinina e diminuíram significativamente a glicemia. O tratamento com EEC 0,1 g/kg diminuiu significativamente a taxa de proteínas totais e de albumina.

DISCUSSÃO

A partir dos resultados obtidos no teste geral de atividade farmacológica, optou-se pela utilização da via oral para a administração do EEC, nas doses de 0,1, 0,3 e 1 g/kg. A diminuição na movimentação espontânea e o movimento de autolimpeza observados nesse teste sugeriram a presença de compostos no EEC com ação depressora central.

Parâmetros Hematológicos	Controle	EEC 0,1 g/Kg	EEC 0,3 g/Kg	EEC 1,0 g/Kg
Hemácias ($\times 10^6$)	$7,6 \pm 0,2$	$7,1 \pm 0,1$	$7,3 \pm 0,2$	$7,6 \pm 0,2$
Hemoglobina ($\text{g } \%^{-1}$)	$15,2 \pm 0,3$	$14,4 \pm 0,2$	$14,8 \pm 0,2$	$15,0 \pm 0,4$
Leucócitos totais (mm^3)	$12,38 \pm 1,1$	$8,75 \pm 1,41$	$10,6 \pm 0,4$	$12,2 \pm 1,01$
Neutrófilos (%)	$16,3 \pm 1,9$	$16,3 \pm 2,8$	$8,9 \pm 1,3$	$31,0 \pm 4,0^*$
Eosinófilos (%)	$1,5 \pm 0,5$	$1,3 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,3$	$1,0 \pm 0,1$
Linfócitos (%)	$80,4 \pm 2,3$	$81,5 \pm 3,2$	$87,4 \pm 1,4$	$66,4 \pm 4,2^*$
Monócitos (%)	$3,9 \pm 1,3$	$3,5 \pm 1,0$	$4,0 \pm 1,0$	$2,6 \pm 0,4$

Tabela 6. Valores médios e erro padrão da média dos parâmetros hematológicos de ratos ($n = 10$) tratados por 28 dias com água filtrada (controle) e com extrato etanólico das flores da *Calendula officinalis* (EEC) (0,1, 0,3 e 1,0 g/Kg). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (ANOVA, Teste t de Student).

Parâmetros Bioquímicos	Controle	EEC 0,1 g/Kg	EEC 0,3 g/Kg	EEC 1,0 g/Kg
Uréia (mg dL^{-1})	$108,4 \pm 3,8$	$91,2 \pm 7,0$	$107,8 \pm 6,0$	$104,8 \pm 5,1$
Creatinina (mg dL^{-1})	$0,1 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,1^*$	$0,7 \pm 0,2^*$	$0,2 \pm 0,1$
Proteínas totais (g dL^{-1})	$6,1 \pm 0,2$	$5,4 \pm 0,1^*$	$6,0 \pm 0,2$	$5,9 \pm 0,2$
Albuminas (g dL^{-1})	$3,6 \pm 0,1$	$3,3 \pm 0,1^*$	$3,5 \pm 0,1$	$3,6 \pm 0,1$
Glicose (mg dL^{-1})	$72,2 \pm 4,1$	$56,5 \pm 3,4^*$	$51,8 \pm 3,9^*$	$75,7 \pm 6,3$
Colesterol (mg dL^{-1})	$57,4 \pm 2,5$	$57,6 \pm 2,5$	$58,8 \pm 1,3$	$58,0 \pm 2,2$
Triglicerídeos (mg dL^{-1})	$116,1 \pm 9,3$	$100,4 \pm 9,9$	$101,3 \pm 6,3$	$119,3 \pm 7,1$
AST (UI L^{-1})	$148,8 \pm 39,9$	$127,0 \pm 14,3$	$93,9 \pm 22,5$	$153,3 \pm 54,7$
Fosfatase alcalina (UI L^{-1})	$98,2 \pm 7,0$	$81,8 \pm 11,1$	$74,3 \pm 10,1$	$87,7 \pm 12,5$

Tabela 7. Valores médios e erro padrão da média dos parâmetros bioquímicos de ratos ($n = 10$) tratados por 28 dias com água filtrada (controle) e com extrato etanólico das flores da *Calendula officinalis* (EEC) (0,1, 0,3 e 1,0 g/Kg). * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (ANOVA, Teste t de Student).

O teste da indução do sono por barbitúricos é um modelo experimental farmacológico clássico utilizado para avaliar drogas hipnóticas e sedativas¹⁸. Os barbitúricos deprimem reversivelmente a atividade de todos os tecidos excitáveis, podendo produzir todos os níveis de depressão no SNC. Estes compostos atuam em sinapses onde a neurotransmissão é mediada basicamente pelo ácido gama-aminobutírico (GABA)¹⁹. O aumento no tempo de duração do sono induzido por barbitúricos indica atividade depressiva baseado no fato de que tanto o diazepam quanto o EEC, atuaram potencializando o efeito depressor central.

No sentido de continuar a avaliar o efeito do EEC sobre o sistema nervoso foram realizados os testes do “rota-rod” e do campo aberto os quais possibilitam analisar a integridade do sistema motor e do comportamento exploratório dos camundongos, respectivamente²⁰. Nesses testes, foram empregadas doses maiores do EEC do que as utilizadas no sono induzido por barbitúricos, para verificar se o efeito depressor central seria dependente da dose.

Resultados do “rota-rod” indicaram que o EEC não apresentou atividade sobre a coordenação motora dos animais. No teste do campo aberto foi observado que o EEC tanto aumentou o tempo de imobilidade quanto diminuiu o número de quadrados invadidos pelos animais, indicando diminuição na movimentação espontânea. Dessa forma, a atividade depressora central do EEC, evidenciada pelo aumento no tempo de sono induzido por barbitúricos, pode estar relacionada a uma diminuição na movimentação espontânea dos animais.

Na avaliação do perfil hematológico observou-se que o EEC alterou o número de neutrófilos totais e de linfócitos em relação ao grupo controle. A diminuição no número de linfócitos sugere efeito imunodepressor do extrato, mas por outro lado, o aumento no número de neutrófilos totais, pode sugerir atividade imunoestimulante. A atividade imunoestimulante das flores da calêndula encontra-se relatada na literatura²¹⁻²⁷. No entanto, observa-se que as alterações em relação ao número de neutrófilos totais e de linfócitos encontram-se dentro dos valores hematológicos normais para a espécie animal²⁸, sendo consideradas irrelevantes nesse caso.

A avaliação do perfil bioquímico indicou que o EEC alterou os níveis plasmáticos de proteínas totais, albumina, glicemia e creatinina em relação ao controle. Albumina, globulinas e fibrinogênio são proteínas plasmáticas, formadas no fígado,

que desempenham funções específicas e importantes no organismo. A albumina corresponde à cerca de 60% das proteínas plasmáticas. A diminuição das proteínas totais, e mais especificamente, na albumina, pode ocorrer em alguns casos de alterações hepáticas^{19,29}. Como os níveis plasmáticos das outras enzimas utilizadas para estimar a função hepática, como a fosfatase alcalina e a alanina aminotransferase, não foram alteradas no período de tratamento com o EEC, admite-se que essas alterações observadas sejam inespecíficas, ainda mais por encontrarem-se dentro dos valores de referência normais para a referida espécie animal²⁸.

A glicose é o principal fornecedor de energia para o metabolismo animal, sendo o cérebro e os eritrócitos absolutamente dependentes desse composto²⁹. Algumas espécies vegetais, como *Beta vulgaris* (beterraba), *Aesculus hippocastanum* (castanheira-da-índia) e *Polygala senega* (polígala) apresentam potente atividade hipoglicemiante, atividade essa atribuída às saponinas presentes em sua composição²⁹. Observou-se diminuição da glicemia no grupo dos animais tratados com EEC em relação ao grupo controle, porém esses valores estão abaixo dos valores de referência para essa espécie animal³⁰. Esse resultado difere da atividade hipoglicemiante observada em um extrato metanólico e em frações das flores da calêndula cultivadas no Egito³⁰. Dessa forma, estudos posteriores serão necessários para melhor compreensão da atividade das flores da *C. officinalis* cultivadas no Brasil sobre a glicemia.

Em muitas situações clínicas, a depuração da creatinina fornece uma estimativa razoavelmente precisa da intensidade da filtração glomerular. A queda da filtração glomerular, com elevação na taxa de creatinina plasmática, pode ser um sinal clínico importante em casos de alterações renais³¹. O EEC aumentou a taxa de creatinina no sangue, no entanto, esse valor encontra-se dentro dos valores de referência para a espécie animal²⁸. Dessa forma, o efeito observado com o tratamento com o EEC nesse estudo não caracteriza efeito nefrotóxico. Esse resultado está de acordo com um estudo anterior³² que avaliou a atividade subcrônica do extrato hidroalcolico das flores da *Calendula officinalis*.

CONCLUSÕES

A *Calendula officinalis* apresentou atividade depressora central e diminuiu a movimentação espontânea, efeitos observados por meio dos testes da indução do sono por barbitúricos e do

campo aberto realizados em camundongos. Não foram observados sinais de toxicidade subguda do extrato etanólico das flores da *C. officinalis* administrado por via oral em ratos. Evidenciou-se uma possível atividade hipoglicemiante do extrato, que deve ser melhor avaliada, para que essa espécie vegetal possa ser usada de forma adequada e segura para esse fim.

Agradecimentos. Este trabalho foi realizado com a colaboração do Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais do Instituto de Ciências Biológicas, do Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais e do Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas, da Faculdade de Farmácia, todos da Universidade Federal de Goiás. Um agradecimento especial à Médica Veterinária Valéria Silva de Souza Prado, da Clínica Veterinária Cães e Gatos (Inhumas-GO) pela realização da avaliação do perfil hematológico.

REFERÊNCIAS

- Alonso, J.R. (1998) *“Tratado de Fitomedicina”*. Isis Ediciones, Buenos Aires.
- Cobert, S.A., Bee, J., Dasmahapatra, K., Gales, S., Gorrings, E., Ferla, B., Moorhouse, T., Trevail, A. & Bergen, Y.V. (2001) *An. Botan.* **87**: 231-2.
- Pommier, P., F. Gomez, M.P. Sunyach, A. D’Hombres, C. Carrie, & X.J. Montbarbon (2004) *Clin. Oncology* **22**: 245-8.
- Bustamante, F.M.L. (1993) *“Plantas Medicinales y Aromáticas”*. Mundi-Prensa, Espanha.
- “WHO Monographs” (2002). Geneve.
- “Farmacopéia Brasileira IV” (2001) Ateneu, São Paulo.
- Petry, R.D., F. Reginato, F. De-Paris, G. Gosmann, J.B. Salgueiro J. Quevedo, F. Kapczinski, G. González Ortega & E.P. Schenkel (2001) *Phytoter. Res.* **15**: 162-4.
- Panthong, A., Supraditaporn, W., Kanjanapothi, D., Taesotikul, T. & Reutrakul, V. (2007) *J. Ethnopharmacol.* **110**: 264-70.
- Lapa, A.J., C. Soucar, M.T. Lima-Landaman, M.S.A. Castr, & T.C.M. Lim (2003) *“Métodos para avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais”*. Lagoa Editora, Porto Alegre.
- Eisemberg, D.M., R.C. Kessler, C. Foster, F.E. Norlock, D.R. Calkin, & T.L. Delbarc (1993) *N. Engl. J. Med.* **328**: 246-52.
- Malone, M.H. (1977) *“Pharmacological approaches to natural products, screening and evaluation”*. In: *“New natural products and plants drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity”*. (H. Eagner and P. Wolf, eds.) Springer, Berlin. pp. 24-53
- Carlini, E. A. & V.S. Burgos (1979) *Assoc. Brasil. Psiquiat.* **1**: 25-31.
- Dunham, N.W. & T.S. Miya (1957) *J. Am. Pharm. Assoc.* **46**: 208-10.
- Siegel, P.S (1946) *J. Psychol.* **21**: 227-36.
- Archer, J. (1973) *Anim. Behavior* **21**: 205-35.
- OECD - Organisation for Economic Co-operation and Development (1995) *“Guideline 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodent”* Head of Publications Service, Paris.
- Sampaio, I.B.M. (1998) *“Estatística aplicada à experimentação animal”*. Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária, Belo Horizonte.
- Li, T., G. Xu, W. Lu & C. Sun (2007) *Phytomed.* **14**: 601-4.
- Guyton, A.C. & J. Hall (2002) *“Tratado de Fisiologia Médica”*. Guanabara, Rio de Janeiro.
- Freire, C.M.M., M.O.M. Marques & M. Costa (2006) *J. Ethnopharmacol.* **105**: 161-7.
- Wagner, H., H. Hikino & N.R. Farnsworth (1985) *“Economic and Medicinal Plant Research”*. Academic Press, London.
- Patrick, K.F.M., S. Kumar, P.A.D. Edwardson & J.J. Hutchinson (1996) *Phytomed.* **3**: 11-8.
- Kalvatchev, Z., R. Walder & D. Garzaro (1997) *Biomed. Pharmacother.* **51**: 176-80.
- Brown, D.J. & , A.M. Dattner (1998) *Acta Dermatol.* **134**: 1401-4.
- Newall, C.A., L.A. Anderson & J.D. Phillipson (2002) *“Plantas Mediciniais: guia para profissional de saúde”*. Premier, São Paulo.
- Pérez-Carréon, J.I., G. Cruz-Jiménez, J.A. Licea-Veja, A.E. Popoca, F.S. Fazenda & S. Villa-Trvino (2004) *Toxicol. in vitro* **16**: 253-8.
- Guterres, S. & S. Ziegler (2000) *Infar* **14**: 79-83.
- Birchard, S.J. & R.G. Shersing (2002) *“Manual Saunders: Clínica de Pequenos Animais”*. Rocca, São Paulo.
- Silbernagl, S. & A. Despopoulos (2004) *“Fisiologia: Texto e Atlas”*. Artemed, Porto Alegre.
- Yoshikawa, M., T. Mrakami, A. Kishi, T. Kageura & H. Matsuda (2001) *Chem. Pharm. Bulletin* **49**: 863-70.
- Berne, R.M., M.N. Levy, B.M. Koeppen & B.A. Staton (2000) *“Fisiologia”*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.