



GOVERNO DO ESTADO DO CEARÁ
UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI – URCA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA – DQB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOPROSPECÇÃO
MOLECULAR – PPBM



**FARNESOL: REVISÃO SISTEMÁTICA DAS APLICAÇÕES FARMACOLÓGICAS
E ESTUDO PRÉ-CLÍNICO DO EFEITO COMPORTAMENTAL E
NEUROPROTETOR DO *TRANS,TRANS*-FARNESOL EM MODELOS ANIMAIS**

GYLLYANDESON DE ARAÚJO DELMONDES

CRATO-CE

2019

GYLLYANDESON DE ARAÚJO DELMONDES

**FARNESOL: REVISÃO SISTEMÁTICA DAS APLICAÇÕES FARMACOLÓGICAS
E ESTUDO PRÉ-CLÍNICO DO EFEITO COMPORTAMENTAL E
NEUROPROTETOR DO *TRANS,TRANS*-FARNESOL EM MODELOS ANIMAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA, como requisito para obtenção do título de Mestre em Bioprospecção Molecular.

Área de Concentração: Bioprospecção de Produtos Naturais.

Linha de Pesquisa: Farmacologia de Produtos Naturais.

Orientadora: Profa. Dra. Marta Regina Kerntopf

Co-orientador: Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes

CRATO-CE

2019

Esta dissertação foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Bioprospecção Molecular (Área de Concentração: Bioprospecção de Produtos Naturais/Linha de Pesquisa: Farmacologia de Produtos Naturais), outorgado pela Universidade Regional do Cariri.

Gyllyandeson de Araújo Delmondes

Apresentado em 31 de julho de 2019.

Conceito obtido: Aprovado.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Marta Regina Kerntopf (Orientadora)
Universidade Regional do Cariri – URCA

Profa. Dra. Roseli Barbosa (Membro Interno)
Universidade Regional do Cariri – URCA

Prof. Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe (Membro Externo)
Universidade Federal da Paraíba – UFPB

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade Regional do Cariri – URCA
Bibliotecária: Ana Paula Saraiva CRB: 3/1000

Delmondes, Gyllyandeson de Araújo.
D359f Farnesol: revisão sistemática das aplicações farmacológicas e estudo pré-clínico do efeito comportamental e neuroprotetor do *trans,trans*-farnesol em modelos animais/ Gyllyandeson de Araújo Delmondes. – Crato-CE, 2019
279p.; il.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA, Área de Concentração: Bioprospecção de Produtos Naturais; Linha de Pesquisa: Farmacologia de Produtos Naturais.

Orientadora: Profa. Dra. Marta Regina Kerntopf

Co-orientador: Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes

1. Sesquiterpenos, 2. Farnesol, 3. Neuroproteção, 4. Convulsão, 5. Pilocarpina; I. Título.

CDD: 615.32

“Nada acontece a menos que sonhemos antes”.

(Carl Sandburg)

Dedico a todas as pessoas que sempre acreditaram no meu potencial, em especial a minha querida mentora e amiga *Marta Regina Kerntopf*.

Aos meus pais, *Francisco Gilson Delmondes Silva* e *Francisca Auxiliadora Saraiva de Araújo Delmondes*, pelo apoio, amor, carinho, companheirismo e pela vida.

À minha amada e querida filha *Ana Sofia Delmondes Cunha* pelo amor, carinho e por estar sempre presente em minha vida.

Gratidão eterna por sempre estarem comigo...

AMO VOCÊS!

AGRADECIMENTOS

Ao meu amado **DEUS**, pela exuberância e perfeição do universo, pela graça de existir e por ter me propiciado saúde, paz, amor e sabedoria durante todos esses anos.

A **minha família**, em especial aos meus pais, **Francisco Gilson Delmondes da Silva** e **Francisca Auxiliadora Saraiva de Araújo Delmondes**. **VOCÊS SEMPRE TERÃO O MEU ETERNO AMOR E GRATIDÃO!**

A minha filha, **Ana Sofia Delmondes**, por todo amor, carinho e por sempre me tranquilizar com seu amor e delicadeza durante este período do mestrado. **TERÁS SEMPRE O MEU AMOR!**

A mãe da minha filha, **Glacithane Lins da Cunha**, por ter feito parte desta conquista. Saiba que sem você teria sido bem mais desafiante. A palavra que define meu sentimento por te nesse momento é “**GRATIDÃO**”... Sou grato por todos os momentos em que tivestes presente na minha vida.

A minha querida orientadora e amiga, **Dra. Marta Regina Kerntopf**, pela maravilhosa pessoa que és. Gratidão pela ótima orientação e profissionalismo, pela dedicação, estímulo, paciência e pelas várias oportunidades de aprendizagem que me destes. Agradeço em especial pela sua amizade, carinho e apoio. Muito obrigado, não teria melhor pessoa para conviver. **TENS MINHA GRATIDÃO ETERNA!**

Ao meu co-orientador, **Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes**, pelo apoio e dedicação, por todo auxílio e orientações que foram fundamentais para minha formação. Parabéns pela competência, esforço e dedicação. Minha eterna gratidão pela gentileza e dedicação na construção deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe** pela grandiosa contribuição científica no desenvolvimento deste trabalho. Gratidão pela compreensão, apoio e pela oportunidade de aprender com um profissional de uma competência e inteligência imensurável. Minha eterna gratidão pela gentileza e atenção da sua valiosa colaboração!

Ao **Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho** pelos ensinamentos, colaboração e disponibilidade em auxiliar na construção deste trabalho. Sou grato por ter a oportunidade conviver com um pesquisador que me inspira diariamente. Gratidão!

Aos professores que aceitaram prontamente o convite de fazer parte da banca examinadora de defesa de dissertação, **Profa. Dra Roseli Barbosa, Prof. Cícero Francisco Bezerra Felipe e Prof. Dr. Luís Rafael Leite Sampaio**. Gratidão pelo tempo em que dedicaram para ler e contribuir grandiosamente com este trabalho.

Aos professores que participaram da banca examinadora de qualificação, **Profa. Dra Roseli Barbosa, Prof. José Galberto Martins da Costa e Prof. Dr. Raimundo Nonato Pereira**

Teixeira. Gratidão pelas sugestões e contribuições que foram de grande valia para o enriquecimento deste trabalho.

A todo o **Corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular** pelos ensinamentos e colaboração.

A **Coordenação e as Secretárias do Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular** e todos os **Professores e Servidores da Universidade Regional do Cariri**, pelo acolhimento, ensinamentos e convivência.

A amiga científica **Maria Janice Pereira Lopes** pela amizade e empenho no desenvolvimento deste trabalho. Terás sempre minha eterna gratidão!

Aos amigos científicos, **Diógenes de Queiroz Dias, Prof. Ms. Paulo Felipe Ribeiro Bandeira, Prof. Dr. Luís Rafael Leite Sampaio, Maysa de Oliveira Barbosa, Giovana Mendes de Lacerda, Daniel Souza Bezerra, Izabel Cristina Santiago Lemos, Luzia Paulo da Cruz, Cícera Norma Fernandes Lima, Enaide Soares Santos, Jéssica Pereira da Silva, Álefe Brito Monteiro, Andressa de Alencar Silva, Maria Rayane Correia de Oliveira, Saulo Relison Tintino, Cícera Datiane de Moraes Oliveira Tintino**, pelo carinho, aprendizagem e convivência.

Aos fiéis e guerreiros alunos de Iniciação Científica, **Isaac Moura Araújo, Alex de Souza Borges, Paulo Ricardo Batista, Luanna Gomes da Silva e Jacielton Martins Teles da Silva Moraes**, pela dedicação, apoio, disponibilidade e companhia durante realização dos experimentos. Minha eterna gratidão!

A todos que fazem parte da **Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais (LFPN), Laboratório de Fisiofarmacologia das Células Excitáveis (LFCE), Laboratório de Farmacologia e Química Molecular (LFQM)**, pelos momentos de grandes aprendizagens, de diversões e pela companhia diária.

Aos discentes dos **Programas de Pós-Graduações em Bioprospecção Molecular, Química Biológica e Etnobiologia e Conservação da Natureza**, pelos momentos de convivência e aprendizagem nas disciplinas em que tivemos a oportunidade de cursarmos juntos.

Aos amigos **Diógenes de Queiroz Dias e Anderson Carlos da Silva**, dois grandes irmãos que a vida me deu. Gratidão pela amizade, apoio e contribuição.

Agradeço a todos que fizeram e que fazem parte da minha vida acadêmica, saibam que todos vocês foram fundamentais nessa etapa importantíssima na minha vida. Gratidão pelas diversas contribuições para o meu crescimento pessoal e profissional.

Por fim, agradeço as instituições de fomentos **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Código de financiamento: 001), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP)** e aos **animais de experimentação** utilizados neste trabalho. Minha gratidão e respeito!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 19 |
| 1.1. Apresentação | 19 |
| 1.2. Justificativa e relevância | 21 |
| 1.3. Questão norteadora da revisão sistemática | 22 |
| 1.4. Questão norteadora da revisão crítica das patentes | 22 |
| 1.5. Hipóteses do estudo de bioprospecção farmacológica com o farnesol | 22 |
| 2. OBJETIVOS | 24 |
| 2.1. Objetivos Gerais | 24 |
| 2.2. Objetivos Específicos | 24 |
| 3. REFERENCIAL TEÓRICO | 26 |
| 3.1. Epilepsia | 26 |
| 3.1.1. Aspectos gerais | 26 |
| 3.1.2. <i>Classificação e diagnóstico</i> | 29 |
| 3.2. Epilepsia do Lobo Temporal | 31 |
| 3.3. Ictogênese e epileptogênese | 33 |
| 3.3.1. <i>Papel do sistema colinérgico</i> | 35 |
| 3.3.2. <i>Papel do sistema gabaérgico</i> | 37 |
| 3.3.3. <i>Papel do sistema glutamatérgico</i> | 39 |
| 3.3.4. <i>Papel do sistema monoaminérgico</i> | 41 |
| 3.3.4.1. <i>Papel da neurotransmissão noradrenérgica</i> | 43 |
| 3.3.4.2. <i>Papel da neurotransmissão dopaminérgica</i> | 44 |
| 3.3.4.3. <i>Papel da neurotransmissão serotoninérgica</i> | 45 |
| 3.3.5. <i>Papel do estresse oxidativo</i> | 47 |
| 3.4. Modelos animais de convulsões e epilepsia | 48 |
| 3.5. Tratamento farmacológico da epilepsia | 50 |
| 3.6. Terpenóides | 51 |
| 3.7. Sesquiterpenóides e farnesol | 55 |
| 4. MATERIAS E MÉTODOS | 59 |
| 4.1. Revisão sistemática das propriedades farmacológicas e toxicológicas do farnesol | 59 |
| 4.1.1. <i>Design do estudo</i> | 59 |
| 4.1.2. <i>Estratégia de pesquisa</i> | 61 |
| 4.1.3. <i>Seleção dos estudos</i> | 62 |

| | |
|---|-----------|
| 4.1.4. Avaliação da qualidade metodológica/risco de viés dos estudos | 62 |
| 4.1.5. Extração e análise dos dados | 65 |
| 4.2. Revisão crítica das patentes de produtos farmacêuticos que contém o farnesol na sua formulação | 66 |
| 4.2.1. Design do estudo | 66 |
| 4.2.2. Estratégia de pesquisa | 66 |
| 4.2.3. Seleção das patentes | 67 |
| 4.2.4. Extração e síntese dos dados | 67 |
| 4.3. Bioprospecção farmacológica na investigação comportamental e neuroprotetora do <i>trans,trans</i>-farnesol em camundongos submetidos à convulsão induzida por pilocarpina | 67 |
| 4.3.1. Design do estudo | 67 |
| 4.3.2. Exigências legais - aspectos éticos da pesquisa | 68 |
| 4.3.3. Materiais | 68 |
| 4.3.3.1. Animais | 68 |
| 4.3.3.2. Drogas, reagentes e soluções | 69 |
| 4.3.3.3. Equipamentos | 71 |
| 4.3.4. Métodos | 72 |
| 4.3.4.1. Parâmetros de experimentação e alocação dos animais | 72 |
| 4.3.4.2. Toxicidade oral aguda e screening hipocrático | 74 |
| 4.3.4.3. Avaliação do efeito comportamental | 75 |
| 4.3.4.3.1. Teste do labirinto em cruz elevado | 75 |
| 4.3.4.3.2. Teste do campo aberto | 77 |
| 4.3.4.3.3. Teste do Rota-rod | 78 |
| 4.3.4.3.4. Teste do nado forçado | 80 |
| 4.3.4.3.5. Convulsões induzidas por pilocarpina | 81 |
| 4.3.4.4. Possíveis mecanismos de ação responsáveis pelo efeito anticonvulsivante e neuroprotetor do <i>trans,trans</i> -farnesol | 84 |
| 4.3.4.4.1. Participação do sistema colinérgico - Tremores induzidos por oxotremorina. | 84 |
| 4.3.4.4.2. Participação do sistema monoaminérgico – Dosagem dos níveis de monoaminas | 85 |
| 4.3.4.4.3. Participação da atividade antioxidante – Concentração de substâncias reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARS) e nitrito | 88 |
| 4.3.4.5. Procedimentos estatísticos | 90 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES | 93 |
| 5.1. Revisão sistemática das propriedades farmacológicas e toxicológicas do farnesol | 93 |
| 5.1.1. Efeito antimicrobiano | 95 |
| 5.1.2. Efeito antitumoral | 115 |
| 5.1.3. Efeitos nos sistemas nervoso e cardiovascular | 129 |
| 5.1.4. Efeitos metabólicos e no sistema hepático | 137 |
| 5.1.5. Outros efeitos farmacológicos e toxicológicos | 142 |
| 5.1.6. Qualidade metodológica/Riscos de viés | 148 |
| 5.2. Revisão crítica das patentes de produtos farmacêuticos que contém o farnesol | |

| | |
|---|------------|
| na sua formulação | 152 |
| 5.3. Bioprospecção farmacológica na investigação comportamental e neuroprotetora do <i>trans,trans</i>-farnesol em camundongos submetidos à convulsão induzida por pilocarpina | 161 |
| 5.3.1. <i>Toxicidade oral aguda e screening hipocrático</i> | 162 |
| 5.3.2. <i>Avaliação da atividade comportamental</i> | 165 |
| 5.3.2.1. <i>Teste do labirinto em cruz elevado</i> | 166 |
| 5.3.2.2. <i>Teste do campo aberto</i> | 169 |
| 5.3.2.3. <i>Teste do Rota-rod</i> | 171 |
| 5.3.2.4. <i>Teste do nado forçado</i> | 173 |
| 5.3.2.5. <i>Convulsões induzidas por pilocarpina</i> | 175 |
| 5.3.3. <i>Possíveis mecanismos de ação responsáveis pelo efeito anticonvulsivante e neuroprotetor do <i>trans,trans</i>-farnesol</i> | 179 |
| 5.3.3.1. <i>Participação do sistema colinérgico - Tremores induzidos por oxotremorina.</i> | 179 |
| 5.3.3.2. <i>Participação do sistema monoaminérgico – Dosagem dos níveis de monoaminas</i> | 181 |
| 5.3.3.3. <i>Participação da atividade antioxidante – Concentração de substâncias reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARS) e nitrito</i> | 186 |
| 6. CONCLUSÃO | 190 |
| REFERÊNCIAS | 193 |
| PRODUÇÃO CIENTÍFICA DURANTE O MESTRADO | 229 |
| ANEXOS | 233 |
| APÊNDICES | 240 |

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

| | |
|---|--|
| 5-HT – Serotonina | MEP – 2-metileritritol fosfato |
| a.C. – Antes de Cristo | MEV – Mevalonato |
| ACh – Acetilcolina | NC – Número de cruzamentos |
| AMPc – Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico | NE – Norepinefrina/Noradrenalina |
| ANOVA – Análise de variância | NEBA – Número de entradas nos braços abertos |
| ATROP – Atropina | NEBF – Número de entradas nos braços fechados |
| AVE – Acidente vascular encefálico | NG – Número de <i>grooming</i> |
| CE – Corpo estriado | NIH – <i>National Institutes of Health</i> |
| CEUA – Comissão de Experimentação e Uso de Animais | NMDA – N-metil D-Aspartato |
| CIUCA – Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais | NQ – Número de quedas |
| CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência | NR – Número de <i>rearing</i> |
| CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal | OECD – <i>Organization for Economic Cooperation and Development</i> |
| DA – Dopamina | OMS – Organização Mundial de Saúde |
| DAE's – Drogas antiepiléticas | OXO – Oxotremorina |
| DL ₅₀ – Dose letal média | <i>p</i> – Valor de prova |
| DMAPP – Difosfato de dimetilalila | PILO – Pilocarpina |
| DZP – Diazepam | PR – Premissas |
| EEG – Eletroencefalograma | PRISMA – <i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i> |
| ELT – Epilepsia do lobo temporal | RS – Revisão sistemática |
| ELTM – Epilepsia do lobo temporal mesial | SE – <i>Status</i> epilético |
| FAR – Farnesol | SNC – Sistema nervoso central |
| GABA – Ácido gama aminobutírico | SV2A – Proteína das vesículas sinápticas |
| H1 – Hipótese 1 | <i>S_x</i> = Erro padrão da média |
| H2 – Hipótese 2 | TBARs – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico |
| H3 – Hipótese 3 | TI – Tempo de imobilidade |
| HC – Hipocampo | TP – Tempo de permanência |
| i.p. – Via intraperitoneal | TPBA – Tempo de permanência nos braços abertos |
| ILAE – <i>International League Against Epilepsy</i> | TPBF – Tempo de permanência nos braços fechados |
| INPI – Instituto Nacional da Propriedade Industrial | v.o. – Via oral |
| IP3 – 1,4,5-Trifosfato de Inositol | WIPO – <i>World Intellectual Property Organization</i> |
| IPP – Difosfato de isopentila | \bar{X} = Média aritmética |
| L.M. – Latência de morte | |
| L.P.C. – Latência da primeira convulsão | |
| MDA – Malonilaldeído | |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|-----|
| Figura 1. Classificação operacional das crises epilépticas proposta pela <i>International League Against Epilepsy</i> (ILAE) | 30 |
| Figura 2. Fases do desenvolvimento e progressão da epilepsia do lobo temporal | 33 |
| Figura 3. Mecanismos de excitotoxicidade glutamatérgica envolvidos na neurodegeneração e desordens neurológicas | 41 |
| Figura 4. Representação estrutural da unidade isoprênica (C5) | 51 |
| Figura 5. Rotas biossintéticas dos compostos terpênicos | 53 |
| Figura 6. Principais hidrocarbonetos lineares que originam os terpenóides encontrados nos óleos voláteis | 54 |
| Figura 7. Precursores biossintéticos dos sesquiterpenóides | 55 |
| Figura 8. Exemplos de representações estruturais de diferentes tipos de sesquiterpenóides | 56 |
| Figura 9. Representação estrutural dos diferentes isômeros geométricos do farnesol | 56 |
| Figura 10. Fluxo de seleção dos artigos através das diferentes fases de uma revisão sistemática proposto pelo PRISMA | 59 |
| Figura 11. Possibilidades metodológicas de revisão sistemática | 61 |
| Figura 12. Fluxograma dos métodos experimentais utilizados | 73 |
| Figura 13. Esquema representativo da investigação do efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol sobre os parâmetros comportamentais no teste do labirinto em cruz elevado | 76 |
| Figura 14. Esquema representativo da investigação do efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol sobre os parâmetros comportamentais no teste do campo aberto | 78 |
| Figura 15. Esquema representativo da investigação do efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol sobre os parâmetros comportamentais no teste do <i>rota-rod</i> | 79 |
| Figura 16. Esquema representativo da investigação do efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol sobre os parâmetros comportamentais no teste do nado forçado | 81 |
| Figura 17. Esquema representativo da investigação do efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol sobre os parâmetros comportamentais no modelo de convulsões induzidas por pilocarpina | 83 |
| Figura 18. Esquema representativo da investigação do efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol no modelo de tremores induzidos por oxotremorina. | 85 |
| Figura 19. Esquema representativo da investigação do efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol nos ensaios neuroquímicos para dosar os níveis de monoaminas | 87 |
| Figura 20. Esquema representativo da investigação do efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol nos ensaios neuroquímicos para dosar as concentrações de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) e nitrito | 90 |
| Figura 21. Resultados da pesquisa e seleção dos artigos | 93 |
| Figura 22. Número de publicações em cada ano | 94 |
| Figura 23. Resumo de qualidade metodológica para ensaios pré-clínicos: revisão dos julgamentos dos autores sobre cada item de qualidade metodológica para cada estudo incluído | 149 |
| Figura 24. Gráfico de qualidade metodológica para ensaios pré-clínicos: revisão dos julgamentos dos autores sobre cada item de qualidade metodológica para cada estudo incluído apresentados em porcentagem | 150 |

| | |
|--|-----|
| Figura 25. Resumo de qualidade metodológica para ensaios clínicos: revisão dos julgamentos dos autores sobre cada item de qualidade metodológica para cada estudo incluído | 151 |
| Figura 26. Gráfico de qualidade metodológica para ensaios clínicos: revisão dos julgamentos dos autores sobre cada item de qualidade metodológica para cada estudo incluído apresentados em porcentagem | 151 |
| Figura 27. Fluxograma da pesquisa e seleção das patentes | 152 |
| Figura 28. (A) Distribuição das patentes em cada banco eletrônico de patentes. (B) Evolução anual das patentes. (C) Distribuição dos países depositantes de patentes (KR – República da Coreia, CN- China, ES – Espanha, FR – França, GB – Reino Unido, US – Estados Unidos da América, BR – Brasil). (D) Distribuição de patentes pela Classificação Internacional de Patentes (A01N – Preservação de corpos de seres humanos ou animais ou plantas ou suas partes, A61F/A61P – Atividade terapêutica específica de compostos químicos ou preparações medicinais, A61K – Preparações para uso médico, odontológico ou higiênico, A61L – Métodos ou aparelhos para esterilizar materiais ou objetos em geral, A61Q – Uso específico de cosméticos ou preparações higiênicas semelhantes, C09D – Composições de revestimento, C11D - Óleos animais ou vegetais, gorduras, substâncias gordas ou ceras) | 153 |
| Figura 29. Massa inicial (0 dias) e massa final (14 dias) dos animais submetidos ao teste de toxicidade aguda pela administração oral do farnesol (5.000 mg/kg) | 164 |
| Figura 30. Efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol sobre os parâmetros comportamentais dos camundongos no teste do labirinto em cruz elevado | 167 |
| Figura 31. Efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol em camundongos submetidos ao teste do nado forçado | 174 |
| Figura 32. Efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol em camundongos submetidos à convulsão induzida por pilocarpina. (A) Latência da primeira convulsão clônica ou tônico-clônica; (B) Latência de morte dos animais; (C) Estágios e intensidade das crises convulsivas com base na escala de Racine (1972) adaptada por Lüttjohann; Fabene & Luijtelaar (2009); e (D) Percentual de sobrevivência dos animais após 24h da administração do pentilenotetrazol | 177 |
| Figura 33. Efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol no modelo de tremores induzidos por oxotremorina | 180 |
| Figura 34. Efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol sobre os níveis de monoaminas em camundongos submetidos a convulsão induzida por pilocarpina | 183 |
| Figura 35. Efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol sobre os marcadores de estresse oxidativo decorrente das convulsões induzidas por pilocarpina. (A) Determinação dos níveis de nitrito; (B) Determinação dos níveis de ácido tiobarbitúrico (TBARs) | 187 |

LISTA DE QUADROS

| | |
|---|----|
| Quadro 1 – Classificação etiológica da epilepsia proposta pela <i>International League Against Epilepsy</i> (ILAE, 2015) | 35 |
| Quadro 2 – Mutações no sistema gabaérgico relacionadas a ictogênese e epileptogênese . | 39 |
| Quadro 3 – Principais modelos animais de convulsões e epilepsias proposto pela “International League Against Epilepsy” e “American Epilepsy Society Basic Science Committee” | 49 |
| Quadro 4 – Principais fármacos utilizados no tratamento das crises convulsivas e epiléticas em adultos | 50 |
| Quadro 5 – Parâmetros avaliados no teste de toxicidade oral aguda e <i>screening</i> Hipocrático | 75 |
| Quadro 6 – Escala comportamental para avaliar o estágio e intensidade de crises convulsivas | 83 |
| Quadro 7 – Escala de intensidade dos tremores | 85 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|-----|
| Tabela 1 – Ferramenta do do <i>SYRCLE's RoB</i> para avaliar o risco de viés em estudos com animais não-humanos | 63 |
| Tabela 2 – Ferramenta do do <i>Cochrane Collaboration's</i> para avaliar o risco de viés em estudos clínicos | 64 |
| Tabela 3 – Drogas, reagentes e soluções utilizadas na realização dos protocolos farmacológicos e neuroquímicos | 69 |
| Tabela 4 – Equipamentos utilizados na realização dos protocolos farmacológicos e neuroquímicos | 71 |
| Tabela 5 – Grupos e drogas administradas no modelo de convulsões induzidas por pilocarpina | 75 |
| Tabela 6 – Grupos e drogas administradas no modelo de convulsões induzidas por pilocarpina | 76 |
| Tabela 7 – Grupos e drogas administradas no modelo dos tremores induzidos por oxotremorina | 77 |
| Tabela 8 – Grupos e drogas administradas nos ensaios neuroquímicos para dosar os níveis de monoaminas | 79 |
| Tabela 9 – Grupos e drogas administradas nos ensaios neuroquímicos para dosar os conteúdos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e nitrito | 80 |
| Tabela 10 – Grupos e drogas administradas no teste do labirinto em cruz elevado | 82 |
| Tabela 11 – Grupos e drogas administradas no teste do campo aberto | 84 |
| Tabela 12 – Grupos e drogas administradas no teste do <i>Rota-rod</i> | 87 |
| Tabela 13 – Grupos e drogas administradas no teste do nado forçado | 89 |
| Tabela 14 – Síntese descritiva dos estudos que investigaram o efeito antimicrobiano dos diferentes isômeros de farnesol | 99 |
| Tabela 15 – Síntese descritiva dos estudos que investigaram o efeito antitumoral dos diferentes isômeros de farnesol | 118 |
| Tabela 16 – Síntese descritiva dos estudos que investigaram os efeitos dos diferentes isômeros de farnesol nos sistemas nervoso e cardiovascular | 131 |
| Tabela 17 – Síntese descritiva dos estudos que investigaram os efeitos metabólicos e hepáticos dos diferentes isômeros de farnesol | 139 |
| Tabela 18 – Síntese descritiva do estudos que investigaram os outros efeitos farmacológicos e toxicológicos dos diferentes isômeros de farnesol | 144 |
| Tabela 19 – Patentes de interesses farmacêuticos contendo o farnesol na sua formulação. | 155 |
| Tabela 20 – Alterações comportamentais registradas em camundongos decorrentes da administração oral aguda do farnesol (5.000 mg/kg) seguindo o método do <i>screening</i> hipocrático proposto por Malone (1977) | 163 |
| Tabela 21 – Análise descritiva e valor de prova (p) da massa inicial (dia 0) e massa final (14º dia) dos animais submetidos ao teste de toxicidade aguda pela administração oral do farnesol (5.000 mg/kg) | 164 |
| Tabela 22 – Análise descritiva e valor de prova (p) do efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol sobre os parâmetros comportamentais dos camundongos no teste do labirinto em cruz elevado | 168 |
| Tabela 23 – Efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol sobre os parâmetros comportamentais dos camundongos no teste do campo aberto | 170 |

| | |
|--|-----|
| Tabela 24 - Efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol sobre a coordenação dos camundongos : teste do <i>Rota-rod</i> | 172 |
| Tabela 25 – Análise descritiva e valor de prova (p) do efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol em camundongos submetidos ao teste do nado forçado | 174 |
| Tabela 26 – Análise descritiva e valor de prova (p) do efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol em camundongos submetidos à convulsão induzida por pilocarpina | 178 |
| Tabela 27 – Análise descritiva e valor de prova (p) do efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol no modelo de tremores induzidos por oxotremorina | 181 |
| Tabela 28 – Análise descritiva e valor de prova (p) do efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol sobre os níveis de monoaminas em camundongos submetidos a convulsão induzida por pilocarpina | 183 |
| Tabela 29 – Análise descritiva e valor de prova (p) do efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol sobre os marcadores de estresse oxidativo decorrente das convulsões induzidas por pilocarpina | 187 |

RESUMO

Este trabalho objetivou desenvolver uma revisão sistemática (RS) das aplicações farmacológicas do farnesol e investigar o seu efeito comportamental e neuroprotetor em modelos animais. A RS foi realizada em conformidade com as diretrizes do PRISMA. Após aplicar os critérios de inclusão, 76 artigos foram selecionados na análise final. Observou-se que 51,32% das publicações investigaram o efeito antimicrobiano, 22,37% o efeito antitumoral, 13,16% os efeitos nos sistemas nervoso e cardiovascular, 5,26% os efeitos metabólicos e no sistema hepático e 7,89% avaliaram outros efeitos farmacológicos e toxicológicos. O estudo bibliográfico demonstrou que o farnesol apresenta uma diversidade de propriedades farmacológicas e toxicológicas que possibilita o seu uso como princípio ativo ou coadjuvante de fármacos. Para investigar o efeito neuroprotetor foi utilizado o modelo de convulsões induzidas por pilocarpina. A elucidação dos possíveis mecanismos envolvidos na ação neuroproteção promovida pelo *trans,trans*-farnesol deu-se pela investigação da participação dos principais sistemas e vias de neurotransmissão afetadas pela pilocarpina durante o processo de ictogênese e/ou epileptogênese: neurotransmissão colinérgica e monoaminérgica; e sistema antioxidante. Além disso, foi avaliado o efeito do *trans,trans*-farnesol sobre os principais parâmetros comportamentais associados as comorbidades associadas a epilepsia. Os resultados obtidos nos protocolos experimentais demonstram que o *trans,trans*-farnesol, possivelmente, é isento de efeitos tóxico quando administrado de forma aguda pela via oral, sendo a dose letal média (DL₅₀) estimada ≥ 5.000 mg/kg. Na investigação do efeito sobre as convulsões induzidas por pilocarpina observou-se que o *trans,trans*-farnesol não se mostrou promissor como agente anticonvulsivante, entretanto apresentou um significativo efeito neuroprotetor. O efeito neuroprotetor promovido pelo *trans,trans*-farnesol pode ser decorrente da possível atuação desta substância nos sistemas de neurotransmissão colinérgica e monoaminérgica e devido o seu efeito antioxidante. No estudo dos parâmetros comportamentais, o tratamento com *trans,trans*-farnesol não promoveu efeito ansiolítico no teste do labirinto em cruz elevado. Nos testes do campo aberto e do nado forçado observou-se que o *trans,trans*-farnesol apresentou um efeito bifásico, ou seja, em doses menores (12,5 mg/kg, v.o.) esta substância promove efeito típico de substâncias sedativas e/ou depressores; e em doses elevadas apresenta um efeito típico de substâncias antidepressivas, sendo que este último efeito foi mais evidente no teste do nado forçado, visto que na dose de 50 mg/kg o *trans,trans*-farnesol diminuiu o tempo de imobilidade do animal quando comparado com o grupo salina. Apesar de apresentar efeito do tipo depressor em doses menores, o tratamento com *trans,trans*-farnesol não compromete o sistema motor dos animais, visto que no teste do *Rota-rod* nenhuma das doses investigadas promoveram alterações no comportamento dos animais. Levando-se em conta os resultados obtidos nos modelos pré-clínicos que investigaram o efeito comportamental e neuroprotetor, fica evidente a importância de maiores aprofundamentos nos estudos com o *trans,trans*-farnesol, uma vez que a substância demonstrou ser capaz de inibir os efeitos deletérios do desbalanceamento dos fatores envolvidos no desenvolvimento da neurotoxicidade promovida pela pilocarpina, conferindo-lhe uma destacada relevância dentre as potenciais substâncias a serem desenvolvidas para possivelmente atuar como neuroprotetores na terapêutica da epilepsia.

Palavras-chave: Sesquiterpenos; Farnesol; Neuroproteção; Convulsão; Pilocarpina.

ABSTRACT

This study aimed to develop a systematic review (SR) of farnesol's pharmacological applications and to investigate its behavioural and neuroprotective effects in animal models. The SR was performed in accordance with PRISMA guidelines. After applying the inclusion criteria, 76 articles were selected in the final analysis. From this amount 51.32% of the publications investigated the antimicrobial effect, 22.37% the antitumor effect, 13.16% the effects on the nervous and cardiovascular systems, 5.26% the metabolic and hepatic system effects and 7.89% evaluated other pharmacological and toxicological effects. The bibliographic study has shown that farnesol has a variety of pharmacological and toxicological properties that enables its use as a drug itself or as an adjuvant drug. To investigate the neuroprotective effect of *trans,trans*-farnesol, the pilocarpine-induced seizures model was used. The elucidation of the possible mechanisms involved in the neuroprotective action induced by *trans,trans*-farnesol was investigated through the participation of the main systems and neurotransmission pathways affected by pilocarpine during the process of ictogenesis and/or epileptogenesis: cholinergic and monoaminergic neurotransmission; and antioxidant system. In addition, the effect of *trans,trans*-farnesol on the main behavioural parameters associated with epilepsy comorbidities was evaluated. The results obtained in the experimental protocols show that *trans,trans*-farnesol is possibly free of toxic effects when administered orally, with the estimated mean lethal dose (LD50) $\geq 5,000$ mg/kg. Investigating the effect on pilocarpine-induced seizures, it was observed that *trans,trans*-farnesol was not promising as an anticonvulsant agent, however it had a significant neuroprotective effect. The neuroprotective effect induced by *trans,trans*-farnesol may be due to the possible action of this substance in cholinergic and monoaminergic neurotransmission systems and due to its antioxidant effect. In the study of behavioural parameters, treatment with *trans,trans*-farnesol did not promote anxiolytic effect in the elevated plus-maze test. In the open field and forced swimming tests it was observed that *trans,trans*-farnesol had a biphasic effect, meaning that, at lower doses (12.5 mg/kg, vo) this substance promotes the typical effect of sedative and/or depressant substances. On the other hand, at high doses it promotes the typical effect of antidepressant substances. This last effect is more evident in the forced swimming test, since at 50 mg/kg the *trans,trans*-farnesol decreased the animal's immobility time when compared with the saline group. Despite having a depressant effect at lower doses, treatment with *trans,trans*-farnesol does not compromise the animals' motor system, seeing that in the Rota-rod test none of the investigated doses caused changes in animal behaviour. Considering the results obtained in the preclinical models that investigated the behavioural and neuroprotective effect, it is evident the importance of further studies using *trans,trans*-farnesol, since the substance has demonstrated to be capable of inhibiting the deleterious effects of unbalanced factors involved in the development of neurotoxicity by pilocarpine, giving it a prominent relevance among the substances eligible to possibly be used as neuroprotectors in epilepsy therapy.

Keywords: Farnesol; Systematic review; Pharmacological effects; Neuroprotection; Epilepsy.

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Apresentação

As convulsões são desordens decorrentes de descargas elétricas atípicas dos neurônios, que podem resultar em alterações comportamentais e/ou disfunções cerebrais (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014). Trata-se do distúrbio neurológico mais comum na infância (RODGERS; GROBEN, 2015) e é a manifestação clínica mais importante na caracterização das epilepsias.

De acordo com Mittal e colaboradores (2011), os três mecanismos pelas quais as crises convulsivas podem desenvolver-se são: 1) pela redução da concentração do ácido gama aminobutírico (GABA), levando à diminuição do mecanismo inibitório, 2) aumento da atividade das vias excitatórias, principalmente as mediadas pelo receptor de glutamato NMDA (N-metil D-Aspartato), e 3) pelo reforço da condutância neural endógena, aumentando as correntes voltagens-dependentes.

O tratamento farmacológico das convulsões se dá pelo uso de drogas que agem controlando as crises através da potencialização da ação do GABA e pela inibição dos canais de sódio dependentes de voltagem (ALMEIDA, 2006; ATTAL, 2000); promovendo uma redução na responsividade “de neurônios normais aos impulsos nervosos de alta frequência que surgem nos focos epileptogênicos” (RODGERS; GROBEN, 2015, p. 920), objetivando controlar as crises diminuindo o limiar das convulsões desencadeadas pela hiperexcitabilidade neuronal.

Referente à sua eficácia, os “fármacos anticonvulsivantes fornecem um controle adequado das convulsões em cerca de dois terços dos pacientes” (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014, p. 404). Entretanto, esses medicamentos podem apresentar falhas no tratamento com efeitos colaterais associados, tais como: resistência farmacológica, abstinência, efeito teratogênico, acidose respiratória, hipotensão e bradicardia (SCHMIDT; SCHACHTER, 2014). Quintans-Júnior e colaboradores (2002) afirmam que os efeitos colaterais associado com a elevada toxicidade das drogas antiepilépticas (DAE's), para o controle das crises convulsivas, são fatores que motivam os pacientes a buscarem alternativas medicamentosas mais seguras. Essas alternativas terapêuticas incluem práticas complementares e o uso de plantas com possíveis propriedades medicinais (AKIYAMA; OTSUBO, 2010; FRYE; SREENIVASULA; ADAMS, 2015).

De acordo com Chaves (2012), as plantas com propriedades medicinais e as moléculas bioativas obtidas destas, despertam o interesse de pesquisadores que objetivam o

desenvolvimento de novos medicamentos que possam ser utilizados pela população no tratamento de distúrbios que afetam o Sistema Nervoso Central (SNC), como ansiedade e convulsão, os quais têm um custo terapêutico elevado com a presença de reações adversas que afetam as atividades profissionais e a qualidade de vida de pessoas que possuem essas enfermidades.

Almeida, Motta & Leite (2003) afirmam que várias espécies vegetais, como as plantas aromáticas, são utilizadas pelos seus efeitos medicinais, sendo que seus óleos essenciais se mostram promissores na descoberta de compostos químicos com propriedades biológicas no SNC, incluindo ação antiepiléptica. Ainda nesse estudo, os autores afirmam que pesquisas sobre óleos essenciais e seus principais compostos químicos vêm atraindo o interesse de muitos cientistas, encorajando-os a desenvolver estudos com produtos naturais que possam levar ao desenvolvimento de novas substâncias com efeitos anticonvulsivante-símile, que possuam vantagens sobre as drogas utilizadas atualmente no tratamento das crises convulsivas.

Dentre as plantas que apresentam atividades anticonvulsivantes, os óleos essenciais e os princípios ativos obtidos das diferentes famílias e espécies de plantas aromáticas vêm demonstrando significativa atividade anticonvulsivante em modelos animais, por exemplo: óleo essencial de *Acorus gramineus* Aiton e α -asarone presente nos seus rizomas (YANG et al., 2006); óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown. e três quimiotipos presentes nessa espécie, citral, limoneno e α -mirceno (VIANA et al., 2000); o γ -decanolactone presente nas folhas de *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex Spreng. (BRUM; ELISABETSKY; SOUZA, 2001; COELHO DE SOUZA et al., 1997); a jatamansona presente no óleo essencial de *Nardostachys jatamansi* (D. Don) DC. (ARORA; SHARMA; KAPILA, 1958), dentre outras.

Estudos mostraram que compostos que são comuns em óleos essenciais apresentam efeitos anticonvulsivante em modelos experimentais *in vivo*, tais como: terpinen-4-ol (ATANASOVA-SHOPOVA; RUSINOV; BOICHEVA, 1973; DE SOUSA et al., 2009), citral, β -mirceno, limoneno (ARORA, SHARMA, KAPILA, 1958; QUITANS-JUNIOR et al., 2010), linalol (DE SOUSA et al., 2010; NWAIWU; AKAH, 1986), α -terpineol (DE SOUSA; QUITANS; DE ALMEIDA, 2007), citronelol (DE SOUSA et al., 2006), eugenol, metileugenol, isoeugenol, estragol, safrol (DALLMEIER; CARLINE, 1981), carvacrol (QUITANS-JUNIOR et al., 2010).

Na perspectiva de descoberta de novos composto biologicamente ativos oriundos de plantas medicinais, os grupos de metabólitos secundários denominados de terpenos já são

descritos na literatura por apresentarem uma diversidade de efeitos no SNC, tais como, atividade sedativa, ansiolítica, antinociceptiva, anticonvulsivante, pró-convulsivante e alucinógena (PASSOS et al., 2009).

Dentre os diferentes tipos de terpenos, este trabalho objetiva avaliar o potencial anticonvulsivante do *trans,trans*-farnesol, que é um álcool sesquiterpênico utilizado na perfumaria e fabricação de cosméticos devido o seu aroma doce e suave (LAPCZYNSKI et al., 2008); e descrito na literatura por possuir diferentes atividades biológicas, dentre elas efeitos no SNC, como por exemplo, efeito ansiolítico, depressor (SHAHNOURI; ABOUHOSSEINI TABARI; ARAGHI, 2016), analgésico (SHAHNOURI; ABOUHOSSEINI TABARI; ARAGHI, 2016; SILVA et al., 2017) e neuroprotetor (SANTHANASABAPATHY; SUDHANDIRAN, 2015).

Nos estudos de Homayoun e colaboradores (2015), com o extrato hidroalcoólico dos arbustos de *Rosa damascena* Mill., e de Azanchi; Shafaroodia & Asgarpanah (2014), com o óleo essencial das flores de *Citrus aurantium* L., ambas espécies apresentaram efeito anticonvulsivante e possuem o farnesol na sua composição química; entretanto, os autores não associaram o efeito anticonvulsivante à presença desta substância.

Além do exposto, no presente estudo realizou-se, também, uma revisão sistemática das propriedades farmacológicas e toxicológicas do farnesol.

1.2. Justificativa e relevância

A farmacoresistência e os efeitos colaterais causados pela não seletividade da ação farmacológica das drogas antiepiléticas, bem como a potencial letalidade em casos de superdosagem e os adversos associados, comprometem a segurança e a aceitação do tratamento pelos pacientes epiléticos. Por estas razões, apesar da variedade medicamentosa existente, a busca por novas substâncias bioativas com maior seletividade e menor toxicidade e efeitos colaterais, vem se consolidando nas últimas décadas, na tentativa de solucionar o que ainda há de falho na terapia antiepilética.

Assim, devido o potencial farmacológico do farnesol e por não haver estudos sobre o efeito neuroprotetor desta substância no modelo de convulsão induzida por pilocarpina, este trabalho representa um esforço no sentido de compilar as evidências científicas e tomá-las como direcionamento para investigar o efeito comportamental e neuroprotetor do farnesol em modelos animais, de forma que possam vir a contribuir como

futuras ferramentas a serem aplicadas na compreensão dos mecanismos envolvidos no processo de ictogênese e/ou epileptogênese e na terapia medicamentosa da epilepsia.

Essa pesquisa, também, tem como finalidade colaborar e enriquecer o conhecimento farmacológico e toxicológico do farnesol, caracterizando significativamente suas atividades terapêuticas e/ou tóxicas, enfatizando a importância da pesquisa com moléculas bioativas oriundas de produtos naturais, bem como contribuir com a capacitação de recursos humanos e desenvolvimento científico da Bioprospecção de produtos naturais na Região do Cariri Cearense.

1.3. Questão norteadora da revisão sistemática

- Quais são as propriedades farmacológicas e toxicológicas do farnesol?

1.4. Questão norteadora da revisão crítica das patentes

- Quais são os produtos de interesses farmacêuticos patenteados que possuem o farnesol na sua formulação?

1.5. Hipóteses do estudo de bioprospecção farmacológica com o *trans,trans*-farnesol

| | |
|-----------|--|
| H1 | O <i>trans,trans</i> -farnesol promove um efeito anticonvulsivante e neuroprotetor em camundongos submetidos a convulsões induzidas por pilocarpina. |
| PR | AZANCHI; SHAFAROODIA; ASGARPANA, 2014; HOMAYOUN et al., 2015; SHAHNOURI; ABOUHOSSEINI TABARI; ARAGHI, 2016; SILVA et al., 2017. |
| H2 | O <i>trans,trans</i> -farnesol promove efeito anticonvulsivante por interagir com receptores muscarínicos. |
| PR | SHAHNOURI; ABOUHOSSEINI TABARI; ARAGHI, 2016. |
| H3 | O <i>trans,trans</i> -farnesol promove efeito anticonvulsivante por afetar os níveis de monoaminas no sistema nervoso central. |
| PR | HOMAYOUN et al., 2015; SOUZA, 2016. |
| H4 | O <i>trans,trans</i> -farnesol promove efeito neuroprotetor por possuir propriedade antioxidante. |
| PR | QAMAR; SULTANA, 2008; SANTHANASABAPATHY; SUDHANDIRAN, 2015. |

H1 – Hipótese 1; **H2** – Hipótese 2; **H3** - Hipótese 3; **PR** – Premissas.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

- Realizar uma revisão sistemática das aplicações farmacológicas do farnesol;
- Investigar a atividade comportamental e neuroprotetora do *trans,trans*-farnesol em modelos animais.

2.2. Objetivos Específicos

- Desenvolver uma revisão sistemática sintetizando os estudos pré-clínicos e clínicos que investigaram os efeitos farmacológicos e toxicológicos do farnesol;
- Realizar uma síntese crítico-analítica das patentes de interesses farmacêuticos que contém o farnesol na sua formulação;
- Estimar a dose letal média (DL₅₀) pela administração oral aguda do *trans,trans*-farnesol;
- Identificar os efeitos comportamentais decorrentes da administração oral aguda do *trans,trans*-farnesol em camundongos submetidos aos testes do labirinto em cruz elevado, campo aberto, *Rota-rod*, nado forçado e convulsões induzidas por pilocarpine;
- Investigar o possível efeito anti-colinérgico pela administração oral aguda do *trans,trans*-farnesol em camundongos tratados com oxitremorina (antagonisa muscarínico);
- Investigar o efeito da administração oral aguda do *trans,trans*-farnesol sobre a concentração das monoaminas no corpo estriado de camundongos submetidos à convulsão induzida por pilocarpina;
- Investigar o efeito da administração oral aguda *trans,trans*-farnesol sobre as concentrações de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) e nitrito/nitrato no hipocampo de camundongos submetidos à convulsão induzida por pilocarpina;
- Sugerir um mecanismo de ação para o efeito observados nos testes com o *trans,trans*-farnesol.

REFERENCIAL TEÓRICO

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Epilepsia

3.1.1. Aspectos gerais

O termo epilepsia, derivado do verbo grego “*epilambanein*” (*επιλβνεινα*), que significa “apreender, possuir ou afligir”, é utilizado para se referir a uma dorçça decorrente de um conjunto de desordens neurológicas crônicas que tem como principal característica a incidência de descargas elétricas atípicas e imprevisíveis no SNC (crises convulsivas), podendo promover alterações comportamentais e/ou disfunções cerebrais (FISHER, 2017; FISHER et al., 2014). A epilepsia pode afetar pessoas em qualquer faixa etária, entretanto sua maior incidência é em crianças e idosos (SANDER, 2003); e, por ser de caráter crônico, promove altos índices de morbidade e mortalidade na população em geral (BANERJEE; VITVITSKY; GARG, 2008).

A Organização Mundial de Saúde (OMS, 2018) estima que atualmente cerca de 50 milhões de pessoas, em todo o mundo, vivem com epilepsia, e que a cada ano quase 2,4 milhões de novos casos são diagnosticados. Cerca de 80% dos pacientes com epilepsia vivem em países de baixa e média renda, sendo estimada, nesses países, uma proporção de 7 a 14 epilépticos a cada mil pessoas. Em países de alta renda anualmente 30 a 50 pessoas, a cada 100.000 habitantes, são diagnosticadas com epilepsia. Essa maior incidência e prevalência de epilépticos em países de baixa e média renda pode ser devido ao aumento do risco de condições endêmicas (com malária ou neurocisticercose), a maior incidência de lesões no trânsito, lesões relacionadas ao parto, disponibilidade de programas preventivos de saúde, acessibilidade ao atendimento e pelas variações na infraestrutura médica (OMS, 2018).

O primeiro relato do que aparenta ser uma crise epiléptica data de 2000 anos a.C. e foi encontrado em um texto escrito na língua acadiana, utilizada na região da Mesopotâmia (atual Iraque) (MAGIORKINIS; SIDIROPOULO; DIAMANTIS, 2010; TEMKIN, 1994). O autor do texto retrata um paciente com sintomas semelhantes a epilepsia:

[...] Seu pescoço vira para a esquerda, suas mãos e pés encontram-se tensos e os seus olhos arregalados, a sua boca está a espumar e este encontra-se sem consciência alguma”. O exorcizador diagnosticou a condição como “*antasubbû*”, que pode ser traduzida como “a mão do pecado”, que seria trazida pelo Deus da lua (LABAT, 1951, pp. 80-81).

O *Sakikku* (que significa todas as doenças), um dos mais antigos textos médicos babilônicos (1067 – 1046 a.C.), refere-se à epilepsia com os termos “*miqtu*” e “*antasubba*”

(EADIE; BLADIN, 2001; SCURLOCK; ANDERSEN, 2005), sendo que este último apresenta semelhanças com a palavra acadiana “*antassubbû*”.

No Antigo Egito são encontrados relatos sobre epilepsia no papiro de Edwin Smith (1700 a.C), o qual refere-se a convulsões epiléticas na descrição de pacientes que “*extremecem excessivamente*” (MAGIORKINIS; SIDIROPOULO; DIAMANTIS, 2010).

A pesquisadora Marten Stol (1993) afirma que o código Hamurabbi (1790 a.c.) também faz referência a epilepsia. O código declara que um escravo poderia ser devolvido e o dinheiro reembolsado se *bennu* (palavra utilizada para se referir a epilepsia) aparecesse dentro do mesmo em até um mês após a sua compra.

Na medicina indiana (século 6 a.C.) o autor médico Atreya afirma que a epilepsia é doença decorrente de uma disfunção cerebral e não da intervenção divina. Atreya categorizou quatro tipos diferentes de epilepsia, sendo um desses tipos chamado de *Abasmara*, que se referia a sintomas premonitórios no qual os pacientes perdiam a memória (PIRKNER, 1929).

A escassez de conhecimento referente aos mecanismos fisiopatológicos das convulsões perpetuou-se por muito tempo e fez com que diversos povos da antiguidade criassem crenças e estigmas religiosos em torno da epilepsia como possessão, maldição ou castigo divino. Nem mesmo os estudos de Hipócrates (400 a.C.), um dos maiores médicos da Era Clássica na Grécia e considerado por muitos o “pai da medicina”, e de Galeno (175 d.C.), tido como o mais talentoso médico investigativo do período romano, afirmando que a epilepsia era originada a partir de anomalias decorrentes do cérebro, foram eficazes na desmistificação das crenças e atitudes populares daquela época. Hipócrates chamou a epilepsia de “grande doença” (HIPPOCRATE, 1849a) e, portanto, a partir daí originou-se o termo “grande mal” (HIPPOCRATE, 1849b).

Durante a Idade Média, na Santa Inquisição, muitos epiléticos foram perseguidos e condenados à morte por serem considerados loucos e hereges (FERNANDES, 2013). As crenças nas questões místicas que estavam por trás das crises convulsivas começaram a ser modificadas apenas durante o Iluminismo, através dos avanços científicos no campo da Anatomia, Patologia, Farmácia e Fisiologia, que despontaram as teorias fisiopatogênicas relacionadas ao desencadeamento das crises convulsivas e da epileptogênese (BROWNE; HOLMES, 2011).

A descoberta do neurônio e das suas funções nos mecanismos de transmissão neuronal, nos séculos XVIII e XIX, foram essenciais para desmistificar a crença de que a epilepsia era uma doença divina e, assim, pudesse ser compreendida (MOREIRA, 2004). No

século XIX, através dos avanços nos conhecimentos de neurofisiologia, a epilepsia passou a ser aceita pela comunidade científica como uma enfermidade de origem cerebral (FERNANDES, 2013). John Hughlings Jackson (1835-1911), neurologista britânico e apelidado de “pai da epilepsia”, foi um dos primeiros cientistas a descrever os processos neurofisiológicos envolvidos na epileptogênese (SHORVON, 2014).

A partir do século XX, a epilepsia passou a ser encarada como uma doença que necessitava de tratamento e os cientistas estavam mais confiantes das causas biológicas da epilepsia. O início desse século é marcado por grandes descobertas e avanços nas pesquisas desenvolvidas em todas as áreas da neurologia, e pode-se citar como exemplo a descoberta de Santiago Ramón y Cajal (1852-1934) que, através dos seus estudos histológicos do sistema nervoso, demonstrou que os neurônios são células específicas e individuais que estabelecem comunicações entre si, opondo-se ao que foi sugerido por Camillo Golgi (1843-1926), o qual acreditava na existência de um retículo contínuo. As descobertas Cajal e Golgi fizeram com que eles partilhassem o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1906 (TYLER et al., 2003). Nessa mesma época novos meios de diagnósticos para doenças neurológicas foram introduzidos, tais como a mielografia, eletroencefalografia, eletromiografia e angiografia (PEREIRA; PITA, 2000; TYLER et al., 2003). Os avanços dessa época foram fundamentais para uma melhor compreensão das enfermidades subjacentes ao sistema nervoso e favoreceram estudos mais aprofundados para o entendimento dos mecanismos envolvidos na epileptogênese (TYLER et al., 2003).

Hordienamente, com os avanços biotecnológicos, os mecanismos envolvidos na epileptogênese estão, cada vez mais, evidentes, e sabe-se que a epilepsia consiste num grupo de síndromes heterogêneas, a qual pode apresentar diferentes características cognitivas, emocionais e comportamentais associadas as crises convulsivas. Com os estudos da genética foi possível identificar centenas de genes humanos que podem estar envolvidos na patogênese da epilepsia (OYRER et al., 2018). Essas novas descobertas acerca das diferentes causas da epilepsia possibilitaram uma nova classificação para as crises convulsivas (FISHER et al., 2017) e o desenvolvimento de novos fármacos antiepilépticos com maior eficácia e segurança (ELGER; SCHMIDT, 2008; LIU et al., 2013).

Apesar dos avanços científicos possibilitarem uma maior compreensão sobre a fisiopatologia e tratamento da epilepsia, e mesmo com a facilitação do acesso a informações, o aspecto místico em torno da origem sobrenatural da epilepsia ainda está presente em várias regiões do mundo (BASKIND; BIRBECK, 2005; RHODES et al., 2008). No Haiti, país onde a religião e prática do vodu predomina, a população desse país dá muita importância as

característica e costumes históricos dessa religião, principalmente no que se refere a possessão e ao transe, estando esses conceitos no centro das crenças nas causas sobrenaturais da epilepsia (CAVANNA; CAVANNA; CAVANNA, 2010). Na Arábia Saudita, os resultados obtidos com o estudo de Obdeid e colaboradores (2012) mostraram que, mesmo em pessoas com maior *status* de escolaridade e familiarizados com a epilepsia, é bastante prevalente a crença de que a possessão demoníaca por “Jinn” é a causa dessa doença. Em comunidade sul-asiáticas do Reino Unido é frequente pela população a crença de que a epilepsia é causada por uma maldição divina e em países asiáticos e africanos essa doença é tida como contagiosa, o que favorece a discriminação e não aceitação dos epiléticos na sociedade (BARTOLINI; BELL; SANDER, 2011). Em pesquisa desenvolvida por Ismail e colaboradores (2005), com pacientes epiléticos sul-asiáticos, os autores observaram que mais da metade dos entrevistados atribuem as causas da epilepsia ao destino e a vontade de Deus, acreditando ser uma forma de castigo ou punição pelos pecados cometidos em vidas passadas. Além disso, os entrevistados relataram que já sofreram discriminação por parte de pessoas que acreditavam que a epilepsia era contagiante.

3.1.2. Classificação e diagnóstico

Até o início do ano de 2017, as crises convulsivas eram classificadas, no âmbito internacional, em dois tipos: 1) crises parciais, que tem início em uma determinada parte do cérebro e se restringe apenas a um grupo de neurônios, e 2) crises generalizadas, que envolvem descargas elétricas excessivas atingindo os dois hemisférios cerebrais, podendo ser caracterizadas, também, como agudas (não recorrentes) e crônicas (recorrentes), sendo esta última o que se denomina de epilepsia (JIRSA et al., 2014). Entretanto, recentemente a “International League Against Epilepsy” (ILAE) apresentou algumas mudanças e propôs uma nova classificação, a qual leva em consideração o início das crises convulsivas (início focal ou generalizado) e permite a classificação quando o início não é observado e inclui alguns tipos de convulsões que até então estavam sem classificação. Um outro objetivo da nova classificação é adotar nomes que sejam mais transparentes e compreensíveis (FISHER et al., 2017a).

A nova classificação da ILAE traz as seguintes alterações: a) O termo “focal” substitui as “crises parciais”, sendo o nível de consciência utilizado como classificador dos diferentes tipos de convulsões focais, as quais podem ser classificadas em crise focal perceptiva (quando a percepção da pessoa é mantida – antigamente denominada crise parcial simples) ou em crise focal disperceptiva (quando há comprometimento da percepção –

antigamente denominada crise parcial complexa); b) foram eliminados os termos discognitivos, simples parcial, complexo parcial, psíquico e secundariamente generalizado; c) as convulsões focais são classificadas em automatismos, detenção de comportamentos, hipercinética, autonômica, cognitiva e emocional; d) os espasmos atônicos, clônicos, epiléticos, mioclônicos e tônicos podem ter início focalizado ou generalizado; e) as convulsões focais tônico-clônicas bilateral substitui as crises secundárias generalizadas; f) a crises generalizadas são classificadas em crises motoras ou não motoras (ausência); g) as convulsões de início desconhecido podem ter características que podem ainda ser classificadas em tônico-clônica, espasmos epiléticos ou parada comportamental (FISHER et al., 2017a). A figura 1 apresenta a atual classificação operacional das crises epiléticas proposta pela ILAE.



¹Estas podem ser focais ou generalizadas, com ou sem alteração da perceptividade.

FONTE: adaptada de Fisher et al., 2017a.

Figura 1. Classificação operacional das crises epiléticas proposta pela *International League Against Epilepsy* (ILAE).

Para classificar o tipo de crise convulsiva ou epiléptica a princípio deve determinar se as manifestações iniciais das crises possuem aspectos focais ou generalizados. Existem casos em que o início não pode ser observado, sendo assim a crise classificada como de início desconhecido (FISHER et al, 2017a).

O diagnóstico da epilepsia pode ser realizado clinicamente, através da anamnese e exame físico com avaliação neurológica detalhada, e com bases nos exames laboratoriais complementares – exames de neuroimagem (tais como: tomografia e/ou ressonância magnética) ou elétricos (eletroencefalograma - EEG) (FISHER et al., 2017a, 2017b).

O EEG interictal é tido pelos neurologistas como o exame laboratorial de maior relevância para um diagnóstico de epilepsia mais preciso (COSTA; CORRÊA; PARTATA, 2012; ZUBERI; SYMONDS, 2015), uma vez que permite caracterizar o tipo e frequência das crises epiléticas (ILAE, 2016). Nas crises focais, os achados eletroencefalográficos revelam a presença descargas epileptiformes focais contralaterais, unilaterais ou bilaterais, as quais geralmente são assíncronas (ILAE, 2016). Referente às crises generalizadas, observa-se no EEG a presença de complexos espícula-onda generalizados. Para as crises de ausência atípica tem-se a presença de atividade de base comumente anormal e formação de complexos ponta-onda irregulares, geralmente mais lentos ou mais rápidos, bilaterais, mas assimétricos. Nas crises tônico-clônicas os traços eletroencefalográficos demonstram complexos poliponta-onda ou ponta-onda (ILAE, 2016). Por outro lado, nas epilepsias com crises focais e generalizadas combinadas, o EEG interictal revela a presença de espícula-onda generalizada associada com descargas epileptiformes focais. Nas epilepsias classificadas como desconhecidas, o EEG apresenta-se normal, embora clinicamente saiba-se que o paciente é epilético (FISHER et al., 2017b).

3.2. Epilepsia do Lobo Temporal

Dentre os diferentes tipos de epilepsias, a epilepsia do lobo temporal (ELT) é a que apresenta uma maior incidência em adultos e tem sido referida como a forma mais comum de epilepsia focal, sendo frequentemente considerada o tipo de epilepsia de maior relevância clínica devido a sua gravidade e pelo alto percentual de pacientes resistentes a farmacoterapia (CHANG; XU, 2017; ENGEL et al., 2012; WHITE; LÖSCHER, 2014). Esta nomenclatura deve-se ao fato dessas crises terem origem em estruturas do lobo temporal. A formação hipocampal é a principal estrutura afetada durante as crises (ANDERSEN et al., 2006; WALKER et al., 2006).

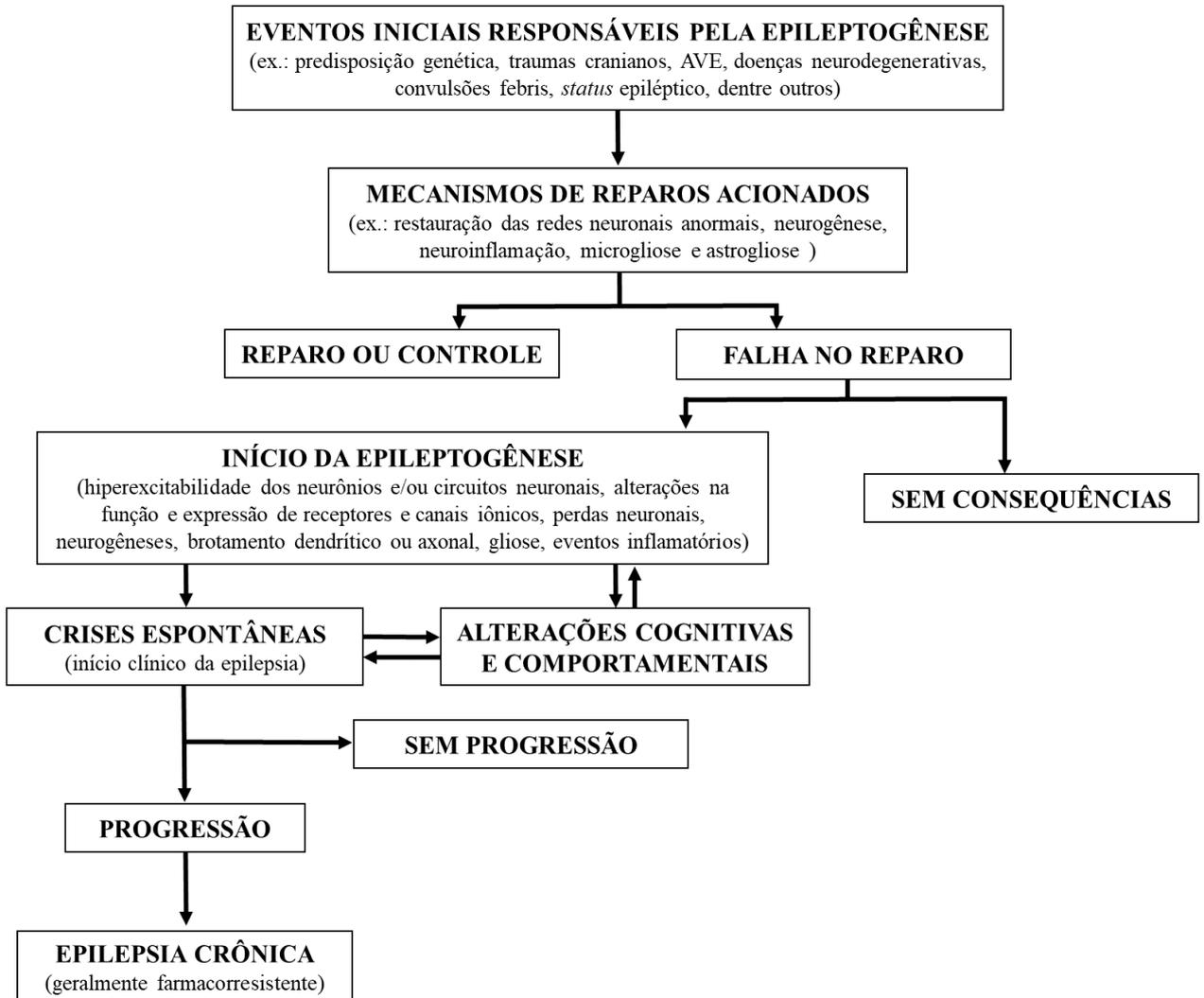
A ELT representa cerca de 40% de todos os casos de epilepsia na vida adulta, podendo se manifestar como crises parciais complexas que, por vezes, é dividida em epilepsia temporal neocortical e epilepsia do lobo temporal mesial (ELTM), sendo que esta última requer uma maior atenção devido a sua alta prevalência (representa cerca de 60% dos casos de ELT), refratariedade ao tratamento farmacológico e por estar associada a esclerose hipocampal (GUEDES et al., 2006; WIESER, 2004). Entretanto, por ser considerada refratária e devido ao vasto conhecimento sobre as regiões afetadas, a ELT é uma das epilepsias mais indicadas para tratamento cirúrgico (TÉLLEZ-ZENTENO; HERNÁNDEZ-RONQUILLO, 2012).

Para fins conceituais, a ELT pode ser definida como uma doença crônica de múltiplas causas (tais como: trauma, infecção e/ou isquemia); uma das suas principais características é a presença de crises epiléticas recorrentes que, na maioria dos casos, estão associadas à esclerose hipocampal (DE LORENZO et al., 2001; THOM et al., 2009). Outra característica comum nesse tipo de epilepsia é a lesão hipocampal decorrente da morte neurônios e interneurônios que inervam essa área cerebral. Como consequência dessa lesão, o organismo inicia um processo de epileptogênese e aciona mecanismos de reparo e compensação, tais como: restauração das redes neuronais anormais, neurogênese, neuroinflamação, microgliose e astrogliose (CURIA et al., 2014; ENGEL et al., 2011). Na ELT o processo de neurogênese produz células imaturas e aberrantes que podem contribuir negativamente nas alterações morfofuncionais da rede neuronal dos pacientes com esse tipo de epilepsia. Além disso, observa-se uma diminuição na densidade de espinhos dendríticos (KURZ et al., 2008; YUSTE, 2011). Estudos demonstram que as análises histopatológicas feitas em tecidos cerebrais de pacientes com ELT revelam a presença da esclerose hipocampal, com alterações nos componentes da matriz extracelular do hipocampo associadas a gliose e atrofia desse órgão (PEROSA et al., 2002; PITKÄNEN; LUKASIUK, 2009).

Em pacientes portadores de ELT é frequente a presença de alterações cognitivas e comportamentais decorrentes do comprometimento nas funções do sistema límbico sensorial, como irritabilidade, agressividade, humor alterado, preocupação excessiva com detalhes, memória prejudicada e depressão (BEAR, 1979; BEAR; FEDIO, 1977; WAXMAN; GESCHWIND, 1974), sendo esta última a comorbidade mais comum em pacientes com epilepsia (HARDEN, 2002; KANNER; BALABANOV, 2002).

Löscher (2012) afirma que as alterações morfofuncionais decorrentes da ELT geram mudanças cognitivas e comportamentais, as quais reforçam a progressão da

epileptogênese e são responsáveis, em parte, pelo estabelecimento de um quadro clínico crônico e pela farmacorresistência presente nesse tipo de crise (figura 2).



FONTE: adaptado de Löscher, 2012.

Figura 2. Fases do desenvolvimento e progressão da epilepsia do lobo temporal.

3.3. Ictogênese e epileptogênese

Em condições normais existem mecanismos, no nosso organismo, que facilitam o disparo e propagação de estímulos neuronais normais e mecanismos responsáveis pela proteção dos neurônios frente as descargas elétricas excessivas na membrana neuronal (SCHARFMAN, 2007). Quando esses dois mecanismos compensatórios, responsáveis por manter a homeostase entre estímulos excitatórios e inibitórios no cérebro sofrem um desequilíbrio, podem surgir episódios de hiperexcitabilidade cerebral que levam o indivíduo

a sofrer crises convulsivas; a esse processo dar-se o nome de ictogênese (SILVA; CABRAL, 2008).

Os mecanismos responsáveis pela ictogênese podem ter origem em diferentes níveis do sistema nervoso. Silva & Cabral (2008) afirmam que primeiramente tem-se o envolvimento dos íons e membrana celular, depois das células e circuitos locais e, por fim, a participação das grandes redes neuronais. Isto corrobora com o proposto por Mittal e colaboradores (2011), os quais sugerem que existem três principais mecanismos pelos quais as crises convulsivas podem desenvolver-se: 1) pela redução do ácido gama aminobutírico (GABA), decorrente da diminuição do mecanismo inibitório; 2) aumento da atividade das vias excitatórias, principalmente as mediadas pelo receptor de glutamato NMDA (N-metil D-Aspartato), e 3) pelo reforço da condutância neural endógena, aumentando as correntes voltagens-dependentes.

Por outro lado, epileptogênese é o termo utilizado para se referir aos fatores predisponentes ou responsáveis pelos processos que ligam a lesão cerebral ao surgimento subsequente da epilepsia (GOLDBERG; COUTLER, 2013). O termo período de latência é por vezes utilizado como sinônimo de epileptogênese, ambos são termos operacionais para designar o processo dinâmico que altera progressivamente a excitabilidade neuronal estabelecendo interconexões críticas e possíveis mudanças estruturais antes da primeira convulsão espontânea (ENGEL; PEDLEY, 2005).

Dentre os fatores etiológicos que podem acometer o cérebro e causar epilepsia temos: lesão traumática no cérebro, tumores, acidente vascular encefálico (AVE – isquêmico ou hemorrágico), infecções, paralisia cerebral, hipóxia durante o parto, doenças neurodegenerativas, convulsões sintomáticas de longa duração (tais como: convulsões febris complexas e *status* epiléptico) e a predisposição genética (ILAE, 2015; LÖSCHER; BRANDT, 2010; MANI, POLLARD; DICHTER, 2011).

O quadro abaixo apresenta um resumo atual das possíveis causas etiológicas da epilepsia estabelecidas pela ILAE no ano de 2015:

Quadro 1 – Classificação etiológica da epilepsia proposta pela *International League Against Epilepsy* (ILAE, 2015).

| CLASSIFICAÇÃO | CAUSAS ETIOLÓGICAS |
|---------------------|---|
| Genética | <ul style="list-style-type: none"> • Quando há dedução ou comprovação de uma causa genética. • A maioria das epilepsias antes consideradas idiopáticas. • Secundárias a uma lesão cerebral estrutural identificável. |
| Estrutural | <ul style="list-style-type: none"> • Lesão(ões) congênita(s) (ex.: lisencefalia), adquirida(s) (ex.: devido acidente vascular cerebral, trauma e infecção) ou progressiva(s) (ex.: neoplasia). • Algumas epilepsias estruturais geneticamente determinadas (ex.: esclerose tuberosa). |
| Metabólica | <ul style="list-style-type: none"> • Secundárias a existência de uma doença metabólica (genética ou adquirida) que resulta em crises epilépticas. |
| Imune | <ul style="list-style-type: none"> • Secundárias a um processo patológico mediado pelo sistema imunológico, com evidência de inflamação no sistema nervoso central (ex.: encefalite autoimune). |
| Infecçiosa | <ul style="list-style-type: none"> • Secundárias a uma infecção, tais como: malária cerebral, neurocisticercose, toxoplasmose cerebral ou encefalite viral. |
| Desconhecida | <ul style="list-style-type: none"> • Quando não há uma causa identificável ou que não pode ser deduzida. |

FONTE: adaptado de Zuberi & Symonds, 2015 *apud* ILAE, 2015.

Ao acometer o indivíduo os diferentes eventos etiológicos podem promover mudanças estruturais no sistema nervoso e desencadear alguns processos fisiopatológicos, como a neurodegeneração, neurogênese (podendo ocorrer formação de células aberrantes), glioses, danos aos brotamentos ou axônios, comprometimento da barreira hematoencefálica, infiltração e recrutamento de células inflamatórias no tecido cerebral, reorganização da matriz extracelular e da arquitetura molecular de células neuronais individuais (LUKASIUK; PITKÄNEN, 2011).

3.3.1. Papel do sistema colinérgico

Estudos já realizados, objetivando investigar os mecanismos envolvidos na epileptogênese, têm reportado a participação da neurotransmissão colinérgica central como umas das vias responsáveis pelo desencadeamento da epilepsia (FRIEDMAN; BEHRENS; HEINEMANN, 2007; JOPE; MORRISSETT; SNEAD, 1986; KHAN et al., 2000; OLNEY; COLLINS; SLOVITER, 1986; PERSINGER; LEUNG; STEWART, 2001; SAVOLAINEN; HIRVONEN, 1992; TURSKI et al., 1983), principalmente das crises que afetam o lobo temporal (FRIEDMAN; BEHRENS; HEINEMANN, 2007).

A amina biogênica acetilcolina (ACh) e as enzimas responsáveis pela síntese e metabolização da mesma formam o sistema de neurotransmissão colinérgica (BRUNEAU; AKAABOUNE, 2006), o qual pode atuar na mediação química, durante as sinapses, em diferentes locais do organismo. Essa atuação pode ser dar pela interação da ACh com

receptores nicotínicos – canais iônicos que permitem a passagem de sódio – ou com receptores muscarínicos – acoplados a proteína G.

A neurotransmissão colinérgica é um dos principais sistemas responsáveis pelos estímulos excitatórios no sistema nervoso central (OLNEY et al., 1986). Os receptores colinérgicos muscarínicos são responsáveis por cerca de 99% das interações ACh-receptor (EGLIN, 2006; ELGOYHEN et al., 2000); esses receptores são subdivididos em cinco tipos: M1, M3 e M5 (acoplados a proteína G_q), quando ativos promovem a propagação de estímulos excitatórios através da ativação da fosfolipase C; M2 e M4 (acoplados a proteína $G_{i/o}$), quando ativos promovem a propagação de estímulos inibitórios promovendo a inibição da adenilil ciclase e consequente redução do AMPc (adenosina 3',5'-monofosfato cíclico) intracelular (ONNER et al., 1987; GOODMAN; GILMAN, 2012; HULME et al., 1990; KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014; LIAO et al., 1989; WESS et al., 1990).

Os receptores M1 são conhecidos também como neurais, uma vez que são encontrados em maior abundância em neurônios presentes no sistema nervoso central, principalmente nos dendritos espinhosos (FRIEDMAN; BEHRENS; HEINEMANN, 2007). A interação da ACh nesse tipo de receptor promove uma redução na condutância de potássio e, assim, medeia os estímulos excitatórios (GOODMAN; GILMAN, 2012; KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014).

Experimentos pré-clínicos com modelos de convulsões em roedores têm favorecido a compreensão das propriedades epileptogênicas da ACh e dos agentes exógenos que mimetizam a ação dessa substância no organismo. Os modelos que fazem o uso da pilocarpina – agonista colinérgico muscarínico que ativa receptores do tipo M1 – demonstram que essa substância dispara uma cascata de eventos intracelulares excitatórios que ativam a fosfolipase $C\beta$ promovendo, consequentemente, lesões cerebrais e mudanças cognitivas e comportamentais (ABDUL-RIDHA et al., 2014; KRUSE et al., 2014; SAVOLAINEN; HIRVONEN, 1992; TURSKI et al., 1989).

Hamilton e colaboradores (1997) demonstraram que os ratos nocauteados para o receptor M1 são resistentes a convulsões induzidas por agonistas colinérgicos (ex.: pilocarpina) que atuam nesse tipo de receptor. Entretanto, Persinger e colaboradores (1993) e Marinho e colaboradores (1998), afirmam que a ativação dos receptores colinérgicos muscarínicos pela pilocarpina não é o único mecanismo responsável pelo desenvolvimento da epilepsia. Os autores sugerem que após a ativação do sistema colinérgico ocorrem eventos subsequentes que interagem, de forma direta ou indireta, com outros sistemas de neurotransmissão, são eles: os sistemas GABAérgico, glutamatérgico e monoaminérgico

(dopaminérgico, noradrenérgico e serotoninérgico). Como consequência da administração da pilocarpina observa-se também a alteração na atividade enzimática de sistemas antioxidantes, o que promove um processo de oxidação com consequente neurodegeneração (FREITAS, 2011).

3.3.2. *Papel do sistema gabaérgico*

Os sistemas de neurotransmissão envolvidos na inibição neuronal têm sido foco de pesquisas que objetivam elucidar os mecanismos envolvidos na ictogênese e epileptogênese (BRIGGS; GALANOPOULOU, 2011). O ácido γ -amino-butírico (GABA) é o principal mediador dessa neurotransmissão inibitória (BRIGGS; GALANOPOULOU, 2011; GHADIRI et al., 2016; MANAYI et al., 2016; SGADÒ et al., 2011), atuando em cerca de 1/3 de todas as sinapses inibitórias que ocorrem no sistema nervoso central (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014).

O GABA é formado a partir da descarboxilação do glutamato; pela atuação da enzima ácido glutâmico descarboxilase, armazenado em vesículas sinápticas dos neurônios cerebrais do tipo GABAérgico e liberado para o meio extracelular de maneira dependente de cálcio (Ca^{+2}), para que assim possa ser realizado o processo de neurotransmissão, através da sua ligação com os receptores gabaérgicos – GABA_A , GABA_B e GABA_C (BRIGGS; GALANOPOULOU, 2011; GOODMAN; GILMAN, 2012; KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014).

Os receptores do tipo GABA_A são canais iônicos pentaméricos compostos por duas subunidades α e duas β , enquanto que a quinta subunidade é formada por γ ou δ . Em alguns receptores GABA_A podem estar presentes as subunidades ϵ , θ ou π , porém com menos frequência (FARRANT; KAILA, 2007; GALANOPOULOU, 2008; OLSEN; LI, 2010). Já foram identificadas em mamíferos 16 subunidades do receptor GABA_A , destas; 3 subunidades são do tipo α ($\alpha_1 - \alpha_6$), 3 β ($\beta_1 - \beta_3$), 3 γ ($\gamma_1 - \gamma_3$), 1 δ , 1 ϵ , 1 θ e 1 π ; essas diferentes subunidades contribuem para as diferentes propriedades farmacocinéticas, localização celular e afinidade de cada ligante pelo receptor GABA_A . O que diferencia os receptores GABA_A dos receptores GABA_C é presença de uma subunidade ρ nesse tipo de receptor (BRIGGS; GALANOPOULOU, 2011).

Ao interagir com o GABA, os receptores GABA_A e GABA_C promovem um aumento no influxo de cloreto e bicarbonato para o citosol; como consequência dessa interação tem-se a hiperpolarização da membrana celular, sendo esse mecanismo de inibição neuronal eficaz em antagonizar as crises convulsivas/epilépticas (BRIGGS;

GALANOPOULOU, 2011; GOODMAN; GILMAN, 2012; KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014; SGADÒ et al., 2011). Esse efeito inibitório promovido pelo GABA pode ser potencializado pela ligação dos benzodiazepínicos, barbitúricos e álcool, nos sítios alostéricos presentes nos receptores GABA_A. Algumas dessas substâncias (ex: benzodiazepínicos e barbitúricos) podem ser úteis no tratamento de alguns tipos de crises convulsivas (FARRANT; KAILA, 2007; GALANOPOULOU, 2008; OLSEN; LI, 2010).

Quanto aos receptores do tipo GABA_B, esses são receptores metabotrópicos que promovem seus mecanismos de ação através da sinalização via proteína G. A interação do GABA com esse tipo de receptor regula a produção de AMPc (GOODMAN; GILMAN, 2012; KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014), modifica a condutância de potássio e cálcio na membrana celular (PADGETT; SLESINGER, 2010), e controlam as transcrições gênicas presentes no SNC (NEHRING et al., 2010; WHITE et al., 2010).

Estudos clínicos e experimentais têm evidenciado que alterações nos mecanismos de neurotransmissão gabaérgica, principalmente na sinalização via GABA_A, estão relacionadas a processos de ictogênese e epileptogênese (DANOBER et al., 1998; FREI et al., 2010; KLAASSEN et al., 2006; MANN; MODY, 2008; MARGINEANU, 2010). Os mecanismos de sinalização GABA_A são fundamentais para o desenvolvimento do cérebro e sinaptogênese precoce, um comprometimento nesse sistema no início da vida pode causar malformações que predispõe o indivíduo a convulsões (BRIGGS; GALANOPOULOU, 2011).

A perda da inibição gabaérgica pode resultar em crises epiléticas e está associada à ELT. Em paciente com ELT observa-se alterações na neurotransmissão gabaérgica, pré e pós-sináptica, de células granulares do giro denteado. Em neurônios extraídos de animais submetidos à epilepsia induzida por pilocarpina (modelo que induz crises do tipo ELT) têm sido observados efeitos do tipo *up-regulations* em neurônios GABAérgicos e da enzima ácido glutâmico descarboxilase (ANDRÉ et al., 2001; BROOKS-KAYAL et al., 1998). Além disso, mutações no sistema gabaérgico são reportadas na literatura por causar epilepsia em idades precoces (BRIGGS; GALANOPOULOU, 2011). As mutações que comprometem as funções das subunidades no receptor GABA_A geram consequências eletrofisiológicas que estão diretamente relacionadas a epileptogênese (CHIU et al, 2008). O quadro 2 traz exemplos de mutações gabaérgicas que estão relacionadas ao desenvolvimento de epilepsia em animais e/ou humanos.

Quadro 2 – Mutações no sistema gabaérgico relacionadas a ictogênese e epileptogênese.

| Mutação | Espécie | Tipo de epilepsia | Início da epileptogênese | Referência |
|--------------|-----------------------|---|--------------------------|---|
| GABRA1 | Humano | Epilepsia mioclônica juvenil, Epilepsia de ausência na infância | Infância, Juvenil | Cossette et al., 2002 Ding et al., 2010 |
| GABRA6 | Humano | Epilepsia de ausência na infância | Infância | Dibbens et al., 2009 |
| GABRB3 | Humano | Epilepsia de ausência na infância | Infância | Feucht et al., 1999 Tanaka et al., 2008 Urak et al., 2006 |
| GABRD | Humano | Epilepsia mioclônica juvenil | Juvenil | Dibbens et al., 2004 |
| GABRE | Humano | Crises febris, Epilepsia generalizada idiopática, Epilepsia autossômica dominante com convulsões febris, Epilepsia de ausência na infância | Infantil, infância | Dibbens et al., 2009 |
| GABRG2 | Humano e camundongos | Epilepsia de ausência na infância com convulsões febris, Epilepsia autossômica dominante com convulsões febris, Epilepsia mioclônica grave da infância, Crises febris | Infantil, infância | Audenaert et al., 2006 Bauluc et al., 2001 Harkin et al., 2002 Hirose, 2006 Kang; Shen; Macdonald, 2009 Sun et al., 2008 |
| GABRP | Humano | Epilepsia generalizada idiopática, Epilepsia autossômica dominante com convulsões febris, Crises febris | ? | Dibbens et al., 2009 |
| GAD65 | Camundongo nocauteado | Indução de estresse, Convulsões límbicas | 12 semanas | Kash et al., 1997 Asada et al., 1996 |
| Mutações ARX | Humano e camundongos | Encefalopatias epilépticas precoce (espasmos infantis) | Neonatal, Infantil | Kato et al., 2004 Kato et al., 2010 Kato, 2006 Marsh et al., 2009 Price et al., 2009 |

FONTE: adaptada de Briggs & Galanopoulou, 2011.

3.3.3. Papel do sistema glutamatérgico

O sistema glutamatérgico é o principal sistema envolvido nos mecanismos de neurotransmissão excitatória do sistema nervoso central (BARKER-HALISKI; WHITE, 2015). A sua nomenclatura deve-se ao fato de que o aminoácido L-glutamato (glutamato) é o neurotransmissor mediador dos sinais excitatórios promovidos por esse sistema.

A ativação dos canais iônicos AMPA, NMDA e cainato promovem alteração na condutância de íons na membrana celular pelo aumento no influxo de sódio e/ou cálcio. Quanto aos receptores metabotrópico (mGlu I, II e III), a ativação pelo glutamato promove

uma elevação nos níveis intracelulares de 1,4,5-Trifosfato de Inositol (IP₃) com consequente liberação de Ca²⁺ a partir do retículo endoplasmático. O aumento de Ca²⁺ no citossol promove a abertura de canais de membrana dependentes de voltagem e aumentam a atividade do contra-transportador Na⁺/Ca²⁺, como resultado desse processo tem-se uma despolarização da membrana sináptica que desencadeia uma resposta excitatória (DA-CRUZ, 2012).

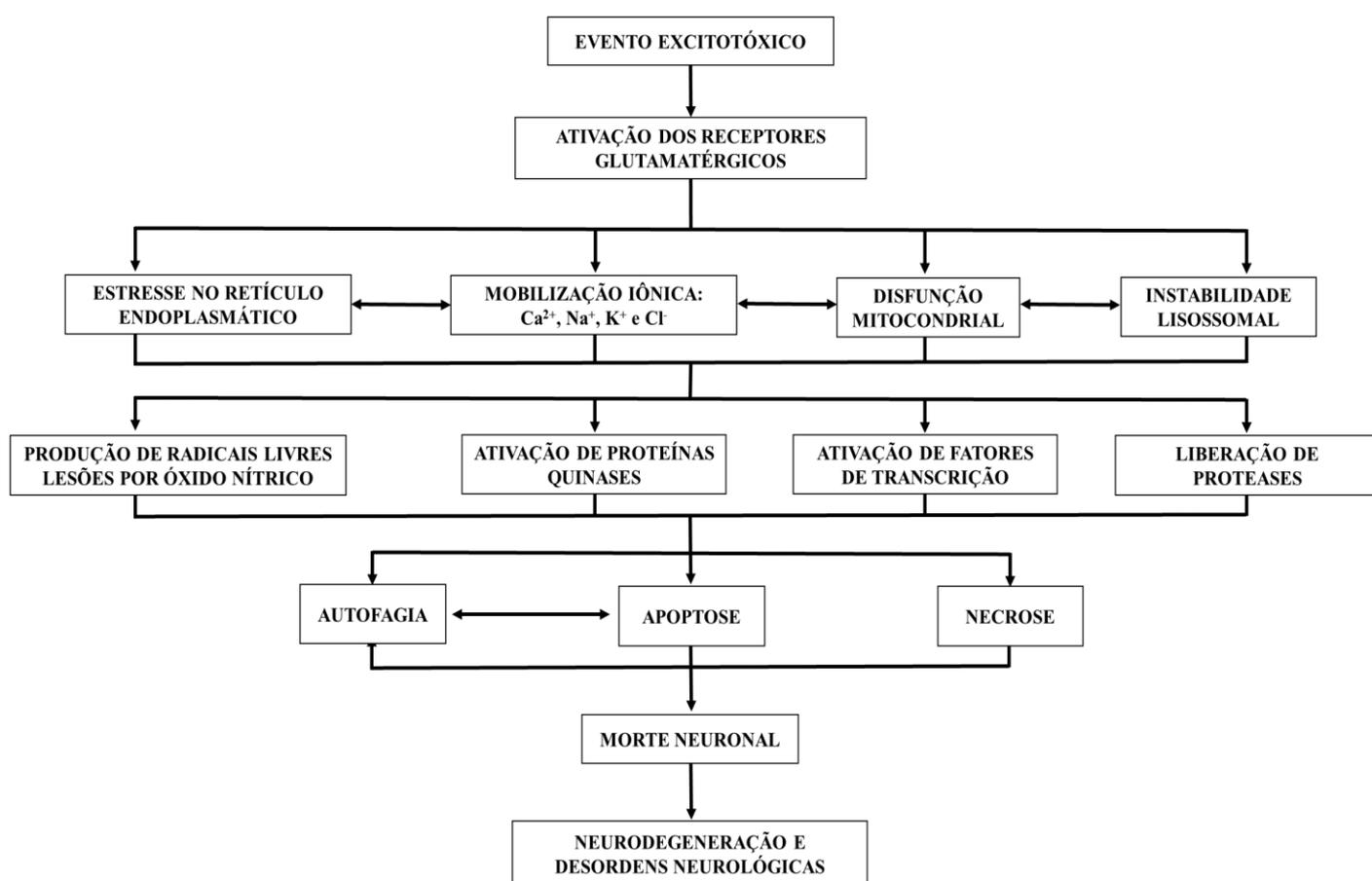
A neurotransmissão glutamatérgica está envolvida nos mecanismos responsáveis pela cognição, memória e aprendizagem (BLISS; COLLINGRIDGE, 1993; CARACI; FILIPPO; NICOLETTI, 2018; DAVIS; RAINNIE; CASSELL, 1992; NG et al., 1991; THOMAS et al., 2017), e desempenham um papel fundamental no desenvolvimento e maturação do sistema nervoso, como indução sináptica, migração, diferenciação e morte celular (BARKER-HALISKI; WHITE, 2015).

Por outro lado, alterações na atividade do sistema glutamatérgico pode levar a escitotoxicidade glutamatérgica provocando efeitos deletérios ao cérebro, os quais podem contribuir para o desenvolvimento da ictogênese e epileptogênese (BARKER-HALISKI; WHITE, 2015, SCIMEMI et al., 2006; ZUBAREVA et al., 2018) e estão associados aos danos cerebrais característicos das doenças neurodegenerativas, como Alzheimer e Parkinson (BUTTERFIELD; POCERNICH, 2003; KIM et al., 2016; LEWERENZ; MAHER, 2015).

Em sua maioria, os estudos que investigaram as alterações na expressão dos transportadores de glutamato na composição das subunidades dos receptores AMPA e NMDA foram realizados no hipocampo (ZUBAREVA et al., 2018). As alterações na transmissão glutamatérgica hipocampal podem promover escitotoxicidade, geração de convulsões e desencadear o processo epileptogênico (AUZMENDI; GONZALEZ; GIRARDI, 2009; DI MAIO et al., 2012; LOPES et al., 2013). A atividade excessiva dos receptores do tipo cainato tem sido associada à ativação de vias de apoptose e necrose tecidual, o que pode induzir autofagia e causar neurotoxicidade (KONG et al., 2012; WANG; QIN, 2010). Além disso, Lallement e colaboradores (1991) demonstraram que o *status* epiléptico (SE) induzido por doses subletais de agentes convulsivos (ex.: pilocarpina) está associado ao acúmulo excessivo de acetilcolina e a um recrutamento secundário da sinalização excitatória glutamatérgica. Essa liberação de glutamato induzida pelo SE promove uma maior estimulação dos receptores de glutamato (principalmente do tipo NMDA), desencadeiam crises epilépticas sustentadas e recorrentes, e causam lesões cerebrais (DORANDEU et al. 2013; MCDONOUGH; SHIH 1997). Esse processo promove uma recorrência do SE, como consequência desse efeito os receptores gabaérgicos são internalizados e os receptores glutamatérgicos do tipo NMDA migram para as sinapses neuronais (NAYLOR et al. 2013; WASTERLAIN; CHEN, 2008;

WASTERLAIN et al. 2013), o que leva à uma redução na inibição neuronal e um aumento nos estímulos excitatórios do sistema nervoso central (BARKER-HALISKI; WHITE, 2015).

Wang & Qin (2010) afirmam que a ativação dos receptores glutamatérgicos provocam disfunção mitocondrial, aumento da produção de óxido nítrico e de espécies reativas de oxigênio, instabilidade lipossomal e no retículo endoplasmático, ativação das proteases e proteínas quinases e alteração nos fatores de transcrição gênicas, resultando em apoptose, necrose e morte neuronal, excitotoxicidade, alterações nos circuitos neuronais e influenciam no processo de epileptogênese (figura 3).



FONTE: adaptado de Wang & Qin, 2010.

Figura 3. Mecanismos de excitotoxicidade glutamatérgica envolvidos na neurodegeneração e desordens neurológicas.

3.3.4. Papel do sistema monoaminérgico

A primeiras indagações sobre a participação das monoaminas na epileptogênese foram realizadas por Kobayashi & Mori (1977), onde na época esses cientistas

questionaram-se: “*Existe um metabolismo anormal de monoaminas no cérebro de pacientes epiléticos? Se sim, como se relaciona com o desencadeamento ou manutenção de crises epiléticas?*”. Apesar desses questionamentos e da intensa exploração, em pesquisas pré-clínicas e clínicas, da influência monoaminérgica no desenvolvimento e controle da epilepsia; ainda não existem novos fármacos antiepiléticos disponíveis no mercado farmacêutico que atuem nesse sistema de neurotransmissão (STRAC et al., 2016).

Dentre as substâncias que fazem parte do sistema de neurotransmissão monoaminérgica, a noradrenalina, a serotonina e a dopamina têm sido as principais monoaminas estudadas quanto as suas ações no processo de epileptogênese, principalmente em humanos e/ou modelos animais de epilepsia do lobo temporal (FREITAS, 2011); já que nesse tipo de epilepsia observa-se as alterações em diferentes sistemas de neurotransmissão (AL-TAJIR et al., 1990; ASSEM-HILGER et al., 2010; BARONE et al., 1991; BERNEDO PAREDES et al., 2015; CHE et al., 2010; CIFELLI; GRACE, 2012; COSTA-LOTUFO et al., 2002; ERAKOVIC et al., 2000; FRITSCHY et al., 1999; ROCHA et al., 2012; STEFULJ et al., 2010; STRAC et al., 2016).

Estudos clínicos realizados com pacientes que apresentam desordens neurológicas classicamente relacionados a disfunções monoaminérgica e/ou epilepsia têm demonstrado que há um envolvimento desse sistema de neurotransmissão na patogênese da epilepsia e vice-versa. A literatura tem reportado que os pacientes com depressão, transtornos de ansiedade e/ou distúrbios bipolares têm um maior risco de desenvolver crises convulsivas/epiléticas; e que pacientes epiléticos apresentam disfunções cognitivas e comportamentais que podem causar transtornos de humor (STRAC et al., 2016).

Rocha e colaboradores (2014) afirmam que pacientes epiléticos com maior tempo de epilepsia ativa apresentam maior comorbidade de transtornos depressivos, bipolares e de ansiedade. Garcia (2012) observou que em pacientes deprimidos há uma maior taxa de epilepsia em relação à população geral. Acredita-se que essa relação entre epilepsia e transtornos de humor pode ser devida ao fato de que os mesmos sistemas de neurotransmissão podem estar envolvidos na patogênese desses diferentes distúrbios ou ser decorrente da alteração na transdução do sinal mediado pelas monoaminas, hiperatividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e/ou pelo processo de neuroinflamação do sistema nervoso central provocada por essas enfermidades (ROCHA et al., 2014).

3.3.4.1. *Papel da neurotransmissão noradrenérgica*

Chen e colaboradores (1954) foram os primeiros pesquisadores a relatar que a neurotransmissão noradrenérgica pode atuar como anticonvulsivante. Entretanto, fez-se necessário mais estudos para confirmar a participação desse sistema como modificador da atividade convulsiva e epiléptica (STRAC et al., 2016).

Na literatura observa-se que existe uma divergência entre as evidências científicas sobre papel da noradrenalina na epilepsia. Enquanto estudos demonstram que essa substância apresenta atividade anticonvulsiva, muito desses estudos envolvendo modelos animais de epilepsia, como por exemplo: camundongos nocauteados para receptores α_2 e para a enzima dopamina β -hidroxilase (que não produzem noradrenalina) são mais susceptíveis a sofrer crises convulsivas, o que demonstra o papel sistema noradrenérgico como anticonvulsivante (SZOT et al., 1999, 2004; WEINSHENKER et al., 2001); camundongos nocauteados para o transportador de noradrenalina, o quais apresentam níveis elevados de noradrenalina com consequente efeito anticonvulsivante (AHERN et al., 2006; KAMINSKI et al., 2005); a ação anticonvulsivante, e não pró-convulsivante, de antidepressivos que aumentam os níveis de noradrenalina (JOBE; BROWNING, 2005). Por outro lado, têm-se estudos que afirmam que, por ser o “homônio do estresse” e mediar a resposta de “luta ou fuga” através da ativação do sistema nervoso simpático, a noradrenalina está associada à estímulos excitatórios, desempenhando um papel importante como ativador no cérebro, podendo, sob certas circunstâncias, promover uma ativação neuronal excessiva que desencadeia um processo convulsivo e/ou epiléptico (FITZGERALD et al., 2010).

Ainda permanece incerto os mecanismos de ação pelos quais a noradrenalina atua como agente pró-convulsivante ou anticonvulsivante (FITZGERALD et al., 2010). Na revisão realizada por Strac e colaboradores (2016), os autores afirmam que a literatura reporta três hipóteses que procuram explicar os possíveis mecanismos responsáveis pelos efeitos pró-convulsivantes dessa substância:

- 1) A primeira hipótese afirma que por atuar nos adrenoceptores (α_1 e α_2), que são receptores acoplados à proteína G, a noradrenalina produz mudanças nos processos intracelulares através do sistema de segundos mensageiros, as quais resultam em um aumento no potencial da membrana celular que, conseqüentemente, provoca um aumento na excitabilidade geral dos neurônios. Entretanto, essa hipótese não necessariamente prevê que todos os neurônios envolvidos nos circuitos noradrenérgicos serão excitados pela noradrenalina, tendo em vista que nesse sistema

tem-se a presença de interneurônios inibitórios que atuam diminuindo o potencial de membrana.

- 2) A segunda hipótese propõe que o efeito pró-convulsivante da noradrenalina não decorre da sua atuação direta no potencial de membrana, mas sim pela ativação dos segundos mensageiros que facilitam o limiar convulsivo originado nos neurônios.
- 3) A terceira hipótese dercarta a primeira e a segunda, propondo que o efeito pró-convulsivante da noradrenalina não está relacionado com sua ação direta no potencial de membrana ou nos processos que ativam os segundos mensageiros dos adenoceptores. Essa hipótese afirma que a noradrenalina atua em circuitos neuronais não-adrenérgicos facilitando a excitabilidade neuronal e, assim, facilita os processos convulsivos.

Para Strac e colaboradores (2016) uma das explicações que podem unificar as hipóteses anticonvulsivantes e pró-convulsivantes da noradrenalina é a relação dose-efeito, ou seja, a depender da dose o efeito observado pela ação da noradrenalina pode ser anticonvulsivante ou pró-convulsivante. O que corrobora com Dailey & Naritoku (1996), os quais observaram que os antidepressivos tricíclicos estimulantes, fármacos que atuam diminuindo a recaptação de noradrenalina, podem ser anticonvulsivantes em doses baixas e pró-convulsivantes em doses elevadas (efeito bifásico).

3.3.4.2. Papel da neurotransmissão dopaminérgica

A participação do sistema dopaminérgico nos mecanismos de ictogênese e epileptogênese vem sendo investigada desde a década de 60 (STRAC et al. 2016). Muitas evidências demonstram que esse sistema desempenha um papel crítico no controle das atividades neuronais durante as crises convulsivas (REZAEI et al., 2017), podendo atuar tanto como pró-convulsivante, diminuindo o limiar convulsivo, ou como anticonvulsivante, impedindo o desencadeamento das convulsões (BARONE et al., 1991; BOZZI; BORRELLI; 2013; REZAEI et al., 2017; STRAC et al. 2016).

Estudos realizados em modelos animais de epilepsia mostraram que a dopamina exerce ações opostas na epileptogênese, sendo esse efeito decorrente dos diferentes mecanismos de sinalização pelos receptores dopaminérgicos do tipo D₁ e D₂ (BOZZI; BORRELLI; 2013). A interação da dopamina com receptores D₁ (acoplados a proteína G_s) promove um efeito pró-convulsivante, sendo esse efeito resultado da ativação da adenilil ciclase com consequente aumento nos níveis intracelulares de AMPc. Já a interação da dopamina com receptores D₂ (acoplados a proteína G_i) exercer um efeito anticonvulsivante,

uma vez que a proteína G_i atua inibindo a produção de AMPc (STRAC et al. 2016; BOZZI; BORRELLI; 2013). A ação oposta dos receptores dopaminérgicos tipo D1 e D2 na epilepsia pode ser resultante da interação glutamato-dopamina na epileptogênese límbica. Esta hipótese foi apoiada por estudos em modelos animais demonstrando que a ativação de receptores do tipo D1 podem ativar neurônios glutamatérgicos durante as crises convulsivas e promover um aumento nos estímulos excitatórios no sistema nervoso central (GANGAROSSA et al., 2011).

A presença de disfunções na neurotransmissão dopaminérgica tem sido reportada em estudos com pacientes epiléticos e em modelos animais (BOZZI; DUNLEAVY; HENSHALL, 2011; STARR, 1993; STARR, 1996).

Rezaei e colaboradores (2017) afirmam que o papel da dopamina na epilepsia envolve disfunções nos mecanismos que controlam os níveis de dopamina ou as alterações na expressão de receptores específicos. Um outro mecanismo que pode estar envolvido na participação da dopamina no processo de ictogênese e epileptogênese é a ação moduladora dos seus neurônios na plasticidade sináptica (HANSEN; MANAHAN-VAUGHAN, 2014). Alterações no circuito de transmissão dopaminérgica, que possam eventualmente ocasionar uma denervação, estão associadas a perda de diferentes tipos de plasticidade neuronal no sistema nervoso central (CALABRESI; CENTONZE; BERNARDI, 2000; CENTONZE et al., 1999; PAILLÉ et al., 2010).

Variações anormais na plasticidade sináptica podem alterar a atividade neuronal e levar a um comprometimento de funções cerebrais, como hiperexcitabilidade progressivas e comprometimento cognitivo, as quais têm sido observadas em modelos animais de convulsão e em pacientes epiléticos. No entanto, não está completamente claro como as classes de receptores dopaminérgicos D1 e D2 modulam as diferentes formas de plasticidade sináptica. Nos últimos anos, estudos foram desenvolvidos objetivando elucidar o papel do sistema dopaminérgico e dos seus receptores na plasticidade sináptica, porém, foram reportados muitos resultados controversos (REZAEI et al., 2017).

3.3.4.3. Papel da neurotransmissão serotoninérgica

O envolvimento do sistema serotoninérgico no processo de ictogênese epileptogênese foi proposto no final de 1950 por Bonnycastle e colaboradores (GUIARD; GIOVANNI, 2015). Esse sistema tem como neurotransmissor a serotonina (5-HT), a qual atua no sistema de neurotransmissão inibitória em muitas áreas do sistema nervoso central, e é um importante modulador das funções fisiológicas no cérebro, como a regulação do sono, do humor e do apetite (BARNES; SHARP, 1999; JULIUS, 1991).

Os diferentes efeitos da serotonina são mediados por classes de receptores serotoninérgico. Já foram identificadas 7 classes e 15 subtipos de receptores serotoninérgicos, são eles: 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1C}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT_{5A}, 5-HT_{5B}, 5-HT₆ e 5-HT₇ (BARNES; SHARP, 1999). Esses receptores estão distribuídos pelo sistema nervoso central e possuem diferentes mecanismos de ativação. Por exemplo, os subtipos 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1C} e 5-HT_{1D} atuam mediante ativação da proteína G_i promovendo uma inibição da adenilil ciclase, enquanto que o subtipo 5-HT₄ atua ativando essa enzima. A transmissão dos sinais promovidos pelos subtipos 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} e 5-HT_{2C} envolvem a mobilização de Ca⁺² no sistema nervoso central pela ativação da proteína G_q. O subtipo 5-HT₃ trata-se de um receptor ionotrópico, o qual altera a condutância de Na⁺ e K⁺ através da membrana celular (GOODMAN; GILMAN, 2012; KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014).

As áreas cerebrais afetadas e envolvidas na ictogênese e epileptogênese recebem inervações serotoninérgicas e expressam diferentes receptores serotoninérgicos (GUIARD; GIOVANNI, 2015). Estudos farmacológicos e genéticos têm evidenciado que o receptor serotoninérgico 5-HT_{2A} desempenha um importante papel na etiologia de doenças do sistema nervoso central, como a depressão e alguns tipos de epilepsia (GUIARD; GIOVANNI, 2015; STRAC et al. 2016). Além disso, pesquisas realizadas tanto com pacientes epiléticos quanto em modelos animais de epilepsia têm demonstrado que a serotonina regula diferentes tipos de crises convulsivas focais e generalizadas (BAGDY et al., 2007; FAVALE et al., 2003; JAKUS; BAGDY, 2011; LORINCZ et al., 2007); e que substâncias que elevam os níveis extracelulares de serotonina, como os inibidores seletivos da reabsorção de serotonina, inibem as crises focais límbicas e as generalizadas (PRENDIVILLE; GALE, 1993; YAN et al., 1994).

Por outro lado, fatores que promovem a depleção de serotonina e que diminuem os níveis cerebrais dessa substância estão associados a redução do limiar de crises convulsivas (STATNICK et al., 1996). Isto corrobora com os achados de Tripathi e colaboradores (2008), os quais demonstraram que camundongos com níveis de serotonina geneticamente aumentados exibiram uma resistência nas convulsões induzidas por ácido cáinico, onde observou-se um aumento no limiar para as crises convulsivas. Estudos pré-clínicos realizados com camundongos nocauteados para receptores de serotonina – 5-HT_{1A} (PARSONS; KERR; TECOTT; 2001; SARNYAI et al., 2000), 5-HT_{2C} (APPLEGATE; TECOTT, 1998), 5-HT₄ (COMPAN et al., 2004) e 5-HT₇ (WITKIN et al., 2007) – foram mais susceptíveis a convulsões induzidas por estímulos elétricos e/ou por agentes químicos. Bagdy e

colaboradores (2007) afirmam que o efeito anticonvulsivante da serotonina ocorre mediante a ativação dos diferentes receptores envolvidos na neurotransmissão serotoninérgica, os quais suprimem a hiperexcitabilidade neuronal.

3.3.5. *Papel do estresse oxidativo*

A hiperexcitabilidade neuronal, que ocorre durante as convulsões, dispara uma cascata de eventos que causam danos celulares. Dentre esses eventos têm-se a ativação de receptores glutamatérgicos e citocinas pró-inflamatórias, alterações na composição dos receptores gabaérgicos e glutamatérgicos e modificações na plasticidade sináptica (CHUANG, 2010).

A lesão celular e a neurodegeneração resultantes das crises convulsivas são processos dinâmicos nos quais múltiplos fatores podem estar envolvidos, como fatores genéticos, excitotoxicidade com disfunção mitocondrial associada, processo inflamatório, níveis de citocinas alterados e estresse oxidativo (FERRIERO, 2005; LÖSCHER; 2012; WANG; QIN, 2010).

A literatura tem fonecido várias evidências da correlação entre o estresse oxidativo com processo de ictogênese e epileptogênese. Ainda não foi evidenciado se o estresse oxidativo é causa ou consequência da epilepsia (GERONZI; LOTTI; GROSSO, 2018). O estresse oxidativo é caracterizado pelo aumento nos níveis de agentes pró-oxidantes (espécies reativas de oxigênio e espécies reativas de nitrogênio) e/ou redução da atividade do sistema antioxidante (responsável pela eliminação de radicais livres). Entre as enzimas antioxidantes, as principais são a catalase e a superóxido dismutase, pois essas enzimas formam as primeiras linhas de defesa antioxidante enzimática do organismo (VELLOSA et al., 2013).

Estudos têm demonstrado que a excitação neuronal prolongada, presente durante as crises convulsivas, promove um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (GERONZI; LOTTI; GROSSO, 2018). A formação de espécies reativas de oxigênio ocorre quando elétrons desemparelhados fogem da cadeia transportadora de elétrons e reagem com o oxigênio molecular, o que resulta em geração de superóxido (O_2^-), radical hidroxil (OH^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (LINHARES, 2017). Como resultado desse processo oxidativo tem-se um desequilíbrio nos níveis de Ca^{+2} no citossol, o que torna os neurônios mais vulneráveis ao estresse com consequente perda neuronal (PUTTACHARY et al., 2015). O superóxido pode reagir também com o DNA, proteínas e lipídios e desempenha um papel importante na manutenção de condições fisiológicas e fisiopatológicas; baixos níveis de

espécies reativas de oxigênio é fundamental para o funcionamento normal das células; entretanto, níveis elevados e prolongados acarretam riscos aos tecidos e, no caso do cérebro, promove neurodegeneração, como observado na epilepsia (SHIN et al., 2011).

O aumento na produção de radicais livres pode prolongar as crises convulsivas e provocar disfunção mitocondrial hipocampal, como consequência desse processo tem-se morte de células neuronais e subsequente epileptogênese (ARMENTA et al., 2014). Além disso, devido às suas altas demandas metabólicas e por ser um órgão aerobicamente ativo, o cérebro é um dos órgãos mais suscetíveis aos danos promovidos pelo estresse oxidativo. Outro fator que está associado aos danos oxidativos e neurodegeneração é fato de que o cérebro é rico em ácidos graxos poli-insaturados que, por serem propensos à peroxidação lipídica, podem sofrer um processo de peroxidação e formar radicais hidroxilas (GERONZI; LOTTI; GROSSO, 2018). Por outro lado, os mecanismos de defesa antioxidante do cérebro são escassos e, associado o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio durante as crises, aumentam os riscos deste órgão sofrer degeneração (MARIANI et al., 2005).

3.4. Modelos animais de convulsões e epilepsia

Os ensaios pré-clínicos que fazem uso de modelos animais têm auxiliado a elucidar os mecanismos envolvidos na ictogênese e epileptogênese, e têm facilitado a descoberta de novos agentes que possam vir a ser úteis no tratamento de diferentes tipos de epilepsia e comorbidades associadas (GALANOPOULOU et al., 2012).

Apesar dos modelos animais não serem capazes de representar integralmente a epilepsia, eles são ricas ferramentas de pesquisa que objetivam reproduzir ou modelar características desta doença e dos fatores envolvidos na sua etiologia e progressão (GRONE; BARABAN, 2015). Muito do conhecimento que se tem atualmente da epilepsia foi adquirido com os estudos experimentais que fizeram uso de modelos animais de ictogênese e/ou epileptogênese, são exemplos desses conhecimentos a elucidação dos elementos moleculares e celulares envolvidos no processo epileptogênese e responsáveis pelos efeitos sistêmicos e comorbidades associadas, como o comprometimento cognitivo e/ou comportamental (AUVIN; DUPUIS, 2014; CURIA et al., 2008; MULA, 2012; PITKÄNEN; LUKASIUK, 2006; SCORZA et al., 2009; SIMONATO et al., 2012).

Para que um modelo experimental possa vir a ser classificado como modelo de ictogênese e/ou epileptogênese é importante que ele demonstre a presença de atividade epileptiforme, o qual é evidenciado nos registros eletroencefalográficos, e que consiga promover alterações clínicas semelhantes as observadas em pacientes epiléticos. Existem

diferentes modelos animais validados com a finalidade de descobrir novas drogas anticonvulsivantes e investigar os mecanismos envolvidos no desencadeamento das crises convulsivas e da epilepsia, dentre eles: animais geneticamente modificados, os quais tornam-se propensos ao aparecimento das crises epiléticas devido as alterações na formação e desenvolvimento do sistema nervoso; crises convulsivas e/ou epiléticas desencadeadas pelos estímulos elétricos ou químico, os quais podem avaliar os efeitos agudos e/ou crônicos da epilepsia (MELO et al., 1986). O quadro abaixo traz um copilado dos principais modelos animais de convulsões e epilepsias, o qual foi elaborado pela ILAE e pelo “American Epilepsy Society Basic Science Committee”.

Quadro 3 – Principais modelos animais de convulsões e epilepsias proposto pela “International League Against Epilepsy” e “American Epilepsy Society Basic Science Committee”.

| Modelo | Tipo de convulsão | Programa de triagem de drogas antiepiléticas do NIH |
|--|---|--|
| Convulsões por eletrochoque máximo | Tônico-clônica | Sim |
| Modelo do pentilenotetrazol | Clônica | Sim |
| Modelo de baixas dose de pentilenotetrazol | Ausência | Não |
| Modelos da biculina e picrotoxina | Clônica | Sim |
| Modelo do flurotil | Clônica | Não |
| Ratos modificado geneticamente (Strasbourg) | Ausência | Não |
| Modelos de ratos monogênicos para crise ausência | Ausência | – |
| Toxina do tétano | Focal | Não |
| Convulsões audiogênicas | De início focal que pode evoluir para tônico-clônico generalizada | Sim |
| Estímulo elétrico (córnea, hipocampo, amígdala) | Focal | Sim |
| Ratos inflamados resistentes à lamotrigina | Focal | Sim |
| Estimulação elétrica de 6 Hz (32 e 44 mA) | Focal | Sim (32 mA) |

LEGENDAS: NIH – “National Institutes of Health”.

FONTE: adaptado de Galanopoulou et al., 2012.

3.5. Tratamento farmacológico da epilepsia

Os fármacos empregados na terapêutica das convulsões e dos diferentes tipos de epilepsia desempenham um papel fundamental no controle das crises. Entretanto, os fármacos anticonvulsivantes fornecem um controle adequado das convulsões em cerca de dois terços dos pacientes (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014; SILLANPÄÄ; SCHMIDT, 2017). Além disso, esses fármacos podem apresentar falhas no tratamento com efeitos colaterais associados, tais como: resistência aos fármacos, abstinência, efeito teratogênico, acidose respiratória, hipotensão e bradicardia (SCHMIDT; SCHACHTER, 2014).

Quanto aos seus mecanismos de ação, os fármacos utilizados na terapêutica tratamento das crises convulsivas e/ou epiléticas consistem, geralmente, na redução dos disparos neuronais repetitivos; aumentando os efeitos inibitórios do GABA ou reduzindo os efeitos dos aminoácidos excitatórios (glutamato e aspartato). Uma outra via envolvida nos mecanismos de ação dos fármacos anticonvulsivantes/antiepiléticos se dá pelo bloqueio dos canais iônicos, o qual pode alterar o movimento dos íons Na^+ e Ca^{+2} pelas membranas dos neurônios (PANUS et al., 2011).

Os fármacos utilizados para controlar crises ligadas à epilepsia são classificados em classes distintas conforme seus mecanismos de ação molecular, sendo estes classificados em: primeira (1ª), segunda (2ª) e terceira (3ª) geração. São inclusos na 1ª geração os fármacos que atuam bloqueando os canais de Na^+ e potencializando a ação do GABA endógeno (FRANCO et al., 2008), como exemplos de antiepiléticos dessa classe temos a fenitoína, fenobarbital, benzodiazepínicos, carbamazepina e ácido valpróico (BARRETO; MASSAB KI, 2010). Na 2ª geração são inclusos tiagabina, vigabatrina, lamotrigina e o topiramato, e na 3ª geração temos a dezínamida, fosfenitoina e remacemida (NÓBREGA, 2012).

O quadro 4 resume os mecanismos de ação e a indicação dos principais fármacos utilizados no tratamento das crises convulsivas e epiléticas em adultos:

Quadro 4 – Principais fármacos utilizados no tratamento das crises convulsivas e epiléticas em adultos.

| Fármaco | Mecanismo de ação | Principal indicação na convulsão |
|----------------------|--|--|
| Carbamazepina | Bloqueia canais de Na^+ Reduz a liberação sináptica de glutamato | Convulsões focais Crises generalizadas com início focal Terapia adjuvante de crises focais |
| Gabapentina | Bloqueia canais de Ca^{2+} | Convulsões focais Crises generalizadas sem início focal Terapia adjuvante de crises focais |

(Continua na página seguinte)

Quadro 4 (Continuação)

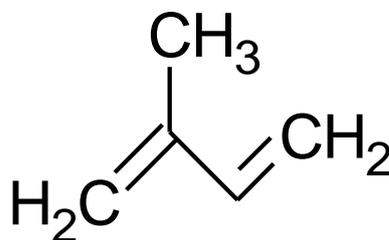
| | | |
|------------------------------------|--|--|
| Lamotrigina | Bloqueia canais de Na ⁺ | Convulsão focal e generalizada Terapia adjuvante de crises focais e generalizadas |
| Levetiracetam | Modulador da SV2A | Convulsões focais Crises generalizadas sem início focal Crises mioclônicas |
| Topiramato | Potencializa a ação do GABA Bloqueia canais de Na ⁺ e Ca ²⁺ | Convulsões focais e generalizadas Síndrome de Lennox-Gastaut Tratamento adjuvante de crises focais refratárias |
| Valproato (ácido valpróico) | Potencializa a ação do GABA Bloqueia canais de Na ⁺ e Ca ²⁺ | Convulsões focais Crises generalizadas |
| Pregabalina | Bloqueia canais de Ca ²⁺ | Convulsões focais Crises generalizadas com início focal |
| Clobazam | Potencializa a ação do GABA | Convulsões focais e generalizadas |
| Etossuximida | Bloqueia canais de Ca ²⁺ | Crise de ausência |
| Fenitoína | Bloqueador de canais de Na ⁺ Reduz a liberação sináptica de glutamato | Convulsões focais Crises generalizadas com início focal |
| Diazepam | Potencializa a ação do GABA | Convulsões focais Crises generalizadas |

LEGENDA: SV2A – Proteína das vesículas sinápticas.

FONTE: adaptada de BRASIL (2013); SCHMIDT & SCHACHTER (2014).

3.6. Terpenóides

Os terpenóides, também denominados de isoprenóides, são substâncias químicas presentes em espécies vegetais e que são derivadas quimicamente de unidades isoprênicas (C₅, figura 4). Constitui uma classe de derivados lipofílicos do ácido mevalônico, que ocorrem amplamente na natureza; mais frequentemente encontrados em óleos essenciais, onde os monoterpenóides e os sesquiterpenóides são componentes exclusivos (HALBE, 2005; LA CRUZ et al., 2014; LAPCZYNSKI et al., 2008; SIMÕES et al., 2007).

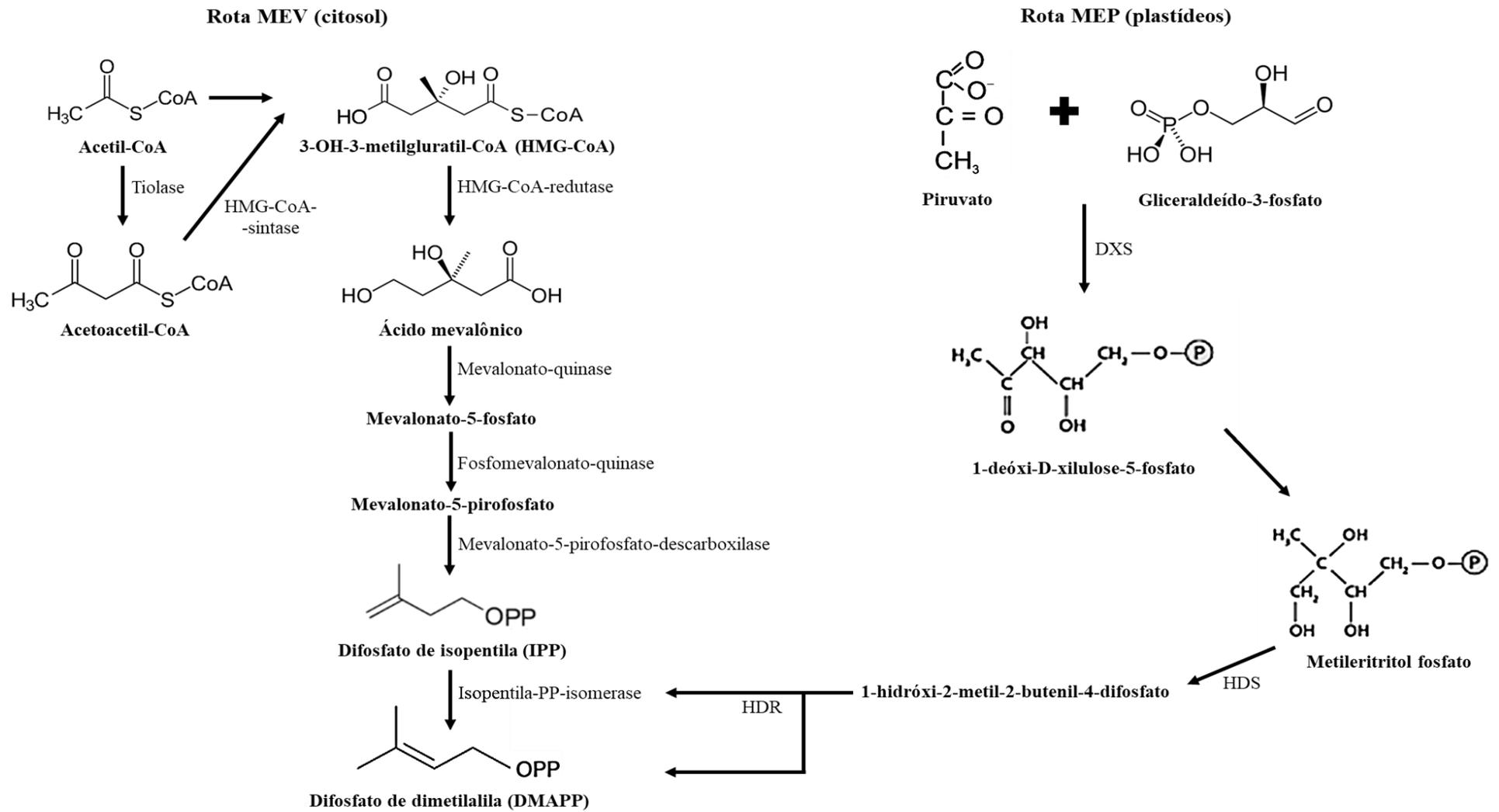


FONTE: Elaborada pelos autores, 2018.

Figura 4. Representação estrutural da unidade isoprênica (C₅).

Quanto a sua estrutura química, os esqueletos carbonados dos terpenóides podem ser estruturas do tipo acíclicas ou multicíclicas formadas por um número variável de condensação de unidades isoprênicas, ou seja, unidades pentacarbonadas; sendo o difosfato de dimetilalila (DMAPP) e difosfato de isopentila (IPP) os precursores dos compostos

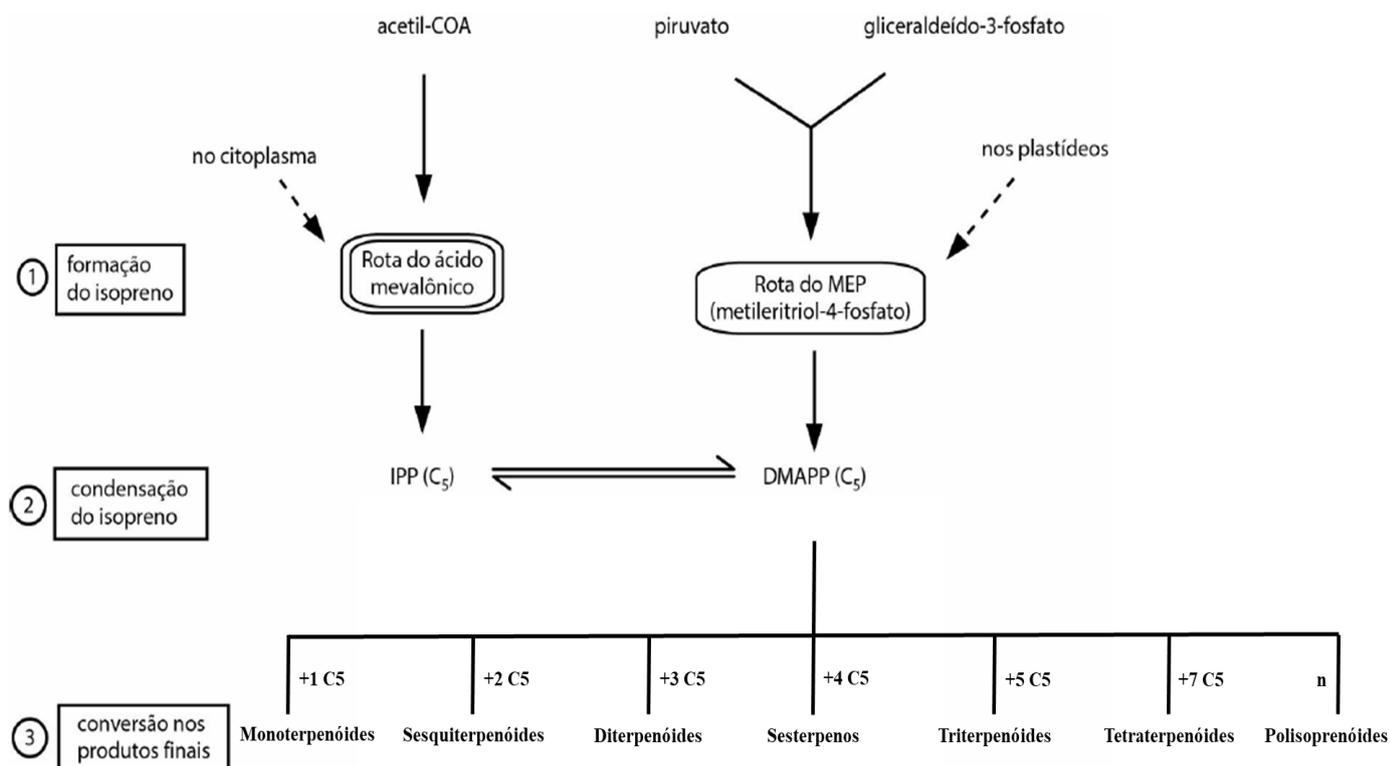
pertencentes a esta classe de metabólitos secundários, os quais podem ser formados a partir da rota do mevalonato (MEV) ou pela rota do 2-metileritritol fosfato (MEP) (HALBE, 2005; LA CRUZ et al., 2014; SIMÕES et al., 2007, SIMÕES et al., 2017; figura 5).



FONTE: adaptada de Simões et al. (2007, 2017).

Figura 5. Rotas biossintéticas dos compostos terpênicos.

As quantidades de unidades de isopreno determinam as diferentes classificações dos terpenóides, os quais podem ser classificados em: hemiterpenóides (C₅), monoterpenóides (C₁₀), sesquiterpenóides (C₁₅), diterpenóides (C₂₀), sesterpenóides (C₂₅), triterpenóides (C₃₀) e tetraterpenóides/carotenóides (C₄₀) (DEWICK, 2009; HALBE, 2005, figura 6).



LEGENDA: IPP – Difosfato de isopentila; DMAPP – Difosfato de dimetilalila.

FONTE: adaptado de Simões et al. (2007, 2017).

Figura 6. Principais hidrocarbonetos que originam os terpenóides encontrados nos óleos voláteis.

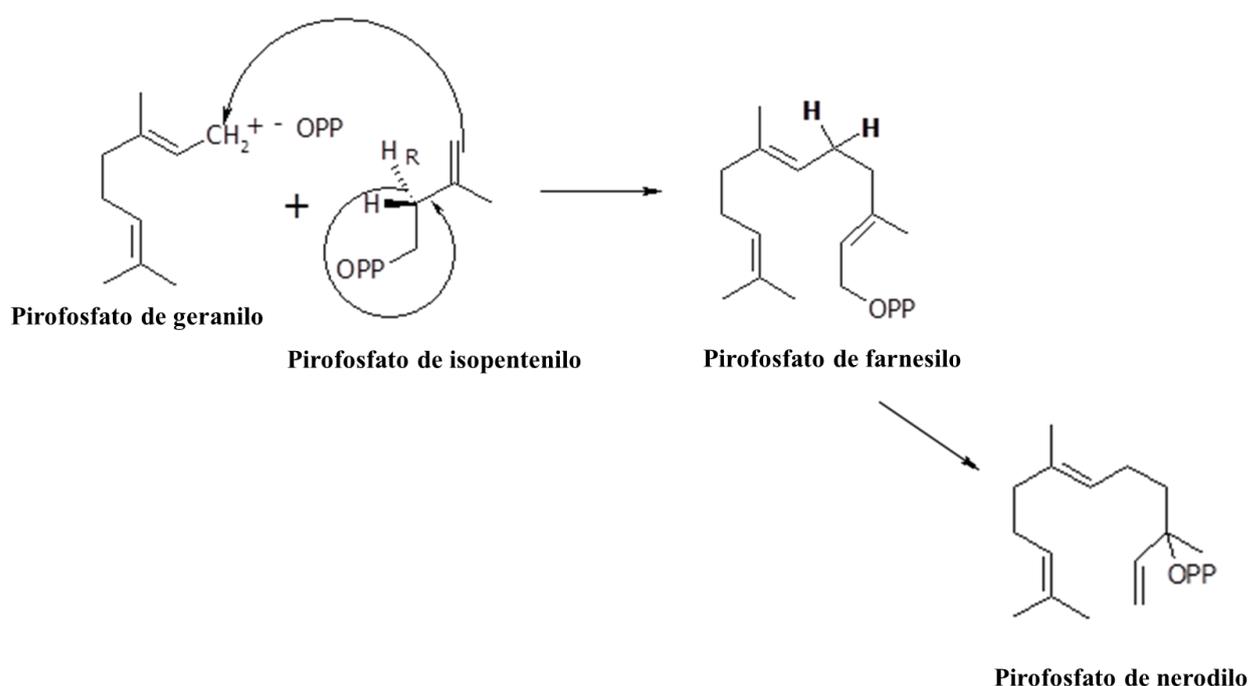
Em vegetais os terpenóides podem apresentar diferentes funções, tais como, efeito protetor contra fungos e bactérias, e em animais formam vitaminas e hormônios (HALBE, 2005). Quanto as suas aplicações, os compostos terpenóides são utilizados como aromatizantes e fragrâncias, na fabricação de cosméticos e perfumes, e como aditivos pelas indústrias alimentares. Na indústria farmacêutica essas substâncias são utilizadas como excipientes para melhorar a penetração transdérmica de fármacos e como princípios ativos ou coadjuvantes de medicamentos, por exemplo os seguintes sesquiterpenóides: *trans*-cariofileno, α -humuleno, allo-aromadendreno, obtidos da *Cordia verbenácea* DC. (erva

baleeira), os quais estão presentes na composição do Acheflan®, considerado o primeiro fitomedicamento genuinamente brasileiro (OLIVEIRA et al., 2014).

De acordo com Paduch e colaboradores (2007), o crescente interesse por se estudar os terpenóides é atribuído a sua potencial aplicação clínica, pois os mesmos apresentam diferentes propriedades biológicas, tais como, efeito antifúngico, antibacteriano, antiviral, antitumoral, antiparasitário, hipoglicêmico, anti-inflamatório e analgésico.

3.7. Sesquiterpenóides e farnesol

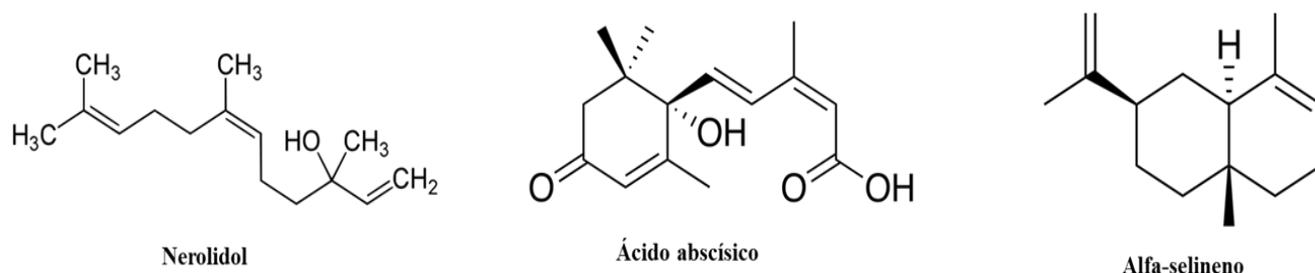
Os sesquiterpenóides são compostos originados a partir da condensação dos pirofosfatos de dois isoprenóides, o pirofosfato de geranilo com o pirofosfato de isopentenilo (precursor de todos os sesquiterpenos), os quais podem hidrolisar-se a pirofosfato de farnesilo ou isomerizar-se a pirofosfato de nerodilo (precursor dos sesquiterpenos monocíclicos) (figura 7).



FONTE: Elaborada pelos autores, 2018.

Figura 7. Precursores biossintéticos dos sesquiterpenóides.

Os sesquiterpenóides podem apresentar-se como estruturas acíclicas, com átomos de carbono estruturais em cadeias abertas (ex: nerolidol); monocíclicas (ex: ácido abscísico) ou bicíclicas (ex: alfa-selineno) (FILIPPO D'ANTUONO et al., 2016; SIMÕES, 2007, figura 8).

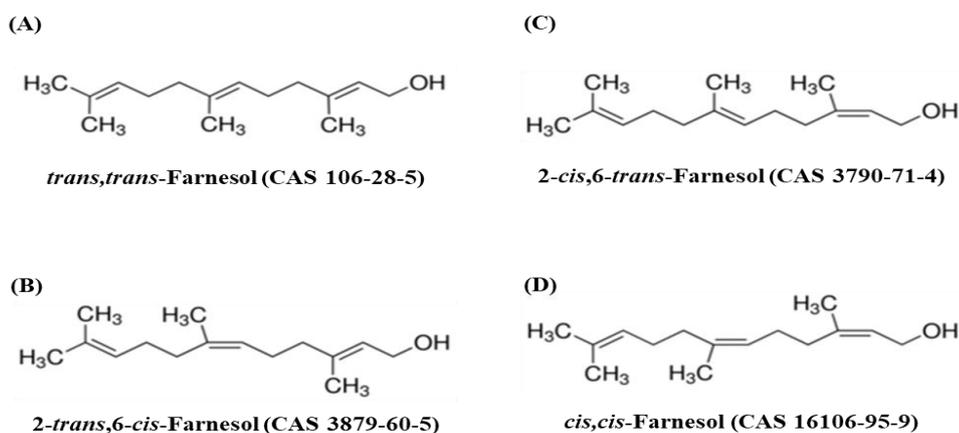


FONTE: Elaborada pelos autores, 2018.

Figura 8. Exemplos de representações estruturais de diferentes tipos de sesquiterpenóides.

Já foram descritos mais de 1000 tipos de sesquiterpenóides em óleos essenciais (SOUZA, 2016), os quais são bastante utilizados com ingredientes de cosméticos, perfumes e produtos de limpeza, como: *shampoos*, sabonetes, perfumes, detergentes e outros produtos de limpeza doméstica e higiene pessoal (DE SIQUEIRA et al., 2014).

O Farnesol é um álcool sesquiterpênico natural (figura 9), encontrado em óleos essenciais e produzido nas células pela desfosforilação de pirofosfato (KHAN; SULTANA, 2011). Recebeu este nome devido ter sido identificado, na forma de álcool, nas flores da *Vachellia farnesiana* (acácia farnese) (TRIMBLE, 1885). Quanto aos isômeros geométricos do farnesol, já foram identificados quatro isômeros na natureza, cujos estão disponíveis comercialmente: *trans,trans*-farnesol (CAS 106-28-5, figura 9A), *2-trans,6-cis*-farnesol (CAS 3879-60-5, figura 9B), *2-cis,6-trans*-farnesol (CAS 3790-71-4, figura 9C) e *cis,cis*-farnesol (CAS 16106-95-9, figura 9D). O farnesol também está disponível comercialmente como uma mistura de isômeros (CAS 4602-84-0).



FONTE: Sigma-Aldrich.

Figura 9. Representação estrutural dos diferentes isômeros geométricos do farnesol.

Quanto as suas características, trata-se de um líquido oleoso, incolor, com aroma doce suave e delicado, encontrado em plantas aromáticas, tais como: *Cymbopogon nardus* (L.), *Cymbopogon citratus* (D.C.) e *Citrus arantium* (L.). Esse composto é bastante utilizado pelas indústrias de cosméticos e perfumaria (LAPCZYNSKI et al., 2008).

Estudos realizados com o farnesol demonstram considerado potencial farmacológico que este composto apresenta, tais como: propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, quimiopreventiva (KHAN; SULTANA, 2011; QAMAR; SULTANA, 2008; YAZLOVITSKAYA; MELNYKOVYCH, 1995), efeito ansiolítico, depressor (SHAHNOURI, ABOUSHOSSEINI TABARI, ARAGHI, 2016), analgésico (SHAHNOURI, ABOUSHOSSEINI TABARI, ARAGHI, 2016; SILVA et al., 2017), neuroprotetor (SANTHANASABAPATHY, SUDHANDIRAN, 2015), efeito hipotensor por promover vasodilatação (LUFT et al., 1999; ROULLET et al., 1997) e diminuir a contratilidade do miocárdio (SOUZA, 2016), ambos efeitos decorrentes da inibição dos canais de cálcio tipo L promovida por essa substância.

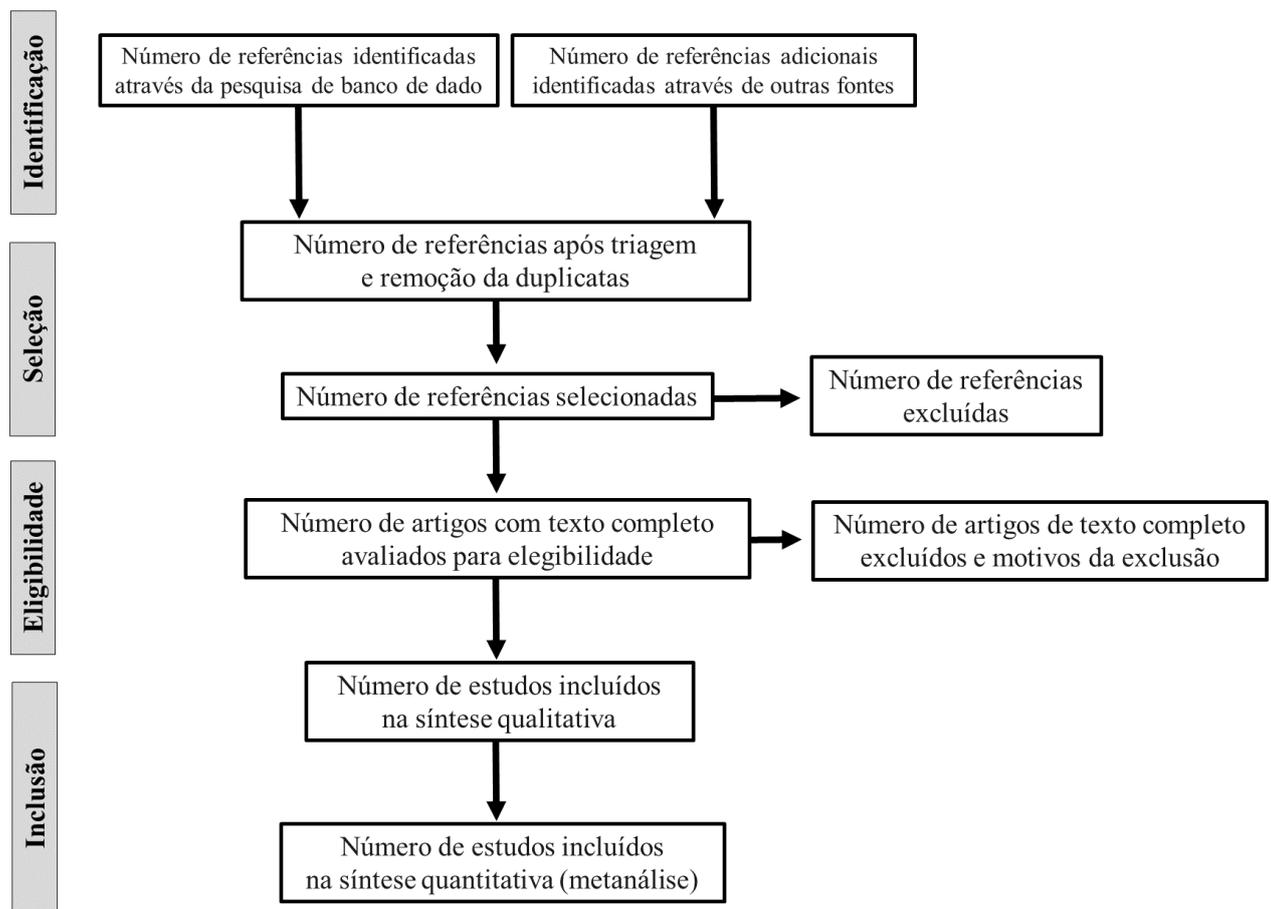
MATERIAIS E MÉTODOS

4. MATERIAS E MÉTODOS

4.1. Revisão sistemática das propriedades farmacológicas e toxicológicas do farnesol

4.1.1. Design do estudo

A revisão sistemática (RS) descritiva foi realizada em conformidade com as diretrizes do PRISMA – *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*, a qual é composta por um *checklist* de 27 itens (anexo 1) e um diagrama de fluxo que orienta a busca e seleção de artigos em quatro etapas – identificação, seleção, elegibilidade e inclusão (figura 10) – com o objetivo de auxiliar os autores a melhorarem a qualidade e confiabilidade da RS (MOHER et al., 2009).



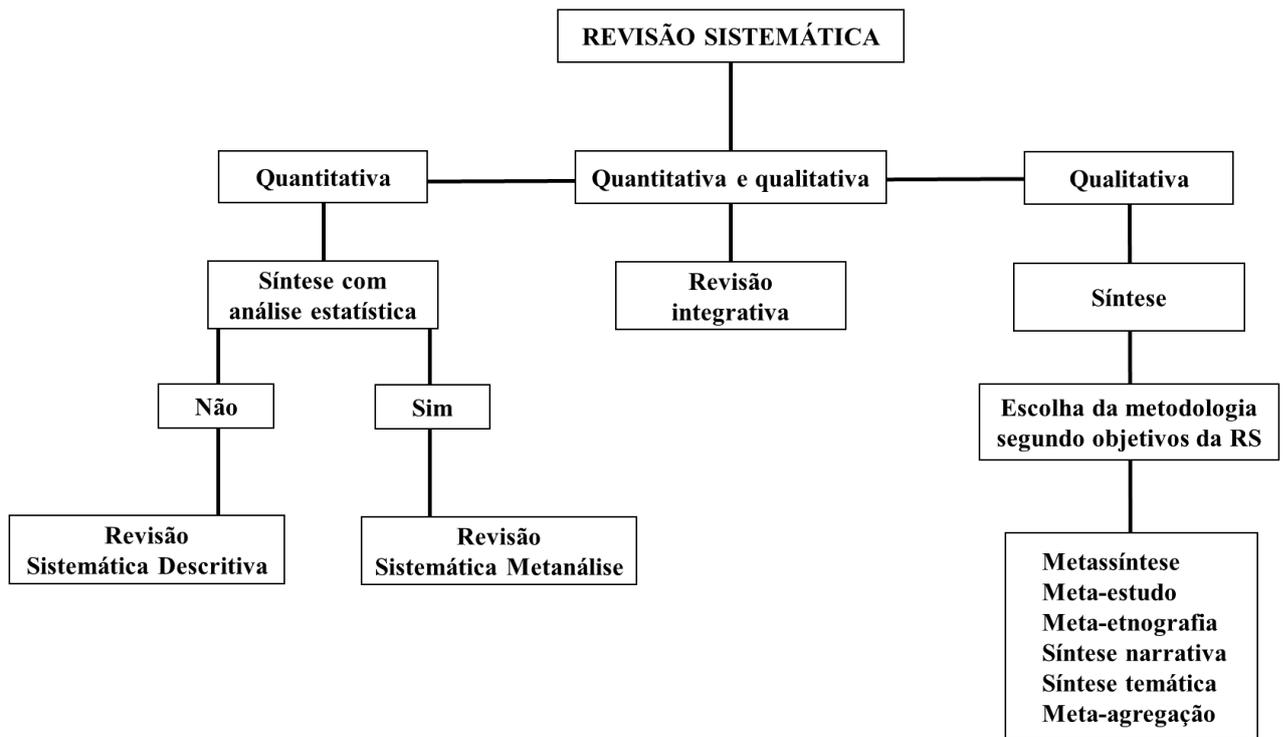
FONTE: adaptado de Moher et al., 2009.

Figura 10. Fluxo de seleção dos artigos através das diferentes fases de uma revisão sistemática proposto pelo PRISMA.

Schütz; Sant'ana & Santos (2011) definem a RS como “um método de pesquisa secundária que tem como embasamento científico critérios pré-determinados e evidências consistentes”. Em estudos de RS os pesquisadores devem avaliar criticamente e interpretar todas as informações relevantes disponíveis para uma determinada questão, fenômeno ou área de conhecimento (BRASIL, 2012), afim de compilar os dados encontrados em pesquisas primárias de modo a resumir esses dados, testar e/ou refinar hipóteses, e auxiliar na estimativa e definição de amostras; os quais podem ser úteis no desenvolvimento de ferramentas e/ou futuros estudos (MEDINA; PAILAQUILÉN, 2010; SCHÜTZ; SANT'ANA; SANTOS, 2011).

Os métodos de pesquisa e análises sistemáticas são utilizadas para evitar os vieses nos estudos e possibilitar uma análise de resultados mais confiável, rigorosa e objetiva, o que facilita uma síntese conclusiva mais fidedigna (BRASIL, 2012; SAMPAIO; MANCINI, 2007). A RS se diferencia dos demais tipos de revisões (narrativa e integrativa) por se tratar de um método mais rigoroso de identificação e seleção de estudos sobre um tema em questão, fazendo uso de buscas sistemáticas e ferramentas validadas para avaliar a qualidade e aplicabilidade das evidências científicas (BRASIL, 2012; DE-LA-TORRE-UGARTE-GUANILO; TAKAHASHI; BERTOLOZZI, 2011).

As RSs podem ser conduzidas com diferentes possibilidades metodológicas (figura 11), entretanto, as mais comuns são as revisões do tipo qualitativas, quantitativas, ou atendendo a ambos métodos. A abordagem a ser utilizada dependerá dos objetivos e questionamentos estabelecidos pelo pesquisador (DE-LA-TORRE-UGARTE-GUANILO; TAKAHASHI; BERTOLOZZI, 2011).



FONTE: De-La-Torre-Ugarte-Guanilo; Takahashi & Bertolozzi, 2011

Figura 11. Possibilidades metodológicas de revisão sistemática.

As etapas para a elaboração de RSs preveem: 1) delineamento do tema e/ou elaboração da pergunta; 2) busca nas bases de dados; 3) seleção dos estudos; 4) extração dos dados; 5) avaliação dos riscos de viés e qualidade metodológica dos estudos; 6) síntese dos dados (metassíntese ou metanálise); 7) avaliação da qualidade das evidências; e 8) escrita e divulgação dos resultados.

4.1.2. Estratégia de pesquisa

A pesquisa foi conduzida com base na seguinte questão norteadora: Quais são as propriedades farmacológicas e toxicológicas do farnesol? A busca dos artigos foi realizada no período de setembro a dezembro de 2017 nas bases de dados eletrônicas PUBMED, MEDLINE, SCOPUS e Web of Science utilizando as seguintes combinações de descritores: “farnesol and pharmacological effect” e “farnesol and toxicology”. Os critérios de inclusão utilizados foram: artigos originais de estudos pré-clínicos e clínicos que investigaram os efeitos farmacológicos e toxicológicos do farnesol, publicados entre janeiro de 1960 a dezembro de 2017 e escritos nos idiomas inglês, português e espanhol.

4.1.3. Seleção dos estudos

A busca e seleção dos estudos foi realizada por dois pesquisadores independentes (G.A.D. e D.S.B.). A triagem dos artigos se deu através da leitura do título e resumo com a aplicação de uma ficha de avaliação com os critérios de elegibilidade. Em seguida, as publicações foram avaliadas através da leitura do texto completo, sendo esta etapa fundamental para confirmar os critérios de inclusão. As eventuais discordâncias foram resolvidas através do consenso entre os dois pesquisadores. Os artigos resultantes foram cuidadosamente revisados, com o objetivo de identificar os estudos que atendessem aos critérios de inclusão acima descritos e, posteriormente, realizar a extração dos dados.

4.1.4. Avaliação da qualidade metodológica/risco de viés dos estudos

A qualidade metodológica e o risco de viés dos estudos foram avaliados utilizando a ferramenta do SYRCLE's RoB (HOOIJMANS et al., 2014), para os estudos pré-clínicos – *in vivo* e *ex-vivo* – com animais não-humanos; e os critérios delineados pela Cochrane Collaboration's (HIGGINS et al., 2011), para os estudos clínicos. Quanto aos estudos pré-clínicos *in vitro* não foi possível realizar esta análise, uma vez que não existe nenhuma ferramenta validada com esta finalidade.

A ferramenta do SYRCLE's RoB foi desenvolvida com base nos critérios da Cochrane Collaboration's (HIGGINS et al., 2011), sendo adaptada para avaliar a qualidade metodológica e os riscos de viés de estudos experimentais com animais não-humanos. Esta ferramenta é composta por 10 entradas que estão relacionadas com 6 tipos de viés: viés de seleção, viés de desempenho, viés de detecção, viés de atrito, viés de relatório e outros vieses (HOOIJMANS et al., 2014) (tabela 1).

Tabela 1 – Ferramenta do do SYRCLE's RoB para avaliar o risco de viés em estudos com animais não-humanos.

| Item | Tipo de viés | Domínio | Descrição do domínio | Julgamento do autor durante a avaliação |
|------|-----------------|--------------------------------|--|---|
| 1 | Viés de seleção | Geração de sequência aleatória | Descrever em detalhe o método utilizado para gerar a sequência aleatória, para permitir avaliar se foi possível produzir grupos comparáveis. | Foi gerada uma sequência aleatória de alocação dos diferentes grupos? (*) |

(Continua na página seguinte)

Tabela 1 (Continua na página seguinte)

| | | | | |
|---|--------------------|-----------------------------------|---|--|
| 2 | Viés de seleção | Características básicas | Descreva todos os possíveis fatores prognósticos ou características animais, se houver, que sejam comparados para julgar se os grupos de intervenção e controle eram semelhantes no início do experimento. | Os diferentes grupos foram agrupados em parâmetros similares (tais como: sexo, idade, peso dos animais, tempo do tratamento ou indução da doença)? |
| 3 | Viés de seleção | Alocação sigilosa | Descreva o método usado para ocultar a sequência de alocação em detalhes suficientes para determinar se as alocações de intervenção poderiam ter sido previstas antes ou durante o experimento. | A alocação dos diferentes grupos foi adequadamente sigilosa? (*) |
| 4 | Viés de desempenho | Alocação aleatória | Descrever todas as medidas utilizadas, se houver, para alojar os animais aleatoriamente dentro da sala de animais. | Os animais foram selecionados aleatoriamente durante o experimento? |
| 5 | Viés de desempenho | Cegamento | Descreva todas as medidas usadas, se houver, para cegar os cuidadores experimentais e pesquisadores de saber qual intervenção cada animal recebeu. Forneça qualquer informação relacionada ao fato de o cegamento pretendido ter sido efetivo. | Os cuidadores e/ou os investigadores não tinham conhecimento da intervenção que cada animal recebeu durante o experimento? |
| 6 | Viés de detecção | Avaliação aleatória de resultados | Descreva se os animais foram selecionados aleatoriamente ou não para avaliação do resultado, e quais métodos para selecionar os animais, se houver, foram usados. | Os animais foram selecionados aleatoriamente para avaliação de resultados? |
| 7 | Viés de detecção | Cegamento | Descreva todas as medidas usadas, se houver, para cegar os avaliadores de resultados de saber qual intervenção cada animal recebeu. Forneça qualquer informação relacionada ao fato de o cegamento pretendido ter sido efetivo. | O avaliador dos resultados não tinha conhecimento da intervenção que cada grupo recebeu durante o experimento? (*) |
| 8 | Viés de atrito | Dados de resultados incompletos | Descreva a integridade dos dados de resultados para cada resultado principal, incluindo atritos e exclusões da análise. Declare se atrito e exclusões foram relatados, os números em cada grupo de intervenção (em comparação com o total de animais randomizados), motivos de atrito ou exclusões, e quaisquer reinclusões em análises para a revisão. | A identificação e interpretação dos resultados foi realizada adequadamente? (*) |
| 9 | Viés de relatório | Relatório de resultado seletivo | Indicar como o relatório de resultados seletivo foi examinado e o que foi encontrado. | Os relatórios do estudo são livres de resultados seletivos? Os métodos utilizados foram descritos de forma compreensível? (*) |

(Continua na página seguinte)

Tabela 1 (Continuação)

| | | | | |
|----|---------------|-------------------------|---|--|
| 10 | Outros vieses | Outras fontes de vieses | Declare quaisquer preocupações importantes sobre vieses não abrangidos por outros domínios na ferramenta. | O estudo estava livre de outros problemas que podem resultar em alto risco de vieses (tais como: contaminação das drogas, influência dos financiadores, erros de análise)? (*) |
|----|---------------|-------------------------|---|--|

(*) Itens de acordo com os itens no risco na ferramenta da Cochrane Collaboration's.

FONTE: Hooijmans et al., 2014.

Já a ferramenta da *Cochrane Collaboration's* julga os seguintes itens dos estudos clínicos com base em 6 tipos de vieses: vieses de seleção, vieses de desempenho, vieses de detecção, vieses de atrito, vieses de relatório e outros vieses (HIGGINS et al., 2011) (tabela 2).

Tabela 2 – Ferramenta do do *Cochrane Collaboration's* para avaliar o risco de vieses em estudos clínicos.

| Domínio | Fonte de vieses | Suporte para julgamento | Julgamento do autor durante a avaliação |
|--------------------|---|--|--|
| Viés de seleção | Geração de sequência aleatória | Descrever em detalhe o método utilizado para gerar a sequência aleatória, para permitir avaliar se foi possível produzir grupos comparáveis. | Viés de seleção (alocação tendenciosa para intervenções) devido à geração inadequada de uma sequência aleatória. |
| | Alocação sigilosa | Descrever em detalhes o método utilizado para ocultar a sequência aleatória, para determinarmos se a alocação das intervenções pôde ser prevista antes ou durante o recrutamento dos participantes. | Viés de seleção (alocação tendenciosa para intervenções) devido à ocultação inadequada de alocações antes da designação. |
| Viés de desempenho | Cegueira (participante e profissionais) (*) | Descrever todas as medidas utilizadas para cegar participantes e profissionais envolvidos em relação a qual intervenção foi dada ao participante. Fornecer informações se realmente o cegamento foi efetivo. | Viés de desempenho devido ao conhecimento das intervenções alocadas pelos participantes e pelo pessoal durante o estudo. |
| Viés de detecção | Cegueira (avaliador de resultados) (*) | Descrever todas as medidas utilizadas para cegar os avaliadores de desfecho em relação ao conhecimento da intervenção fornecida a cada participante. Fornecer informações se o cegamento pretendido foi efetivo. | Viés de detecção devido ao conhecimento das intervenções alocadas por avaliação de resultados. |

(Continua na página seguinte)

Tabela 2 (Continuação)

| | | | |
|-------------------|-------------------------------------|---|--|
| Viés de atrito | Dados de resultados incompletos (*) | Descrever se os dados relacionados aos desfechos estão completos para cada desfecho principal, incluindo perdas e exclusão da análise. Descrever se as perdas e exclusões foram informadas no estudo, assim como suas respectivas razões. Descreve se houve reinclusão de algum participante. | Viés de atrito devido à quantidade, natureza ou tratamento de dados de resultados incompletos. |
| Viés de relatório | Relatório de resultados seletivo | Indicar a possibilidade de os ensaios clínicos randomizados terem selecionado os desfechos ao descrever os resultados do estudo e o que foi identificado. | Viés de relatório devido ao relatório seletivo de resultados. |
| Outros vieses | Outras fontes de vieses | Declarar outro viés que não se enquadra em outro domínio prévio da ferramenta. Se em protocolos de revisões forem pré-especificadas questões neste domínio, cada questão deve ser respondida. | Viés devido a problemas não cobertos em outro lugar. |

(*) As avaliações devem ser feitas para cada resultado principal ou classe de resultados.

FONTE: Higgins et al., 2011.

Com base nas ferramentas acima citadas os estudos foram classificados em: “baixo risco de viés”, “alto risco de viés” e “risco não claro de viés”.

4.1.5. Extração e análise dos dados

Os dados foram extraídos por um dos pesquisadores (G.A.D.) através do uso de uma lista de critérios de seleção, os quais foram verificados com precisão pelo segundo pesquisador (D.S.B.).

O processo de extração e síntese descritiva dos dados obedeceram ao formato do acrônimo PICOT (P – população, I – intervenção, C – Controle, O – desfecho, T – tipo de estudo). Os itens extraídos incluíram informações relacionadas ao tipo de estudo, espécie, cepa e/ou linhagem celular utilizada, objetivo do estudo, dose e/ou concentração testada, via de administração e principais resultados e conclusão, conforme descrito na literatura.

A estatística de agrupamento (metanálise) não foi possível devido à heterogeneidade metodológica entre estudos.

4.2. Revisão crítica das patentes de produtos farmacêuticos que contém o farnesol na sua formulação

4.2.1. Design do estudo

A revisão crítica da literatura foi desenvolvida objetivando realizar uma síntese crítico-analítica das patentes de interesses farmacêuticos que contém o farnesol na sua formulação, pois assim seria possível verificar os possíveis produtos gerados a partir das pesquisas experimentais pré-clínicas e clínicas.

As revisões da literatura possuem como característica análise e síntese de informações oriundas de estudos primários relevantes sobre um determinado tema, as quais compilam o conjunto de conhecimentos existentes, possibilitando, assim, a realização de análises e desfechos sobre o assunto em questão (MARCINI, SAMPAIO, 2006).

Nos estudos de revisões críticas da literatura os pesquisadores resumem, analisam e sintetizam as informações disponibilizadas na literatura, mas não seguem necessariamente uma metodologia pré-definida (MARCINI, SAMPAIO, 2006), sendo esse um aspecto que os diferenciam das RSs, as quais adotam uma metodologia rigorosa, com procedimentos de busca, seleção e análise padronizados, bem delineados e claramente definidos, o que permite com que o leitor aprecie a qualidade das pesquisas e a validade das conclusões feitas pelos autores (BRASIL, 2012; DE-LA-TORRE-UGARTE-GUANILO; TAKAHASHI; BERTOLOZZI, 2011; MARCINI, SAMPAIO, 2006).

4.2.2. Estratégia de pesquisa

A busca das patentes foi realizada em janeiro de 2018 através dos bancos eletrônicos de patentes WIPO (World Intellectual Property Organization), LatiPat e INPI (Instituto Nacional da Propriedade Industrial) utilizando os seguintes descritores e combinações: “farnesol” e “farnesol and pharmaceutical”. A pesquisa foi realizada com base na seguinte questão norteadora: “Quais são os produtos de interesses farmacêuticos patenteados que possuem o farnesol na sua formulação?”. Os critérios de inclusão utilizados foram: patentes de estudos pré-clínicos e clínicos que investigaram os efeitos farmacológicos de produtos que contém o farnesol na sua formulação, publicados entre janeiro de 1970 a dezembro de 2017 e escritos nos idiomas inglês, português e espanhol.

4.2.3. Seleção das patentes

A busca e seleção das patentes foi realizada por dois pesquisadores independentes (G.A.D. e I.C.S.L.). A triagem se deu através da leitura do título e resumo com a aplicação de uma ficha de avaliação da elegibilidade. Em seguida, as patentes foram avaliadas através da leitura do texto completo (quando disponível), onde foi possível confirmar os critérios de inclusão. As eventuais discordâncias foram resolvidas através do consenso entre os dois pesquisadores. As patentes resultantes foram cuidadosamente revisadas com o objetivo de identificar quais atendiam aos critérios de inclusão acima descritos e realizar a extração dos dados.

4.2.4. Extração e síntese dos dados

Os dados foram extraídos por um dos pesquisadores (G.A.D.) através do uso de uma lista de critérios de seleção, os quais foram verificados com precisão pelo segundo pesquisador (I.C.S.L.).

Os itens extraídos para a síntese descritiva incluíram informações relacionadas ao número da patente, classificação internacional da patente, inventor, formulação, via de administração e forma farmacêutica e o uso terapêutico do produto, conforme descrito nas patentes.

4.3. Bioprospecção farmacológica na investigação comportamental e neuroprotetora do farnesol em camundongos submetidos à convulsão induzida por pilocarpina

4.3.1. Design do estudo

Este trabalho de mestrado foi desenvolvido pelo Laboratório de Farmacologia dos Produtos Naturais (LFPN) da Universidade Regional do Cariri (URCA) como parte integrante do Programa de Pós-graduação em Bioprospecção Molecular (PPBM). O referido trabalho foi financiado pelas instituições de fomento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES/Brasil, Código de financiamento 001), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq/Brasil) e Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP/Ceará/Brasil).

Trata-se de um estudo randomizado de caráter experimental (em animais não-humanos) de natureza quantitativa. Como instrumento de coleta de dados foram utilizados diferentes protocolos farmacológicos e neuroquímicos, os quais permitiram investigar os

efeitos comportamentais e neuroprotetor do farnesol em camundongos submetidos à convulsão induzida por pilocarpina, bem como elucidar os possíveis mecanismos de ação responsáveis pela neuroproteção.

Para Gil (2006) o método experimental consiste essencialmente em submeter os objetos de estudo à influência de certas variáveis, em condições controladas e conhecidas pelo investigador, para observar os resultados que a variável produz no objeto. Segundo Swerts (2010), a pesquisa experimental é aquela que descobre o modo e as causas que levam o fenômeno a ser produzido, podendo ser de um estudo realizado em campo ou em laboratório.

4.3.2. Exigências legais - aspectos éticos da pesquisa

A proposta da pesquisa foi aprovada pela Comissão de Experimentação e Uso de Animais (CEUA) da Universidade Regional do Cariri – URCA (processo no. 00128/2017.2, anexo 2) e conduzida em estrita obediência com as normas e diretrizes bioéticas nacionais e internacionais vigentes para ensaios envolvendo animais não-humanos (Diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA/Brasil e do *Guide for the care and use of laboratory animals* do *National Institute of Health* – NIH/EUA).

Todos os procedimentos adotados foram estabelecidos de acordo com o decreto n°. 24.645 de 10 de julho de 1934 que asseguram os direitos dos animais, estabelecendo medidas de proteção aos mesmos, e conforme a lei n°. 6.638 de 8 de maio de 1979, que normatiza as práticas didático científicas da vivisseção de animais (BRASIL, 1934; BRASIL, 1979). A Lei 6.638 de 8 de maio de 1979 dispõe sobre a composição do CONCEA, estabelece as normas para o seu funcionamento e de sua Secretaria-Executiva, cria o Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais – CIUCA, mediante a regulamentação da Lei 11.794, de 08 de outubro de 2008 (Lei Arouca), que dispõe sobre procedimentos para o uso científico de animais (BRASIL, 2008).

4.3.3. Materiais

4.3.3.1. Animais

Para realização dos experimentos foram utilizados camundongos albinos *Swiss* (*Mus musculus*) machos ou fêmeas em anaestro (60-90 dias idade e massa corpórea de 30 ± 5 g). Os animais foram distribuídos aleatoriamente e mantidos no Biotério de criação da Universidade Regional do Cariri – URCA (Crato-CE, Brasil) em gaiolas de polipropileno medindo 30 cm de comprimento, por 19 cm de largura e 13 cm de altura, com, no máximo, 5

camundongos por caixa, em cama de maravalha estéril, recebendo, diariamente, ração padrão e água *ad libitum* (exceto nas 2 horas que antecederam a execução dos experimentos), em condições ambientais controladas (temperatura ambiente de $23 \pm 2^\circ \text{C}$, ciclo claro/escuro de 12 po 12h, umidade relativa do ar $50 \pm 5\%$) (LAPA et al., 2008).

4.3.3.2. Drogas, reagentes e soluções

As drogas, reagentes e soluções utilizadas neste estudo estão listadas na tabela 3 de acordo com sua procedência, preparo e finalidade, respectivamente.

Tabela 3 – Drogas, reagentes e soluções utilizadas na realização dos protocolos farmacológicos e neuroquímicos.

| SUBSTÂNCIA | PROCEDÊNCIA | PREPARO |
|------------------------------|--|---|
| Acetonitrila | Carlo erba Reagenti, Itália | Diluído conforme as instruções do fabricante (concentração de 4% v/v) |
| Ácido cítrico | União Química, Brasil | Dissolvido 15,75 g em água puríssima (Milli-Q) q.s.p. 400 mL, ajustada com pH 3 |
| Ácido clorídrico | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | Diluído conforme as instruções do fabricante (concentração de 1 N) |
| Ácido octanosulfônico sódico | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | Diluído conforme as instruções do fabricante (concentração de 0,69 M) |
| Ácido perclórico | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | Diluído 1,8 mL em água deslitada q.s.p. 300 mL (concentração de 0,1 M) |
| Ácido tiobarbitúrico | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | Dissolvido 0,15 g em água destilada q.s.p. 20 mL (concentração de 10%) |
| Ácido tricloracético | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | Dissolvido 2 g + 2,5 mL de hidróxido de sódio 0,5 N + 10 mL de água destilada q.s.p. + 1,5 mL de ácido clorídrico 1 N + q.s.p. 25 mL de água destilada (concentração de 0,6%) |
| Água destilada | Laboratório de Biofisiofarmacologia da FMJ, Brasil | – |
| Água puríssima (Milli-Q) | Laboratório de Biofisiofarmacologia da FMJ, Brasil | – |

(Continua na página seguinte)

Tabela 3 (Continuação)

| | | |
|---|----------------------------------|--|
| Atropina | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | Dissolvido em solução salina, administrado na dose de 10 mg/kg, via intraperitoneal |
| Cloreto de potássio | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | Dissolvido 1,15 g em água destilada q.s.p. 100 mL (concentração de 1,15%) |
| Diazepam | União Química, Brasil | Diluído em solução salina, administrado nas doses de 1, 2 ou 5 mg/kg, via intraperitoneal |
| Hidróxido de sódio | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | Dissolvido 0,5 g em água destilada q.s.p. 25 mL (concentração de 0,5 N) |
| Imipramina | Cristália Farma, Brasil | Dissolvido em em solução salina com 0,5% de <i>Tween</i> 80, administrado na dose de 30 mg/kg, via intraperitoneal |
| Nitrito de sódio (NaNO ₂) | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | Dissolvido 6,9 mg em 10 mL de água destilada (concentração de 10 mM) |
| Oxotremorina | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | Dissolvido em solução salina, administrado na dose de 0,5 mg/kg, via intraperitoneal |
| Padrões: dopamina – DA, noradrenalina – NA e serotonina – 5-HT ₃ | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | Preparados conforme as instruções do fabricante (concentração final de 4 ng) |
| Pilocarpina | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | Dissolvido em solução salina e administrado na dose de 350 mg/kg, via oral |
| Reagente de Griess modificado | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | Diluído conforme as instruções do fabricante (0,04 g/mL) |
| Salina (solução fisiológica 0,9%) | Farmace, Brasil | Utilizado na concentração de fábrica |
| Solução padrão malonilaldeído | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | Diluído conforme as instruções do fabricante (concentração de 1 mg/mL) |
| Tampão Tris HCl | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | Diluído conforme instruções do fabricante (concentração de 0,4 M, pH 8,9) |
| Tetrahidrofurano | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | Diluído conforme as instruções do fabricante (concentração de 1,7% v/v) |
| <i>Trans,trans</i> -Farnesol (95% de pureza) | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | Emulsificado em em solução salina (soro fisiológico 0,9%) com 0,5% de <i>Tween</i> 80, administrado nas doses de 12,5, 25, 50, 100, 200 ou 400 mg/kg, via oral |
| <i>Tween</i> 80 | <i>Sigma-Aldrich</i> , E.U.A. | – |

4.3.3.3. Equipamentos

Os equipamentos utilizados neste estudo estão listados na tabela 4 de acordo com sua procedência e finalidade, respectivamente.

Tabela 4 – Equipamentos utilizados na realização dos protocolos farmacológicos e neuroquímicos.

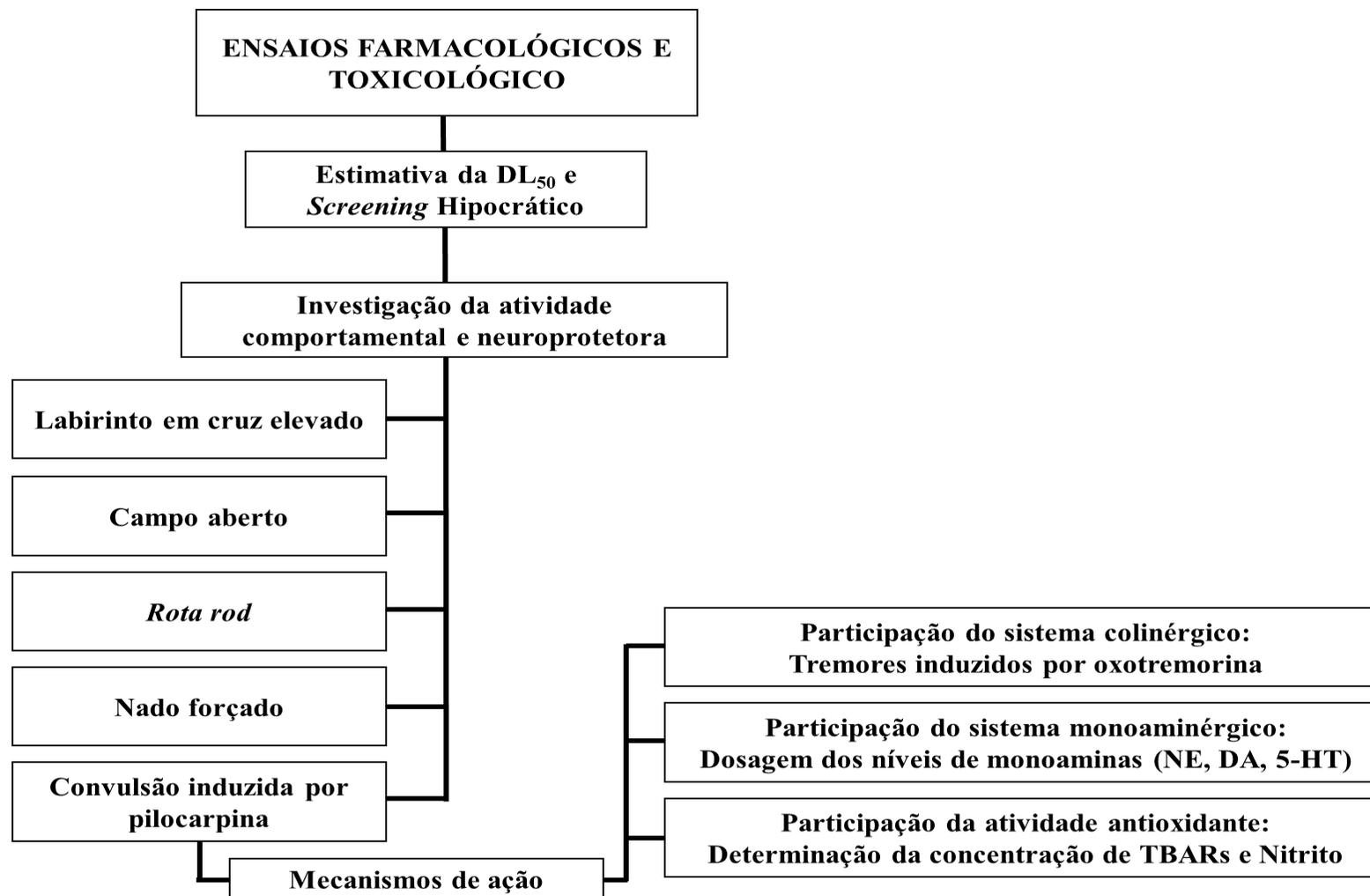
| EQUIPAMENTO | PROCEDÊNCIA |
|------------------------------------|---|
| Agitador de tubos | FANEN, Brasil |
| Balança analítica | Mettler, Suíça |
| Balança semianalítica | Marte, Brasil |
| Banho maria | FANEN, Brasil |
| Bomba para CLAE | Shimadzu Corp., Japão |
| Campo aberto | Laboratório de Farmacologia dos Produtos Naturais da URCA, Brasil |
| Centrífuga refrigerada | Fisher Scientific, E.U.A. |
| Coluna para catecolaminas | Shimadzu Corp., Japão |
| Degaseificador | Shimadzu Corp., Japão |
| Detector de fluorescência | Shimadzu Corp., Japão |
| Detector eletroquímico | Shimadzu Corp., Japão |
| Eletrodo de carbono | Shimadzu Corp., Japão |
| Espectrofotômetro (modelo DU 640B) | Beckman, Fullerton |
| Homogeneizadores manuais | Bellico, E.U.A. |
| Integrador C-R6A | Shimadzu Corp., Japão |
| Labirinto em cruz elevado | Laboratório de Farmacologia dos Produtos Naturais da URCA, Brasil |
| Medidor de pH (modelo B374) | Miconal, Brasil |
| Micropipetas | Pedersen, Dinamarca |
| Nado forçado | Laboratório de Farmacologia dos Produtos Naturais da URCA, Brasil |
| Pipetas | – |
| Pré-coluna | Shimadzu Corp., Japão |
| <i>Rota-rod</i> | Insigth Ltda., Brasil |

4.3.4. Métodos

4.3.4.1. Parâmetros de experimentação e alocação dos animais

Os protocolos experimentais foram realizados seguindo as normas e procedimentos de biossegurança para biotérios (CARDOSO, 1998-2001) e bioéticas (BAZZANO, 2006), de modo a minimizar o sofrimento e o número de animais utilizados para realização dos experimentos.

Para realização dos testes toxicológicos, farmacológicos e neuroquímicos os animais foram separados aleatoriamente ($n = 3$ a 8 animais por grupo). Todos os testes foram realizados com os cuidadores/investigadores cegados, sempre no mesmo horário (12:00 às 17:00 horas), em sala de experimentação devidamente isolada com temperatura constante ($23 \pm 2^\circ \text{C}$) e com iluminação de pouca intensidade (lâmpada vermelha de 15V). Os animais foram previamente acondicionados na sala de experimentação 24h antes da realização do protocolo. Para realizar os tratamentos pela via oral os animais permaneciam com um jejum de 2-4 h. O fluxograma a seguir traz um panorama geral dos procolos experimentais realizados neste trabalho:



FONTE: Elaborada pelos autores, 2019.

Figura 12. Fluxograma dos métodos experimentais utilizados.

4.3.4.2. Toxicidade oral aguda e screening hipocrático

A avaliação da toxicidade oral aguda da administração do *trans,trans*-farnesol e a estimativa da Dose Letal Média (DL₅₀) seguiu a diretriz nº 423 da *Organization for Economic Cooperation and Development* – OECD para o teste de método de classe tóxica aguda (*Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method* da OECD 423, 2001). A estimativa da DL₅₀ foi um dos parâmetros utilizados para definir as doses do farnesol que a serem utilizadas na investigação do efeito comportamental e neuroprotetor (1%, 0,5% e 0,25% do valor da DL₅₀).

Os animais (camundongos fêmeas) foram organizados em grupos (n = 3 animais por grupo) e tratados com o *trans,trans*-farnesol (5.000 mg/kg, v.o.) e controle (salina – solução fisiológica 0,9% – 0,1 mL/10 g de massa corporal) (tabela 5). Após o tratamento os animais foram observados em intervalos regulares (5, 10, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 min) e, a partir de então, diariamente, até o décimo quarto dia. Todos os sinais de toxicidade, a época do seu aparecimento, foram registrados (quanto a sua intensidade, duração e progressão) seguindo o método do *screening* hipocrático proposto por Malone (1977). Tais sinais consistiam em: agressividade, contorção, coloração da urina, diâmetro da pupila, diarreia, ereção da cauda, fasciculações, grunhidos, aumento ou diminuição da micção, midríase, orelha (cianótica, hiperemiada ou pálida), passividade, reação de fuga, sialorréia, tremor da cauda, lacrimejamento, sudorese e coma, além de morte (quadro 5). Observações comportamentais sistemáticas através do *screening* hipocrático também serão realizadas. As intensidades dos efeitos serão tabuladas conforme os seguintes símbolos: A – Ausente; N – Normal; P – Presente; + - Baixa intensidade; ++ - Média intensidade; +++ - Alta intensidade; ↑ - Aumento e ↓ - Diminuição. As alterações encontradas na observação comportamental e exame clínico sistemático dos animais serão registrados em protocolo impresso com a lista de sinais a serem investigados (anexo 3). Ao final do experimento todos os animais foram eutanasiados para que os órgãos (cérebro, coração, pulmões, fígado, baço e rins) fossem extraídos e analisados macroscopicamente.

Para realização deste protocolo, preconiza-se o uso de camundongos fêmeas, uma vez que a literatura reporta que, embora haja pouca diferença na sensibilidade entre os sexos, nos casos em que as diferenças são observadas, as fêmeas geralmente são mais sensíveis aos sinais de toxicidade (LIPNICK et al., 1995).

Tabela 5 – Grupos e drogas administradas no modelo de convulsões induzidas por pilocarpina.

| Grupos (n=3) | Tratamento agudo (via de administração) |
|--------------|--|
| I | SALINA (v.o.) |
| II | FAR 5.000 mg/kg (v.o.) |

FAR = *trans,trans*-farnesol; v.o. = via oral.

Quadro 5 – Parâmetros avaliados no teste de toxicidade oral aguda e *screening* Hipocrático.

| AÇÕES | | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
| Estimulantes do SNC | Depressores do SNC | Autônômicos e Tóxicos |
| Coçar focinho | Analgesia | Contorção abdominal |
| Frequência respiratória aumentada | Ataxia | Cromodacriorréia |
| Hiperlocomção | Dispneia | Defecação |
| Lamber as patas | Frequência respiratória diminuída | Diarreia |
| Piloereção | Hipnose | Hipotermia |
| Tremores finos | Hipolocomção | Letargia |
| Tremores grosseiro | Perda da apreensão das patas | Micção aumentada |
| | Sedação | Midríase |
| | | Miose |
| | | Paralisia do trem posterior |
| | | Piloereção |
| | | Ptose palpebral |
| | | Salivação excessiva |
| | | Secreção brônquica |
| | | Sudorese |
| | | Morte |

4.3.4.3. Avaliação do efeito comportamental

4.3.4.3.1. Teste do labirinto em cruz elevado

O teste do labirinto em cruz elevado é considerado um dos principais modelos para avaliar compostos com propriedade ansiolítica (Pellow et al., 1985). O aparelho consiste em dois braços abertos (32 x 6 cm) e dois fechados (31 x 7 cm x 27 cm), ambos opostos, em forma de cruz, conectados por uma plataforma central (5 x 5 cm), elevado a uma altura de 45 cm do nível do chão (Lister, 1987).

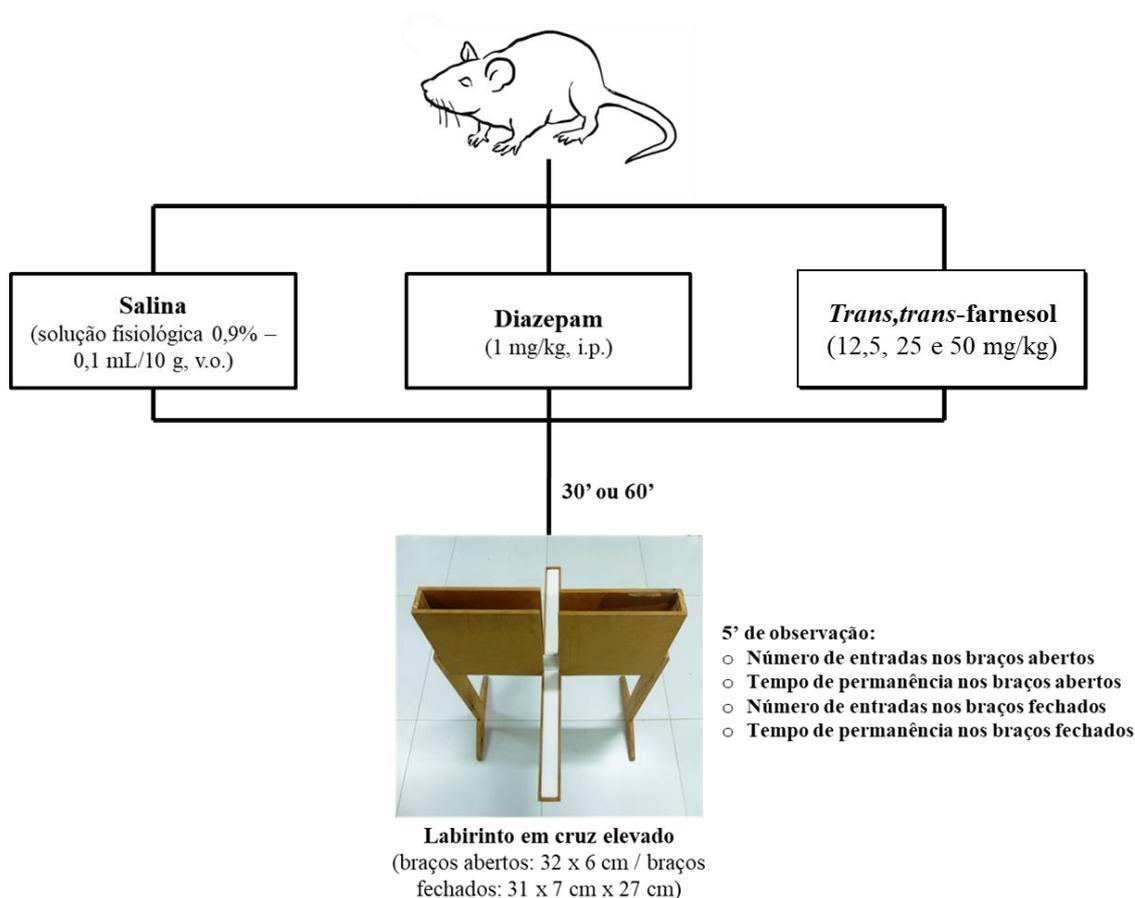
Os animais foram separados aleatoriamente em grupos (n = 6 animais por grupo) que receberam o tratamento com salina (solução fisiológica 0,9% – 0,1 mL/10 g), diazepam (1 mg/kg, i.p.) ou *trans,trans*-farnesol (12,5, 25 ou 50 mg/kg, v.o.) (tabela 6). Após tratamento, 30 min (para tratamento i.p.) e 1 h (para tratamento v.o.), os animais foram colocados individualmente no centro do aparelho com a cabeça voltada para um dos braços fechados.

Durante cinco minutos registrou-se os seguintes parâmetros: Número de entradas nos braços abertos (NEBA); Número de entradas nos braços fechados (NEBF); Tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) e Tempo de permanência nos braços fechados (TPBF) (figura 13). Em seguida, os mesmos animais serão imediatamente observados no teste do campo aberto (CA).

Tabela 6 – Grupos e drogas administradas no teste do labirinto em cruz elevado.

| Grupos (n=8) | Tratamento agudo (via de administração) |
|--------------|--|
| I | SALINA (v.o.) |
| II | DZP 1 mg/kg (i.p.) |
| III | FAR 12,5 mg/kg (v.o.) |
| IV | FAR 25 mg/kg (v.o.) |
| V | FAR 50 mg/kg (v.o.) |

DZP = Diazepam; FAR = *trans,trans*-farnesol; v.o. = via oral; i.p. = via intraperitoneal.



FONTE: Elaborada pelos autores, 2018.

Figura 13. Esquema representativo da investigação do efeito do *trans,trans*-farnesol sobre os parâmetros comportamentais no teste do labirinto em cruz elevado.

4.3.4.3.2. Teste do campo aberto

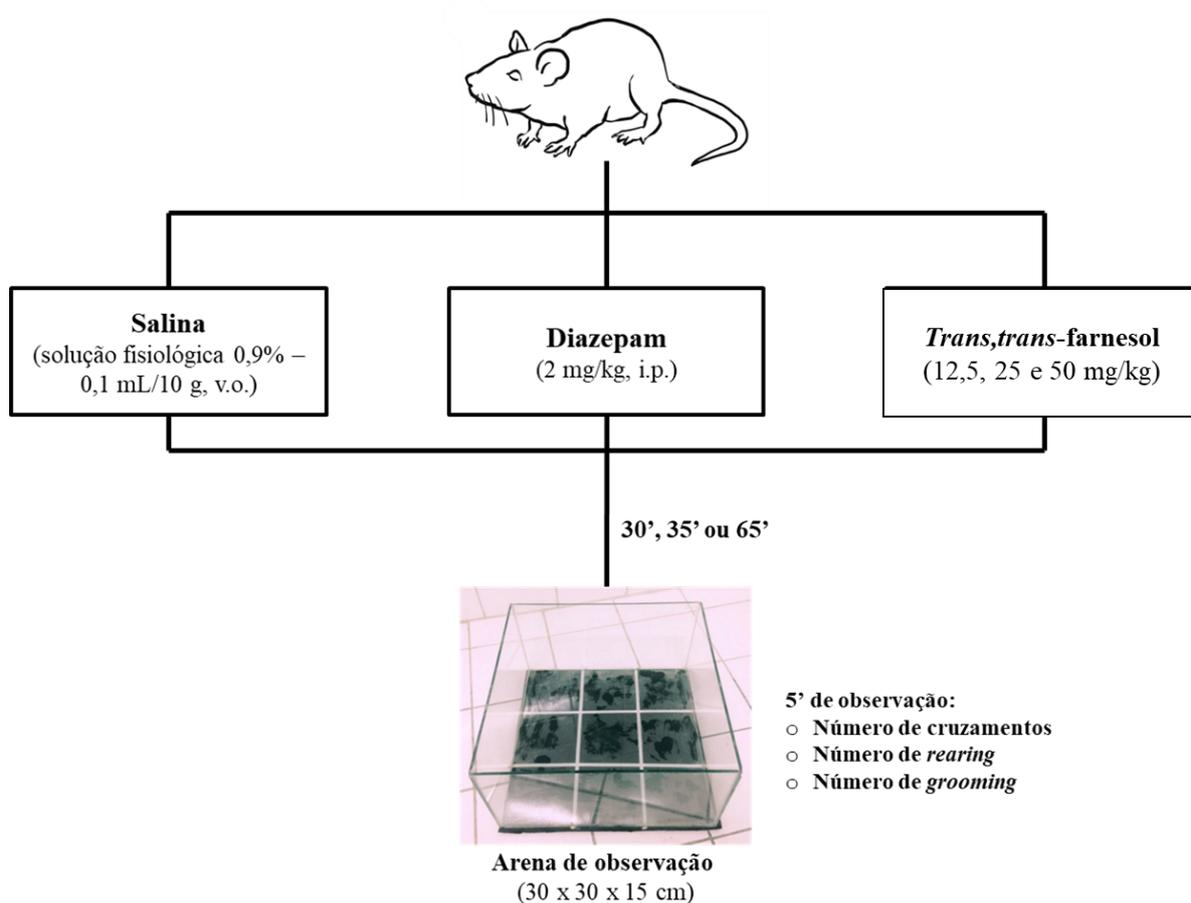
O campo é um dos aparelhos mais utilizado para a avaliação do efeito de drogas sobre a atividade locomotora. O campo aberto consiste em uma arena confeccionada de vidro transparente e piso preto (30 x 30 x 15 cm), dividida em nove quadrantes iguais (ARCHER, 1973).

Os animais foram separados aleatoriamente em grupos (n = 8 animais por grupo) que receberam o tratamento com salina (solução fisiológica 0,9% – 0,1 mL/10 g), diazepam (2 mg/kg, i.p.) ou *trans,trans*-farnesol (12,5, 25 ou 50 mg/kg, v.o.) (tabela 7). Após a avaliação no teste do labirinto em cruz elevado (com exceção do grupo diazepam 2 mg/kg, o qual foi adicionado somente no teste do campo aberto), cada animal foi colocado no centro do campo aberto e observado por 5 min. Os parâmetros comportamentais analisados foram: número de cruzamentos (NC – exploração horizontal, contando os quadrantes cruzados pelo animal, quando este se encontrava com as quatro patas dentro do mesmo quadrante), número de *rearing* (NR – exploração vertical, postura na qual o animal fica apoiado somente pelas patas traseiras) e número de *grooming* (NG – ação de autolimpeza) (figura 14). Em seguida, os mesmos animais serão imediatamente observados no teste do *Rota rod* (RR).

Tabela 7 – Grupos e drogas administradas no teste do campo aberto.

| Grupos (n=8) | Tratamento agudo (via de administração) |
|--------------|--|
| I | SALINA (v.o.) |
| II | DZP 2 mg/kg (i.p.) |
| III | FAR 12,5 mg/kg (v.o.) |
| IV | FAR 25 mg/kg (v.o.) |
| V | FAR 50 mg/kg (v.o.) |

DZP = Diazepam; FAR = *trans,trans*-farnesol; v.o. = via oral; i.p. = via intraperitoneal.



FONTE: Elaborada pelos autores, 2018.

Figura 14. Esquema representativo da investigação do efeito do *trans,trans*-farnesol sobre os parâmetros comportamentais no teste do campo aberto.

4.3.4.3.3. Teste do Rota-rod

O teste do *Rota rod* avalia o efeito do relaxamento muscular ou perda da coordenação motora produzidas por drogas em animais (CARLINI; BURGOS, 1979). Para esta avaliação, os camundongos foram selecionados em uma sessão de treino 24 h antes do experimento. Na sessão de treino, os animais foram colocados com as quatro patas sobre uma barra de 2,5 cm de diâmetro, elevada a 25 cm do piso. Os camundongos capazes de permanecer na barra giratória (16 rpm) por 3 min foram selecionados como aptos à realização do experimento.

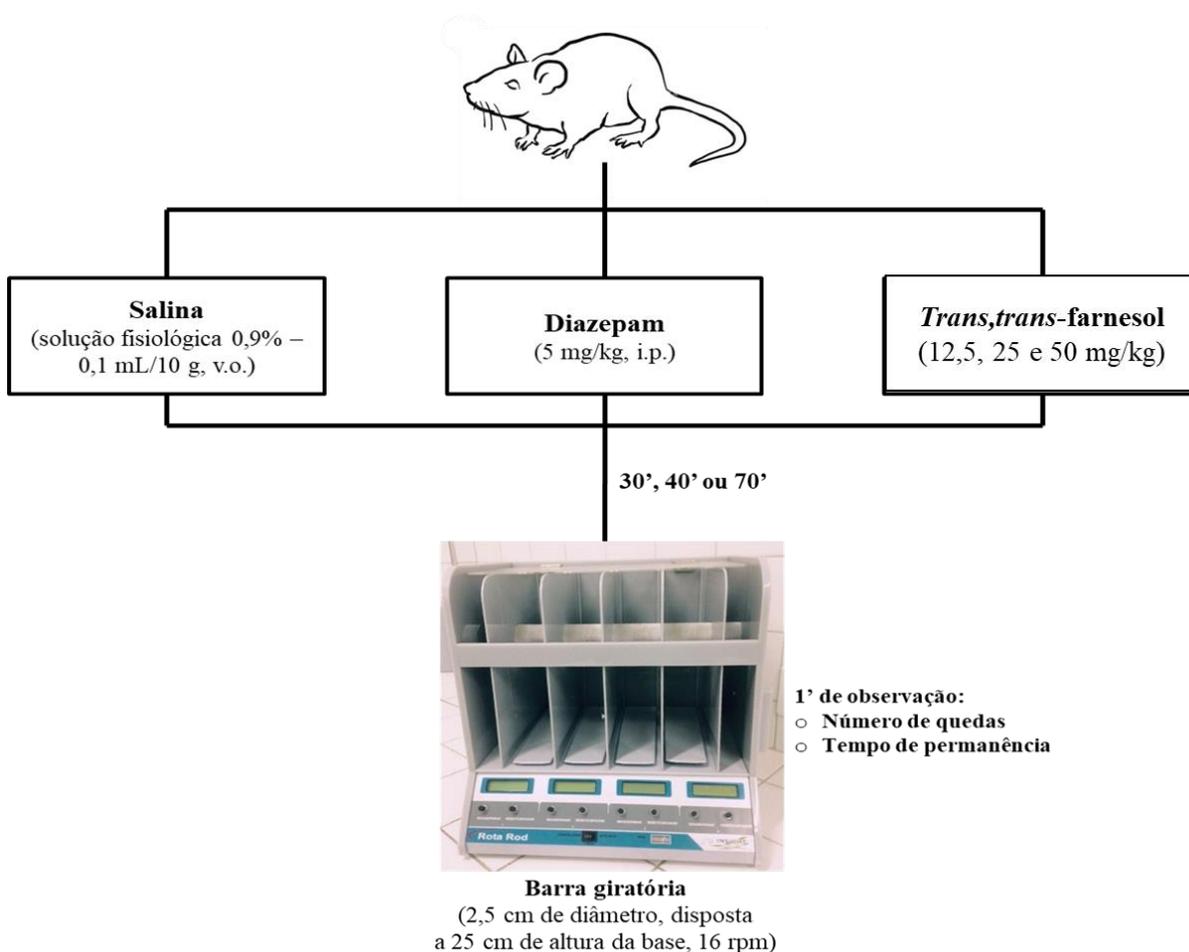
Os animais selecionados foram separados aleatoriamente em grupos ($n = 8$ animais por grupo) que receberam o tratamento com salina (solução fisiológica 0,9% – 0,1 mL/10 g), diazepam (5 mg/kg, i.p.) ou *trans,trans*-farnesol (12,5, 25 ou 50 mg/kg, v.o.) (tabela 8). Após a avaliação no teste do campo aberto (com exceção do grupo diazepam 5 mg/kg, o qual foi adicionado somente no teste do *Rota rod*), os animais foram testados

(individualmente) no aparelho *Rota rod* durante 1 min. Os parâmetros registrados foram: o número de quedas (NQ) sofridas (sendo o limite máximo de 3 quedas para cada animal) e o tempo de permanência (TP – em segundos) (DUNHAM; MIYA, 1957) (figura 15). Em seguida, os mesmos animais serão imediatamente observados no teste do nado forçado (NF).

Tabela 8 – Grupos e drogas administradas no teste do *Rota-rod*.

| Grupos (n=8) | Tratamento agudo (via de administração) |
|--------------|--|
| I | SALINA (v.o.) |
| II | DZP 5 mg/kg (i.p.) |
| III | FAR 12,5 mg/kg (v.o.) |
| IV | FAR 25 mg/kg (v.o.) |
| V | FAR 50 mg/kg (v.o.) |

DZP = Diazepam; FAR = *trans,trans*-farnesol; v.o. = via oral; i.p. = via intraperitoneal.



FONTE: Elaborada pelos autores, 2018.

Figura 15. Esquema representativo da investigação do efeito do *trans,trans*-farnesol sobre os parâmetros comportamentais no teste do *rota-rod*.

4.3.4.3.4. Teste do nado forçado

O teste do nado forçado foi realizado utilizando cilindros de vidro transparente (capacidade de total de 2 L) medindo 18 cm de altura e 14 cm de diâmetro, contendo 1,5 L de água a 27 °C. Trata-se do modelo animal mais amplamente utilizado para triagem de novas drogas antidepressivas (CRYAN; HOLMES, 2005).

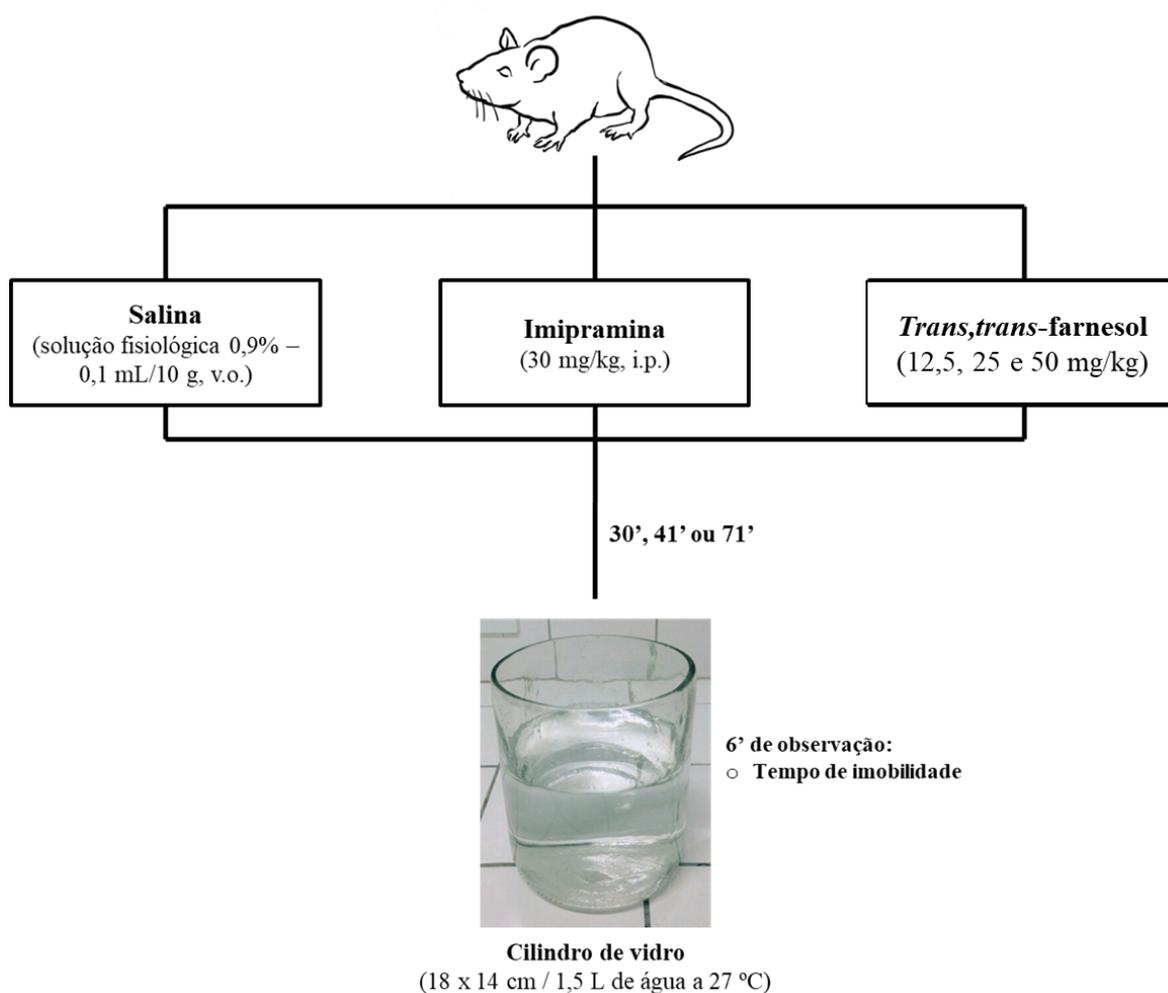
Quando camundongos são forçados a nadar, em um ambiente onde não há possibilidade de escapar, eventualmente param a luta e cedem à estressante e entram num estado de imobilidade. O comportamento de imobilidade é, portanto, considerado como um desespero comportamental, o qual pode ser interpretado como um estado depressivo (PORSOLT; LE PICHON; JALFRE, 1977).

Os animais foram separados aleatoriamente em grupos (n = 6 animais por grupo) que receberam o tratamento com salina (solução fisiológica 0,9% – 0,1 mL/10 g), imipramina (30 mg/kg, i.p.) ou *trans,trans*-farnesol (12,5, 25 ou 50 mg/kg, v.o.) (tabela 9). Após a avaliação no teste do *Rota rod* (com exceção do grupo imipramina 30 mg/kg, o qual foi adicionado somente no teste do nado forçado), cada animal foi colocado para nadar individualmente no cilindro por um tempo total de 6 min (o TI só foi contabilizado 2 min após o animal ser introduzido no nado forçado, sendo esse tempo destinado para que os animais se ambientassem ao ambiente novo e, assim, evitar a aquisição de resultados falsos positivos/negativos) (figura 16).

Tabela 9 – Grupos e drogas administradas no teste do nado forçado.

| Grupos (n=8) | Tratamento agudo (via de administração) |
|--------------|--|
| I | SALINA (v.o.) |
| II | IMIP 30 mg/kg (i.p.) |
| III | FAR 12,5 mg/kg (v.o.) |
| IV | FAR 25 mg/kg (v.o.) |
| V | FAR 50 mg/kg (v.o.) |

IMIP = Imipramina; FAR = *trans,trans*-farnesol; v.o. = via oral; i.p. = via intraperitoneal.



FONTE: Elaborada pelos autores, 2018.

Figura 16. Esquema representativo da investigação do efeito do *trans,trans*-farnesol sobre os parâmetros comportamentais no teste do nado forçado.

4.3.4.3.5. Convulsão induzida por pilocarpina

O efeito neuroprotetor do *trans,trans*-farnesol foi avaliado em camundongos machos submetidos ao estresse convulsivo induzido por pilocarpina, seguindo o método proposto por Turski e colaboradores (1984).

A pilocarpina (agonista colinérgico muscarínico) permite investigar o envolvimento de diferentes sistemas de neurotransmissores como moduladores da epileptogênese (CAVALHEIRO et al., 1991; MARINHO et al., 1998); podendo agir: a) através da ativação do sistema glutamatérgico, por meio dos receptores muscarínicos; b) alterando a atividade enzimática de sistemas antioxidantes; c) atuando no metabolismo dos fosfoinosítídeos; e d) influenciando, também, a participação de outros sistemas envolvidos no processo de neurotransmissão, tais como os sistemas: noradrenérgico, dopaminérgico,

serotoninérgico e GABAérgico (FREITAS, 2011). Este modelo provoca convulsões de início focal, sendo indicado como um importante modelo a ser utilizado no *screening* para a descoberta de fármacos anticonvulsivante úteis no tratamento da epilepsia, bem como para testar os efeitos sobre comorbidades decorrentes das crises convulsivas ou de estados epilépticos resistentes aos efeitos dos medicamentos (GALANOPOULOU et al., 2012).

A princípio os camundongos machos foram separados aleatoriamente em grupos (n = 8 animais por grupo) que receberam o tratamento com salina (solução fisiológica 0,9% – 0,1 mL/10 g), diazepam (2 mg/kg, i.p.) ou *trans,trans*-farnesol (12,5, 25 ou 50 mg/kg, v.o.). Após tratamento, 30 min (para tratamento i.p.) e 1 h (para tratamento v.o.), cada animal recebeu uma injeção intraperitoneal de pilocarpina (350 mg/kg) (tabela 10).

Tabela 10 – Grupos e drogas administradas no modelo de convulsões induzidas por pilocarpina.

| Grupos (n=8) | Tratamento agudo (via de administração) |
|--------------|--|
| I | SALINA (v.o.) + PILO 350 mg/kg (i.p.) |
| II | DZP 2 mg/kg (i.p.) + PILO 350 mg/kg (i.p.) |
| III | FAR 12,5 mg/kg (v.o.) + PILO 350 mg/kg (i.p.). |
| IV | FAR 25 mg/kg (v.o.) + PILO 350 mg/kg (i.p.). |
| V | FAR 50 mg/kg (v.o.) + PILO 350 mg/kg (i.p.) |

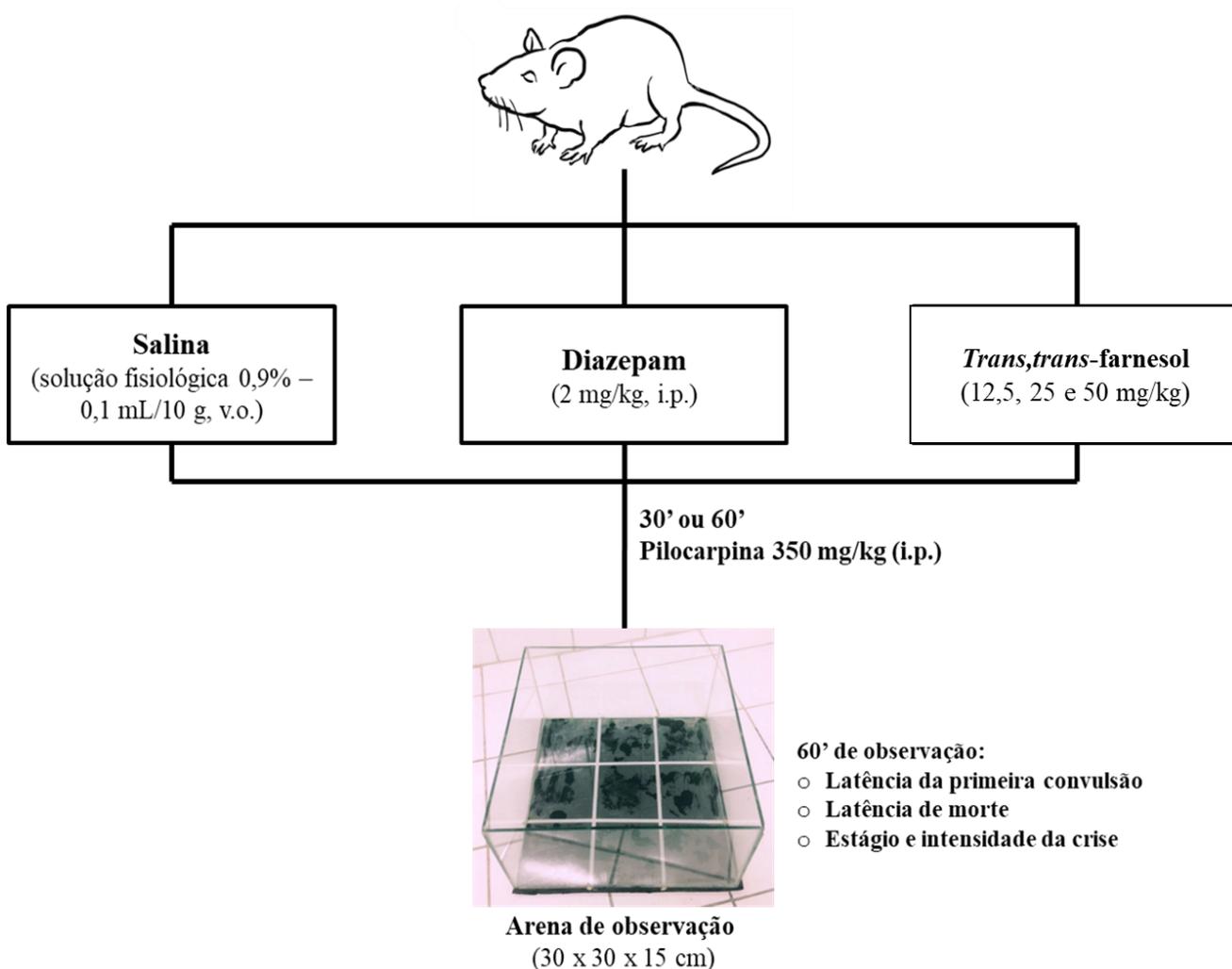
PILO = Pilocarpina; DZP = Diazepam; FAR = *trans,trans*-farnesol; v.o. = via oral; i.p. = via intraperitoneal.

A análise do efeito anticonvulsivante deu-se pela observação dos animais (individualmente) por um período de 1 h. Os parâmetros analisados foram: a) latência da primeira convulsão (tempo decorrido entre a administração de pilocarpina até a primeira convulsão clônica ou tônico-clônica, em segundos), b) latência de morte dos animais (tempo decorrido da administração do pilocarpina até a morte do animal), c) estágios e intensidade das crises convulsivas com base na escala de Racine 1972 (adaptada por Lüttjohann, Fabene & Van-Luijtelaaar, 2009, quadro 6); e d) percentual de sobrevivência após 24 h (figura 17).

Quadro 6 – Escala comportamental para avaliar o estágio e intensidade de crises convulsivas.

| Estágio | Comportamento |
|---------|---|
| 1 | Imobilidade (parada comportamental súbita e/ou olhar fixo) |
| 2 | Automatismos Orofaciais (movimentos repetidos com a face ou focinho e olhos) |
| 3 | Mioclonias de cabeça e pescoço |
| 4 | Clonia em posição sentada |
| 5 | Convulsão clônica e/ou tônico-clônica em decúbito ventral |
| 6 | Convulsão clônica e/ou tônico-clônica em decúbito lateral e/ou elevação e queda |

FONTE: adaptada de Lüttjohann, Fabene & Van-Luijtelaaar (2009).



FONTE: Elaborada pelos autores, 2018.

Figura 17. Esquema representativo da investigação do efeito do *trans,trans*-farnesol sobre os parâmetros comportamentais no modelo de convulsões induzidas por pilocarpina.

4.3.4.4. Possíveis mecanismos de ação responsáveis pelo efeito anticonvulsivante e neuroprotetor do *trans,trans*-farnesol

4.3.4.4.1. Participação do sistema colinérgico - Tremores induzidos por oxotremorina

Para verificar o possível envolvimento do sistema colinérgico no efeito anticonvulsivo e neuroprotetor do *trans,trans*-farnesol foi realizado o teste dos tremores induzidos por oxotremorina (agonista colinérgico muscarínico).

A oxotremorina é uma droga agonista dos receptores colinérgicos muscarínicos que apresenta atividade tremorigênica, a qual parece ser mediada principalmente através da estimulação central do sistema colinérgico (BEBBINGTON; BRIMBELCOMBE; SHAKESHAFT, 1966). Substâncias que amenizam ou cessam a intensidade dos tremores induzidos por oxotremorina possivelmente atuam como um antagonista dos receptores colinérgicos muscarínicos.

O experimento foi realizado segundo a técnica descrita por Fukuzaki, Kamenosomo & Nagata (2000). Decorridos 30 min da administração via intraperitoneal da atropina (10 mg/kg – antagonista colinérgico muscarínico) e 1 h da administração via oral da salina (solução fisiológica 0,9% – 0,1 mL/10 g) ou do *trans,trans*-farnesol (12,5 mg/kg), cada grupo (n = 8 animais por grupo) recebeu uma injeção intraperitoneal de oxotremorina (0,5 mg/kg) (tabela 11) e teve seu comportamento avaliado 10, 20 e 30 min após a administração deste último composto (figura 18). A intensidade dos tremores apresentados pelos animais foi avaliada de acordo com a escala descrita por Coward, Doggett & Sayers (1977) (quadro 7).

Tabela 11 – Grupos e drogas administradas no modelo dos tremores induzidos por oxotremorina.

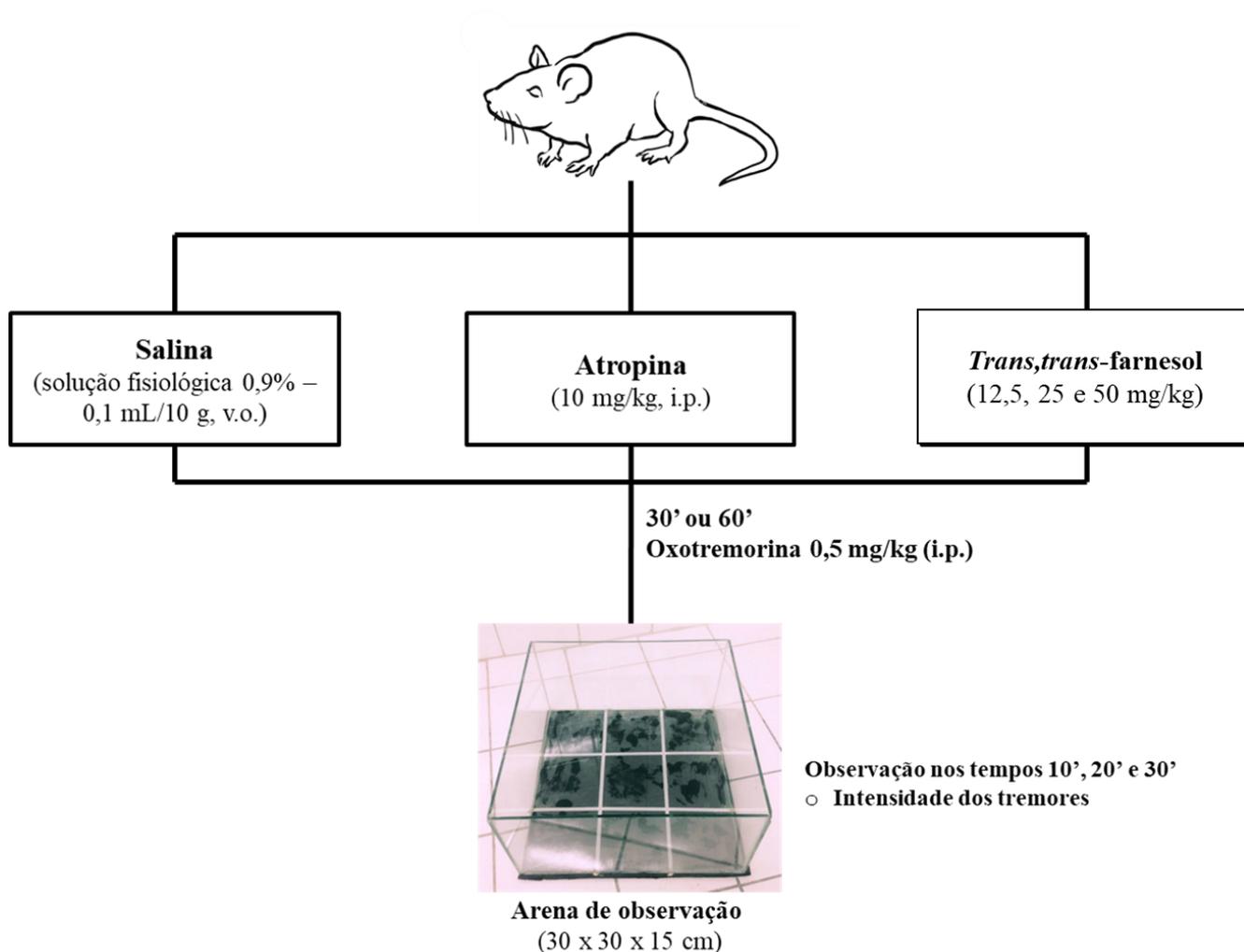
| Grupos (n=8) | Tratamento agudo (via de administração) |
|--------------|--|
| I | SALINA (v.o.) + OXO 0,5 mg/kg (i.p.) |
| II | ATROP 10 mg/kg (i.p.) + OXO 0,5 mg/kg (i.p.) |
| III | FAR 12,5 mg/kg (v.o.) + OXO 0,5 mg/kg (i.p.) |

OXO = Oxotremorina; ATROP = Atropina; FAR = *trans,trans*-farnesol; v.o. = via oral; i.p. = via intraperitoneal.

Quadro 7 – Escala de intensidade dos tremores.

| Escala | Intensidade |
|--------|--|
| 0 | Ausência de tremores. |
| 1 | Tremores fracos e isolados. |
| 2 | Tremores moderados e pouco persistentes. |
| 3 | Tremores intensos e persistentes. |

FONTE: adaptada de Coward, Doggett & Sayers (1977).



FONTE: Elaborada pelos autores, 2018.

Figura 18. Esquema representativo da investigação do efeito do *trans,trans*-farnesol no modelo de tremores induzidos por oxotremorina.

4.3.4.4. 2. Participação do sistema monoaminérgico – Dosagem dos níveis de monoaminas

A determinação dos níveis de monoaminas foi realizada pela técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE. Os animais foram divididos em três

grupos (n = 6 animais por grupo): o primeiro grupo recebeu o tratamento com salina (solução fisiológica 0,9% – 0,1 mL/10 g, v.o.), o segundo grupo recebeu o tratamento com salina (solução fisiológica 0,9% – 0,1 mL/10 g, v.o.) associado com pilocarpina (350 mg/kg, i.p., 1 h após o tratamento com salina) e o terceiro grupo recebeu o tratamento com *trans,trans*-farnesol (12,5 mg/kg, v.o.) associado com pilocarpina (350 mg/kg, i.p., 1 h após o tratamento com *trans,trans*-farnesol) (tabela 12). Após 1 h da indução das convulsões por pilocarpina, ou imediatamente após ao óbito, os animais foram decapitados com tesoura cirúrgica e, imediatamente, o encéfalo foi removido e colocado sobre o gelo para retirada do corpo estriado (CE) com auxílio de uma pinça reta de microdissecação (figura 19).

As amostras obtidas foram envolvidas em papel alumínio, identificadas, pesadas e mantidas a temperatura de -70 °C até o momento da análise do conteúdo de monoaminas.

Para a obtenção dos homogenatos de tecidos cerebral, as amostras de tecido (CE) foram homogeneizadas a 10 (p/v) em solução de ácido perclórico (HClO₄) 0,1 M e centrifugadas por 30 min em centrífuga refrigerada (4 °C) a 15.000 rpm. Após esse processo, as amostras foram filtradas e mantidas a 4 °C até o momento da análise.

Para a análise química uma alíquota de 20µL do sobrenadante foi injetada no equipamento CLAE de marca Shimadzu, com detecção eletroquímica. Para a separação das monoaminas foi utilizada uma coluna CLC-ODS (M) de 25 cm, com diâmetro de 4,6 mm e diâmetro de partícula de 3 µm. A fase móvel foi preparada com solução tampão de ácido cítrico (0,163 M, pH 3,0), contendo ácido octanosulfônico sódico 0,69 M (SOS) como reagente formador do par iônico (acetonitrila 4% v/v e tetrahydrofurano 1,7% v/v). Para preparação da solução da fase móvel, foram pesados 17,75 g de ácido cítrico, o qual foi dissolvido com água mili-Q para um volume de 400 mL com pH ajustado para 3,0 com a utilização do hidróxido de sódio 12,5 M. A esta solução foram adicionados 75 mg de SOS e o volume acrescido para 471,5 mL com água mili-Q. A solução preparada foi filtrada, degaseificada e acrescentada à 20 mL de acetonitrila e 10 mL de tetrahydrofurano, completando um volume final de 501,5 mL.

Os padrões utilizados foram preparados em concentração final de 4 ng de DA - dopamina, NE – norepinefrina/noradrenalina ou 5-HT – serotonina (Sigma Chemical, Co, USA). A partir da altura ou área dos picos destes padrões, as amostras foram calculadas no programa Microsoft Excel® e os resultados expressos em ng/g de tecido, conforme equação abaixo:

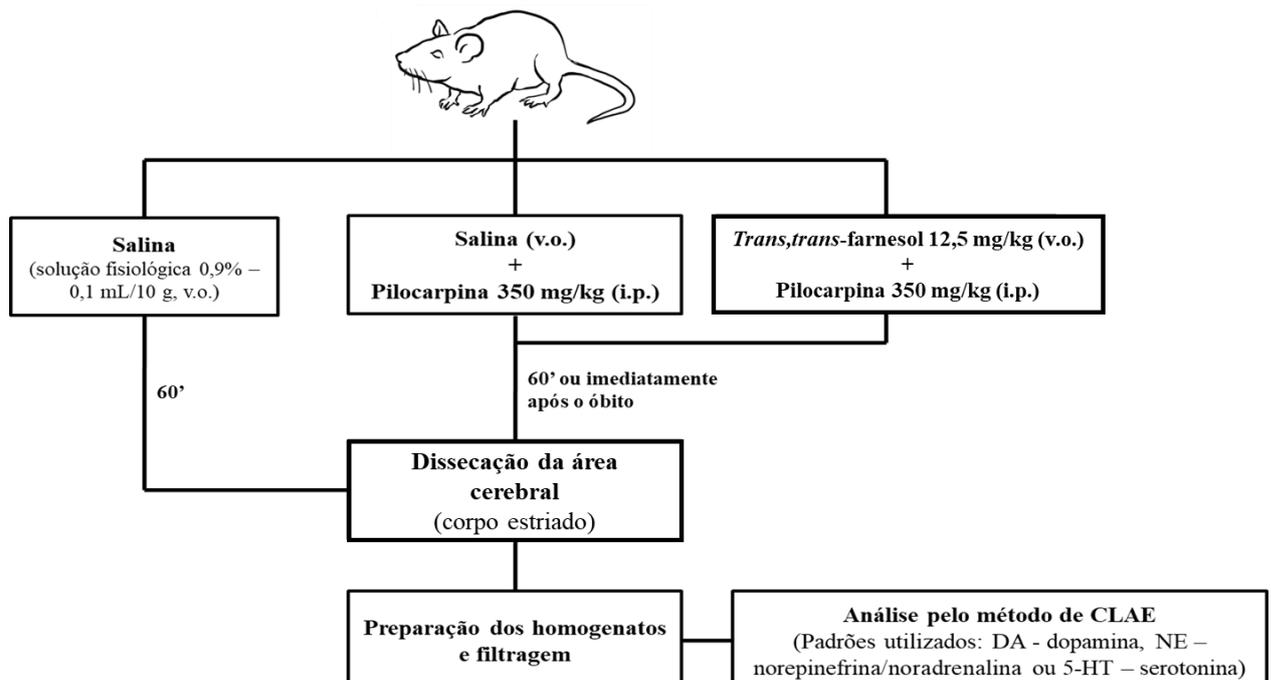
$$\frac{ng}{g} \text{ de tecido} = \frac{\left(k \cdot \frac{PA}{PP}\right) \cdot VA}{VI \cdot PA}$$

- k = constante (4);
- PA = pico da amostra;
- PP = pico do padrão (DA, NA ou 5-HT₃);
- VA = volume da amostra (μL);
- VI = volume injetado (μL);
- PA = peso da área (mg).

Tabela 12 – Grupos e drogas administradas nos ensaios neuroquímicos para dosar os níveis de monoaminas.

| Grupos (n=6) | Tratamento agudo (via de administração) |
|--------------|--|
| I | SALINA (v.o.) |
| II | SALINA (v.o.) + PILO 350 mg/kg (i.p.) |
| III | FAR 12,5 mg/kg (v.o.) + PILO 350 mg/kg (i.p.). |

PILO = Pilocarpina; FAR = *trans,trans*-farnesol; v.o. = via oral; i.p. = via intraperitoneal.



FONTE: Elaborada pelos autores, 2018.

Figura 19. Esquema representativo da investigação do efeito do *trans,trans*-farnesol nos ensaios neuroquímicos para dosar os níveis de monoaminas.

4.3.4.4.3. Participação da atividade antioxidante – Concentração de substâncias reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARS) e nitrito

A quantificação do grau de lipoperoxidação nas áreas cerebrais foi realizada através da determinação dos níveis de substâncias reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARs), seguindo o método de Draper & Hadley (1990).

A princípio foi realizada uma curva-padrão de malonilaldeído (MDA). A partir da solução padrão de MDA (1 mg/mL), foi preparado 4mL (em triplicata) de soluções a 6,25; 12,5; 25; 50 e 100 µg/mL. O branco foi feito com água destilada (4 mL) e a cada tudo das soluções de MDA foi acrescentado 4 mL de tampão Tris HCl 0,4M (pH 8,9). Adicionou-se ainda a cada tubo 0,1 mL de DTNB 0,01 M (ácido 5,5-ditio-bis-2-nitrobenzóico) e feita a leitura da absorbância a 532 nm após 1 min da adição do DTNB, e determinada a equação da curva padrão de MDA.

Após essa etapa inicial, os animais foram divididos em três grupos (n = 8 animais por grupo): o primeiro grupo recebeu o tratamento com salina (solução fisiológica 0,9% – 0,1 mL/10 g, v.o.), o segundo grupo recebeu o tratamento com salina (solução fisiológica 0,9% – 0,1 mL/10 g, v.o.) associado com pilocarpina (350 mg/kg, i.p., 1 h após o tratamento com salina) e o terceiro grupo recebeu o tratamento com *trans,trans*-farnesol (12,5 mg/kg, v.o.) associado com pilocarpina (350 mg/kg, i.p., 1 h após o tratamento com *trans,trans*-farnesol) (tabela 13). Após 1 h da indução das convulsões por pilocarpina, ou imediatamente após ao óbito, os animais foram decaptados com tesoura cirúrgica e, imediatamente, o encéfalo foi removido e colocado sobre o gelo para retirada do hipocampo (HC) com auxílio de uma pinça reta de microdissecação (figura 20).

Após a retirada do HC, foram preparados homogenatos das áreas cerebrais a 10% (p/v) em solução tampão de cloreto de potássio (KCl) 1,15%. Após esse processo, foram retirados 50 µL do homogeneizado e colocados um tubo de ensaio, os quais foram misturados com 200 µL de solução de ácido tiobarbitúrico a 0,6% e 200 µL de solução de ácido tricloroacético a 10%. Em seguida, esta mistura foi agitada e mantida por 15 min em banho-maria (temperatura entre 95-100 °C). Decorrido este tempo, a solução foi resfriada em gelo (até atingir a temperatura ambiente) e centrifugada a 4.000 rpm durante 5 min. Para medir a absorbância, alíquotas de 100 µL foram retiradas, colocadas nos poços de placas de Elisa (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* – Ensaio de Imunoabsorção Enzimática) e medidas com um comprimento de onda de 540 nm. A concentração de MDA foi determinada a partir de uma curva padrão, sendo os resultados expressos em µmol de MDA/g de tecidos.

Para realizar a dosagem dos níveis de nitrito no HC, foi realizada, a princípio, uma curva padrão da seguinte forma: uma solução mãe (10 mM) foi preparada com 6,9 mg de nitrito de sódio (NaNO_2) e dissolvidos em 10 mL de água destilada. Em seguida, foram feitas as diluições em série, ficando em: 1 - 1.000 μM , 2 - 100 μM , 3 - 50 μM , 4 - 25 μM , 5 - 12,5 μM , 6 - 6,25 μM , 7 - 3,12 μM e 8 - 1,56 μM . Após esse processo, foi realizada uma equação da reta para o cálculo das concentrações (GREEN et al., 1982).

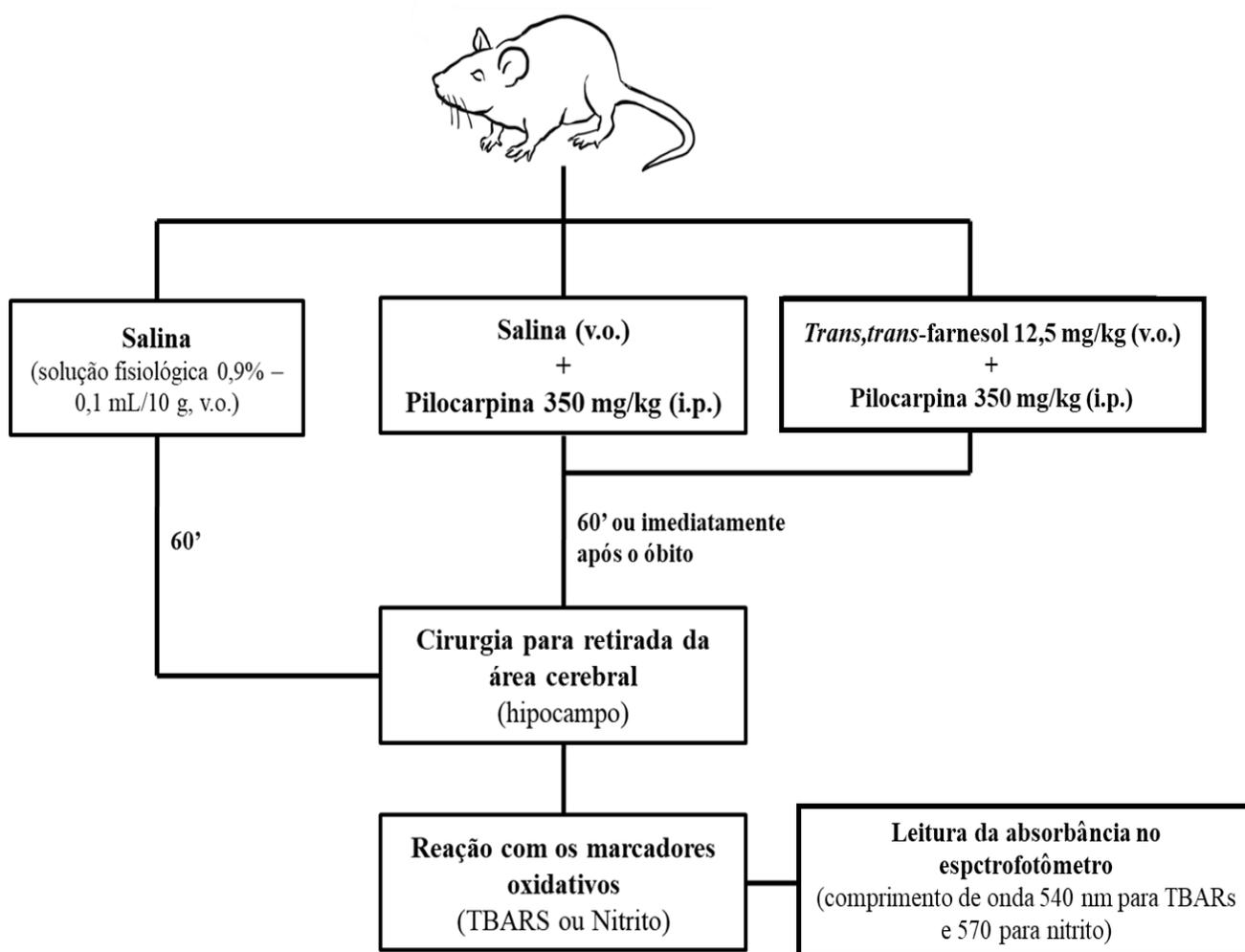
Após essa etapa inicial, os animais foram divididos em três grupos (n = 8 animais por grupo): o primeiro grupo recebeu o tratamento com salina (solução fisiológica 0,9% – 0,1 mL/10 g, v.o.), o segundo grupo recebeu o tratamento com salina (solução fisiológica 0,9% – 0,1 mL/10 g, v.o.) associado com pilocarpina (350 mg/kg, i.p., 1 h após o tratamento com salina) e o terceiro grupo recebeu o tratamento com *trans,trans*-farnesol (12,5 mg/kg, v.o.) associado com pilocarpina (350 mg/kg, i.p., 1 h após o tratamento com *trans,trans*-farnesol) (tabela 13). Após 1 h da indução das convulsões por pilocarpina, ou imediatamente após ao óbito, os animais foram decaptados com tesoura cirúrgica e, imediatamente, o encéfalo foi removido e colocado sobre o gelo para retirada do HC com auxílio de uma pinça reta de microdissecação.

Após a retirada do HC, foram preparados homogenatos das áreas cerebrais a 10% (p/v) em solução tampão de cloreto de potássio (KCl) 1,15%. Em seguida, o homogeneizado foi centrifugado a 4.000 rpm durante 10 min. Decorrido este tempo, foram coletados 100 μL do sobrenadante, os quais foram acrescidos a 100 μL do reagente de Griess modificado (0,04 g/mL) a temperatura ambiente por 10 min. Para medir a absorbância, alíquotas de 100 μL foram retiradas, colocadas nos poços de placas de Elisa e medidas com um comprimento de onda de 570 nm (figura 20). A concentração de nitrito foi determinada a partir de uma curva padrão de NaNO_2 , sendo os resultados expressos em $\mu\text{mol/g}$ de tecidos.

Tabela 13 – Grupos e drogas administradas nos ensaios neuroquímicos para dosar as concentrações de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e nitrito.

| Grupos (n=8) | Tratamento agudo (via de administração) |
|--------------|--|
| I | SALINA (v.o.) |
| II | SALINA (v.o.) + PILO 350 mg/kg (i.p.) |
| III | FAR 12,5 mg/kg (v.o.) + PILO 350 mg/kg (i.p.). |

PILO = Pilocarpina; FAR = *trans,trans*-farnesol; v.o. = via oral; i.p. = via intraperitoneal.



FONTE: Elaborada pelos autores, 2018.

Figura 20. Esquema representativo da investigação do efeito do *trans,trans*-farnesol nos ensaios neuroquímicos para dosar as concentrações de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e nitrito.

4.3.4.5. Procedimentos estatísticos

As análises dos dados e testes de hipóteses foram realizadas através do uso da estatística descritiva e inferencial utilizando o *software GraphPad Prism 6.0*. O teste de *Kolmogorov-Smirnov* foi utilizado para verificar a normalidade dos dados. A homogeneidade das variâncias foi verificada pelo teste de *Bartlett*. Os dados que apresentaram uma distribuição paramétrica foram analisados pelo teste ANOVA (análise de variância) de uma via seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Dunnnett (post hoc)* ou *Tukey (post hoc)* ou pelo teste de ANOVA de duas vias seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Bonferroni (post hoc)*. Os dados que não apresentaram uma distribuição paramétrica foram analisados pelo teste *Kruskal-Wallis* seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Dunn*.

Em todos os testes estatísticos (paramétricos e não paramétricos) o nível de significância adotado para rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 (5 %). Valores de prova (p) $\leq 0,05$ foram considerados significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Revisão sistemática das propriedades farmacológicas e toxicológicas do farnesol

Na revisão sistemática procurou-se por estudos que avaliaram os efeitos farmacológicos e toxicológicos do farnesol. A pesquisa primária identificou 414 artigos: 390 com a combinação “farnesol and pharmacological effect” e 24 com a combinação “farnesol and toxicology”. Desse total foram encontrados 27 artigos na MEDLINE, 326 na PUBMED, 40 na SCOPUS e 21 na Web of Science. Após a triagem, 102 artigos preencheram os critérios de inclusão: 5 da MEDLINE, 83 da PUBMED, 8 da SCOPUS e 6 da Web of Science. Do total de estudos que atenderam aos critérios de inclusão, 17 foram indexados em duas ou mais bases de dados e foram considerados apenas uma vez e 9 foram excluídos após leitura do texto completo; resultando em 76 artigos selecionados para análise final (figura 21).

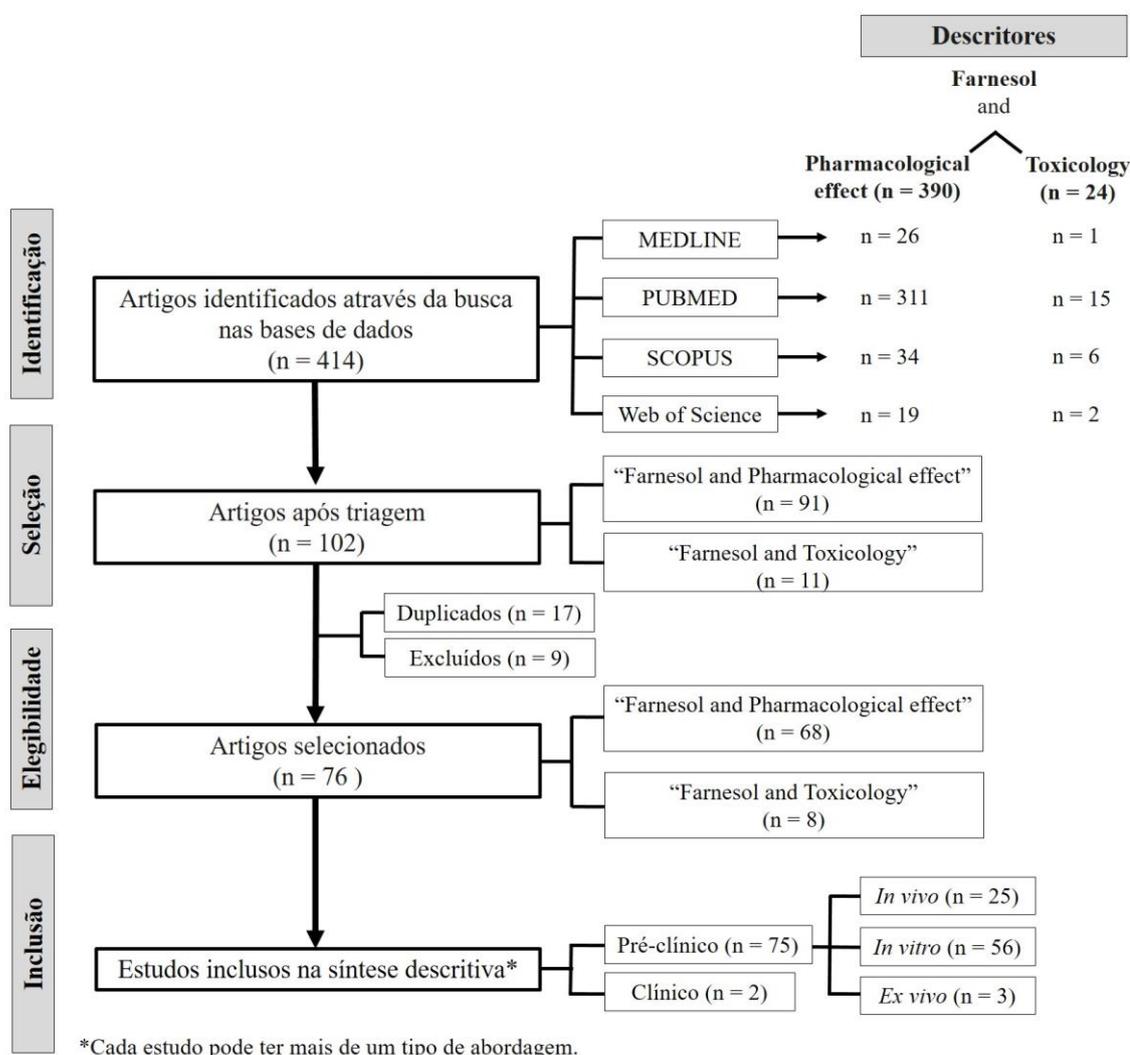


Figura 21. Resultados da pesquisa e seleção dos artigos.

Quanto ao tipo dos estudos, 75 eram do tipo pré-clínico e 2 do tipo clínico, sendo que alguns estudos tiveram mais de um tipo de abordagem. Nos estudos pré-clínicos os ensaios *in vitro* tiveram uma maior predominância (n = 56) do que os ensaios *in vivo* (n = 25) e *ex vivo* (n = 3) (figura 1). Na figura 22 é possível observar que o ano de 2015 foi o que apresentou um maior número de publicações (n = 9).

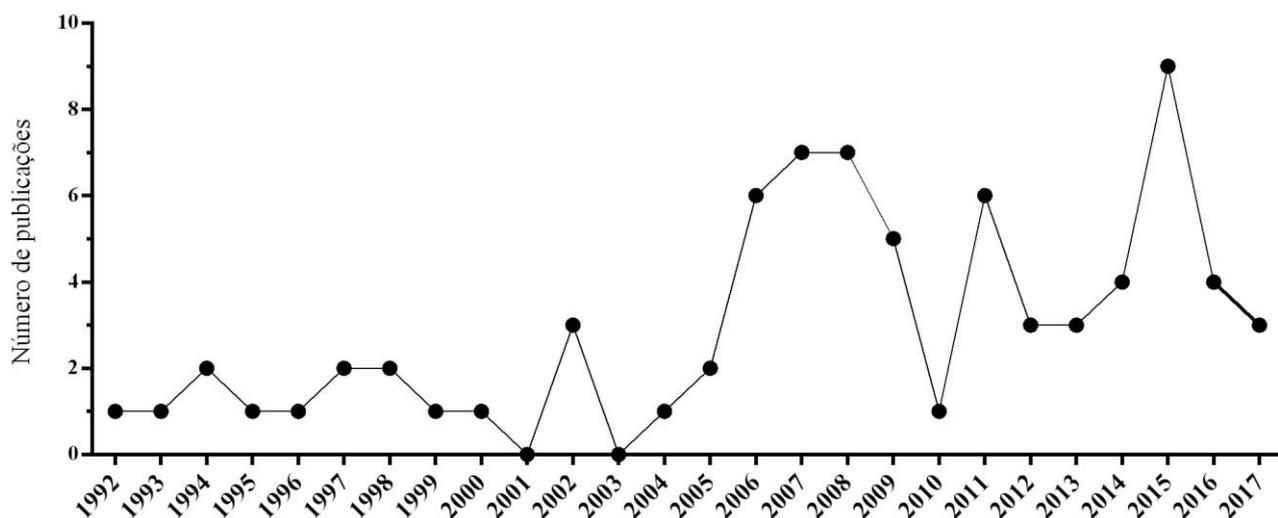


Figura 22. Número de publicações em cada ano.

Os dados extraídos das publicações inclusas na RS foram separados e agrupados em cinco categorias, de acordo com os efeitos do farnesol: 1) Efeito antimicrobiano; 2) Efeito antitumoral; 3) Efeitos nos sistemas nervoso e cardiovascular; 4) Efeitos metabólicos e no sistema hepático e 5) Outros efeitos farmacológicos e toxicológicos. Quando agrupados em categorias, observou-se que 51,32% das publicações (n = 39) investigaram o efeito antimicrobiano do farnesol, 22,37% (n = 17) o efeito antitumoral, 13,16% (n = 10) os efeitos nos sistemas nervoso e cardiovascular, 5,26% (n = 4) os efeitos metabólicos e no sistema hepático e 7,89% (n = 6) avaliaram outros efeitos farmacológicos e toxicológicos (tais como: atividade anti-inflamatória e antioxidante). Ainda na tabela 1 é possível observar que 56 estudos administraram a substância diretamente no local da ação (*in situ*), 17 fizeram uso da via oral (v.o.), 6 utilizaram a via intraperitoneal (i.p.) e 4 aplicaram o produto topicamente, em diferentes doses e/ou concentrações.

5.1.1. Efeito antimicrobiano

Dos artigos inclusos na RS observa-se que mais de 50% dos estudos investigaram os efeitos antimicrobianos – atividade antibacteriana, antifúngica e antiprotozoária – do farnesol, sozinho e/ou associado com fármacos antibacterianos e antifúngicos já disponíveis no mercado. Observou-se que a maioria dos estudos incluídos nesta categoria não especifica o tipo de isômero de farnesol utilizado na pesquisa (tabela 14).

Na avaliação da ação antiprotozoária, somente o trabalho de Rodrigues Goulart e colaboradores (2004) investigou o efeito do farnesol (isômero não especificado) em parasitas (clones de *Plasmodium falciparum*). Neste estudo os autores observaram que o farnesol (isômero não especificado) apresenta uma IC₅₀ de 60 µM e inibi a biossíntese de dolichol nos estágios trofozoítos e esquizontes destes parasitas, resultando na diminuição da incorporação de precursores isoprenilos em proteínas (RODRIGUES GOULART et al., 2004).

Referente a atividade antibacteriana há uma predominância de estudos que avaliaram o efeito do farnesol frente a cepas de bactérias do tipo Gram-positivas, sendo as cepas de espécies pertencentes ao gênero *Staphylococcus* as mais utilizadas pelas pesquisas inclusas na RS. Esta predominância pode ser justificada pelo farnesol ser uma substância encontrada em produtos naturais; uma vez que na literatura há relatos de que as bactérias do tipo Gram-negativas são mais resistentes à ação de produtos de origem natural (VERAS et al., 2017). Holley & Patel (2005) e Oladimeji, Orafidiya & Okeke (2004) afirmam que esta resistência, das bactérias Gram-negativas aos produtos naturais, se dá pela capacidade da membrana presente nessas bactérias formarem um envoltório complexo capaz de protegê-las contra a ação antibacteriana desses agentes. Esta informação corrobora com os dados obtidos por Kaneko e colaboradores (2011), onde os autores avaliaram o efeito do farnesol (isômero não especificado) frente a diferentes tipos de cepas de bactérias do tipo Gram-positivas – *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. xylosum*, *E. faecalis* e *E. faecium* – e do tipo Gram-negativas – *E. coli* e *P. aeruginosa* –; e observaram que o farnesol foi eficaz em inibir o crescimento das bactérias Gram-positivas, porém não foi eficaz quando avaliado frente as cepas do tipo Gram-negativas.

Por outro lado, estudos demonstram que diferentes isômeros de farnesol (tais como: *trans*-farnesol e *trans,trans*-farnesol) são capazes de inibir o crescimento de bactérias Gram-negativas (ABDEL-RHMAN; EL-MAHDY; EL-MOWAFY, 2015; CASTELO-BRANCO et al., 2016; GONÇALVES et al., 2011) e que o *trans,trans*-farnesol promove uma redução na produção de fatores de virulências (por exemplo: hemolisina) (ABDEL-RHMAN;

EL-MAHDY; EL-MOWAFY, 2015). No estudo de Castelo-Branco e colaboradores (2016), além apresentar atividade antibacteriana contra os biofilmes maduros de *B. pseudomallei*, observou-se que o farnesol (isômero não especificado) promoveu um efeito sinérgico quando associado com os antibióticos rotineiramente utilizados no tratamento de doenças advindas da infecção por este tipo de patógeno (são eles: amoxicilina, ceftazidima, doxiciclina e sulfametoxazol-trimetoprima). Os autores sugerem que este sinergismo pode ser decorrente da ação do farnesol na interrupção da matriz polimérica extracelular dos biofilmes.

Quanto aos efeitos do farnesol em bactérias do tipo Gram-positivas, é possível observar que esta substância possui ação antibacteriana frente a diferentes tipos e formas de bactérias inclusas nesta classificação, tais como: biofilmes (FERNANDES et al., 2016; GOMES et al., 2011a; HOREV et al., 2015; MOGEN et al., 2015; UNNANUNTANA et al., 2009), formas planctônicas (HOREV et al., 2015), isolados clínicos (AKIYAMA et al., 2002) e bactérias resistentes à antibióticos (BHATTACHARYYA et al., 2014; KURODA; NAGASAKI; OHTA, 2007).

Concernente aos mecanismos de ação envolvidos na atividade antibacteriana do farnesol (isômero não especificado) frente as bactérias do tipo Gram-positivas, estudos demonstram que esta substância causa danos na parede celular destas bactérias (CERCA et al., 2012; GOMES et al., 2011a; KURODA; NAGASHI; OHTA, 2007), sendo esta ação decorrente da perda do suporte lipídico, o qual é essencial na biossíntese da membrana celular (KANEKO et al., 2011; KURODA; NAGASHI; OHTA, 2007). Este comprometimento a parede celular promove a liberação do conteúdo celular e tornam as bactérias mais susceptíveis a ação dos antibióticos (CERCA et al., 2012; KURODA; NAGASHI; OHTA, 2007). Kaneko e colaboradores (2011) propõe que a perda do suporte lipídico pode ser decorrente do efeito do farnesol (isômero não especificado) em inibir a via do mevalonato através do comprometimento das classes de HMG-CoA redutases (classe I e II), por um mecanismo que difere das estatinas. Além disso, o farnesol (isômero não especificado) promove a redução de alguns fatores de virulência envolvidos na resistência bacteriana, tais como: supressão de estafiloxantina e proteína A e redução na ação enzimática das β -Lactamases (KURODA; NAGASHI; OHTA, 2007).

No que diz respeito aos estudos que investigaram o efeito do farnesol em células fúngicas é possível observar que as espécies pertencentes ao gênero *Candida* foram as mais utilizadas pelos artigos inclusos nesta RS, sendo a espécie *C. albicans* a mais predominante. Vários autores demonstram que o farnesol, sozinho e/ou associado com antifúngicos, é eficaz em suprimir o crescimento e evitar infecções por *C. albicans* (DÉCANIS; SAVIFNAC;

ROUABHIA, 2009; FERNANDES et al., 2016; HISAJIMA et al., 2008; JABRA-RIZK et al., 2006a; KATRAGKOU et al., 2015; RAMAGE et al., 2002; SAIDI; LUITAUD; ROUABHIA, 2006). Vale ressaltar que, em relação à ação do farnesol em cepas de *C. albicans*, apenas Fernandes et al. (2016) especificaram o tipo de isômero (*trans,trans*-farnesol) usado em seu estudo.

No estudo de Fernandes e colaboradores (2016), os autores demonstram que em concentrações acima de 12,5 mM o *trans,trans*-farnesol apresenta um efeito antimicrobiano semelhante ao gluconato de clorexidina. Katragkou e colaboradores (2015) observaram que o farnesol (isômero não especificado); quando combinado com os antifúngicos fluconazol, anfotericina B e micafungina, promove uma interação sinérgica, sendo esta interação mais significativa quando associado com a micafungina. Jabra-Rizk e colaboradores (2006a), demonstram que nas concentrações de 30 a 50 μ M o farnesol (isômero não especificado) promove um efeito sinérgico quando combinado com fluconazol.

Quando avaliado sozinho, na concentração de 300 μ M, o farnesol (isômero não especificado) é capaz de impedir a germinação bem-sucedida e a aderência das células de leveduras de *C. albicans*, resultando em biofilmes escassos ou inexistente (JABRA-RISK et al., 2006a; RAMAGE et al., 2002; SAIDI; LUITAUD; ROUABHIA, 2006). No trabalho de Ramage e colaboradores (2002), os autores propõem que este efeito pode ser decorrente da expressão de níveis mais baixos de HWP1 (proteína de parede hifal 1) e RNAm (ácido ribonucleico mensageiro) nas células de *C. albicans* devido ao tratamento pelo farnesol.

Hisajima e colaboradores (2008), ao investigar o efeito do farnesol (isômero não especificado) contra a candidíase oral em camundongos, observaram que em doses variando de 1,125 a 9 μ M o farnesol foi eficaz na proteção da candidíase oral, sendo este efeito do tipo dose-dependente. Os resultados histológicos deste estudo demonstraram que esta substância suprimiu o crescimento micelial de *C. albicans* na superfície da língua. Décanis; Savignac & Rouabhia (2009), ao avaliar a interação sinérgica entre o farnesol (isômero não especificado) e células epiteliais contra infecção por *C. albicans*, observaram que a proteção das células epiteliais contra a candidíase pode ser mediada pelo aumento na expressão de TLR-2, IL-6 e hBD2 promovida pelo farnesol. Por outro lado, os resultados obtidos por Navarathana e colaboradores (2007a e 2007b) demonstram que em camundongos infectados por *C. albicans* tanto o *trans,trans*-farnesol como a mistura de isômeros de farnesol aumentam a susceptibilidade dos animais para candidíase sistêmica, podendo o farnesol ser um fator de virulência par este fungo.

Quanto aos efeitos antifúngicos e mecanismos de ação do farnesol frente as demais cepas utilizadas pelos estudos inclusos nesta RS; Brilhante e colaboradores (2013) e Rossignol e colaboradores (2007) afirmam que em cepas de *Coccidioides posadasii* e *Candida parapsilosis*, respectivamente, o *trans,trans*-farnesol afeta a distribuição de esteroides. Ainda no estudo de Rossignol e colaboradores (2007), os autores demonstram que o *trans,trans*-farnesol afeta a expressão de vários genes ligados ao metabolismo de fosfolípidios e aminoácidos, tais como: GRP2 e ADH7.

Outras vias envolvidas na ação antifúngica do farnesol envolvem a dependência de caspases (Liu et al., 2010) e a participação da função mitocondrial na geração de ROS (MACHIDA et al., 1998; SEMIGHINI et al., 2006). Como resultado do estresse oxidativo as células fúngicas aumentam o número de núcleos condensados e sofrem um processo de apoptose (SEMIGHINI et al., 2006), o que provocar uma degeneração citoplasmática total (DERENGOWSKI et al., 2009). Machida e colaboradores (1998), ao investigar o mecanismo de ação responsável pelo efeito inibitório do farnesol (isômero não especificado - concentrações variando de 6,25 a 200 μM) sobre *Saccharomyces cerevisiae*, demonstrou que o aumento nos níveis de ROS por esta substância ocorre de maneira dose-dependente.

Tabela 14 – Síntese descritiva dos estudos que investigaram o efeito antimicrobiano dos diferentes isômeros de farnesol.

| Referência | Tipo de estudo (espécie/cepa e/ou linhagem celular) | Isômeros geométricos do farnesol/Origem (conforme descrito na literatura) | Objetivo | Dose/Concentração (via de administração) | Principais resultados e conclusão (conforme descrito na literatura) |
|------------------------------|---|---|--|--|--|
| Castelo-Branco et al. (2016) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (isolados clínicos de <i>Burkholderia pseudomallei</i>). | IN (Sigma-Aldrich) | Analisar a susceptibilidade de biofilmes <i>B. pseudomallei</i> para o farnesol sozinho e em associação com os antimicrobianos convencionais utilizados no tratamento de melioidose. | 0,58 a 600 mM l ⁻¹ (<i>in situ</i>) | O farnesol apresentou atividade antimicrobiana contra os biofilmes maduros de <i>B. pseudomallei</i> . Esta substância aumentou a susceptibilidade destas bactérias para os antibióticos rotineiramente utilizados para melioidose (amoxicilina, ceftazidima, doxiciclina e sulfametoxazol-trimetoprima), sendo que este efeito pode ser decorrente da interrupção da matriz polimérica extracelular do biofilme pelo farnesol. |
| Fernandes et al. (2016) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>Candida albicans</i> e <i>Streptococcus mutans</i>). | <i>trans,trans</i> -Farnesol (Sigma Aldrich) | Avaliar os efeitos de diferentes concentrações do <i>trans,trans</i> -farnesol em biofilmes de espécies únicas e mistas de <i>C. albicans</i> e <i>S. mutans</i> . | 1,56 a 300 mM (<i>in situ</i>) | Na avaliação da concentração inibitória mínima (CIM), as cepas de <i>S. mutans</i> foram mais suscetíveis ao farnesol do que as de <i>C. albicans</i> . Este efeito pode estar relacionado com as diferenças estruturais na célula dos microrganismos testados, sendo que a parede celular mais espessa presente em <i>C. albicans</i> pode ter prejudicado a ação do farnesol. Na avaliação do efeito inibitório do <i>trans,trans</i> -farnesol em biofilmes de espécies únicas e mistas, as concentrações testadas produziram reduções significativas no total de biomassa, no número de células viáveis e na atividade metabólica frente as cepas bacterianas testadas, exceto para a atividade metabólica de <i>S. mutans</i> em biofilme de espécies isoladas. |

(Continua na página seguinte)

Tabela 14 (continuação)

| | | | | | |
|-------------------------|---|-------------------------|---|---|---|
| | | | | | Nas concentrações acima de 12,5 mM o efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol foi semelhante ao do gluconato de clorexidina (controle positivo). |
| Kovács et al. (2016) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (isolados clínicos de <i>Candida parapsilosis</i>). | IN (Sigma-Aldrich) | Verificar o efeito <i>in vitro</i> da interação entre a combinação de duas equinocandinas (caspofungina e micafungina) com farnesol contra biofilmes de <i>C. parapsilosis</i> . | 1,17 a 300 μ M (<i>in situ</i>) | O farnesol promoveu um efeito sinérgico quando associado com caspofungina e micafungina contra os biofilmes de <i>C. parapsilosis</i> . A associação de caspofungina + farnesol promoveu uma redução significativa na atividade metabólica das células fúngicas nas três combinações testadas (4 mg/L+75 μ M, 8 mg/L+75 μ M e 16 mg/L+75 μ M) entre 3 a 24h em comparação com o controle. Já a combinação de micafungina + farnesol nas três concentrações testadas promoveram uma inibição significativa somente entre 3 a 12h, mas não às 24h quando comparada ao controle. |
| Katragkou et al. (2015) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepa de <i>C. albicans</i>). | IN (Sigma-Aldrich) | Investigar os efeitos <i>in vitro</i> do farnesol em combinação com diferentes classes de antifúngicos (triazóis – fluconazol, polienos – anfotericina B, equinocandinas – micafungina) contra os biofilmes de <i>C. albicans</i> . | 0,58 a 300 μ M (<i>in situ</i>). | O farnesol exerceu uma interação sinérgica quando combinado com os antifúngicos (fluconazol, anfotericina B e micafungina), apresentando um maior efeito sinérgico quando associado com a micafungina. A associações do farnesol com os agentes antifúngicos promoveram, também, mudanças estruturais nos biofilmes de <i>C. albicans</i> . |
| Brilhante et al. (2015) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (isolados de <i>Histoplasma capsulatum</i> var. <i>capsulatum</i>). | IN (Sigma Chemical Co.) | Avaliar a susceptibilidade <i>in vitro</i> de <i>H. capsulatum</i> var. <i>capsulatum</i> e biofilmes deste patógeno aos antifúngicos itraconazol, anfotericina B e ao composto farnesol, sozinhos e combinados. | 0,0009 a 0,5 μ M (<i>in situ</i>) | O farnesol apresentou atividade antifúngica contra <i>H. capsulatum</i> nas fases de fermento e filamentosa, com valores de CIM (concentração inibitória mínima) variando de 0,78 a 0,312 μ M. Foi observado um efeito sinérgico nas combinações de itraconazol + farnesol (100% e 83,30% dos isolado em formas de fermento e micélios, respectivamente) e anfotericina B + farnesol (37,50% e |

(Continua na página seguinte)

Tabela 14 (continuação)

| | | | | | |
|---------------------------|--|--|--|---|--|
| | | | | | 44,40% dos isolados em formas de fermento e filamentosa, respectivamente). |
| Horev et al. (2015) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> (ratos <i>Sprague-Dawley</i> e formas planctônicas e biofilmes de <i>Streptococcus mutans</i>). | IN | Avaliar o efeito do farnesol livre e carregado por nanopartículas sobre a virulência de biofilmes orais. | 1,5 mg/mL de nanopartículas livres e nanopartículas + farnesol na concentração de 0,3 mg/mL (uso tópico nos ensaios <i>in vivo</i> e <i>in situ</i> para os ensaios <i>in vitro</i>) | O farnesol carregado por nanopartículas foi 4 vezes mais eficaz na interrupção da formação de biofilmes de <i>S. mutans</i> do que o farnesol livre e reduziu a severidade e o número de lesões cariosas nos ratos. |
| Mogen et al. (2015) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>S. mutans</i>). | IN | Compreender as alterações morfológicas e o grau de mortalidade celular em biofilmes de <i>S. mutans</i> quando co-cultivados com NBMs (non-binding micelles) contendo compostos antimicrobianos hidrofóbicos. | 50 µg/mL (<i>in situ</i>) | Em cada estirpe testada de <i>S. mutans</i> , a biomassa foi significativamente diminuída nos biofilmes tratados com farnesol sozinho e NBM contendo farnesol em relação aos biofilmes não tratados. O farnesol formulado com “pluronic” induz alterações na arquitetura do biofilme, presumivelmente através da interação com a matriz de biofilme dependente de sacarose. O farnesol formulado com “pluronic” também foi eficaz em promover a morte das cepas de <i>S. mutans</i> , porém este efeito não está relacionado com a formação de torre que ocorre em biopelículas dependentes de sacarose. |
| Abdel-Rhman et al. (2015) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (isolados clínicos de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>). | <i>trans,trans</i> -Farnesol (Sigma-Aldrich) | Investigar o possível efeito de compostos “quorum sensing” de <i>C. albicans</i> , o tirosol e o <i>trans,trans</i> -farnesol, sobre a resistência aos antibióticos e alguns dos fatores de virulência de isolados de <i>P. aeruginosa</i> . | 10 a 200 µM (<i>in situ</i>) | O <i>trans,trans</i> -farnesol inibiu o crescimento de <i>P. aeruginosa</i> em 10% e 30% nas concentrações de 50 e 200 µM, respectivamente. Quanto aos fatores de virulência, o <i>trans,trans</i> -farnesol promoveu uma redução na produção de hemolisina neste patógeno, mas não reduziu significativamente a produção de proteases. |

(Continua na página seguinte)

Tabela 14 (continuação)

| | | | | | |
|-----------------------------|--|-------------------------------------|--|--|--|
| Bhattacharyya et al. (2014) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>S. aureus</i> meticilina-resistente). | IN | Avaliar a eficiência da incorporação de vancomicina e farnesol em sílica sol-gel como estratégia terapêutica para a entrega simultânea de antibiótico e adjuvante no tratamento de infecções por <i>S. aureus</i> meticilina-resistente. | 10%, 20% e 30% (% por peso - peso% é a % do peso da droga para o peso de SiO ₂ – Dióxido de silício) (<i>in situ</i>) | Este estudo demonstrou que os filmes de sol-gel podem ser aplicados em implantes de titânio para liberação controlada de antibiótico e adjuvante. E que o farnesol mostrou ser um potente adjuvante, aumentando a eficácia da ação antibiótica da vancomicina. |
| Wang et al. (2014) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>Aspergillus flavus</i>). | IN (Sigma-Aldrich) | Avaliar o efeito apoptótico do farnesol contra cepas de <i>A. flavus</i> . | 50 a 400 µM (<i>in situ</i>) | O farnesol inibiu a germinação e o crescimento de <i>A. flavus</i> , sendo eficaz na indução da apoptose através de um mecanismo de ativação de caspases e produção de ROS (espécies reativas de oxigênio). |
| Brilhante et al. (2013) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas clínicas e ambientais de <i>Coccidioides posadasii</i>). | Mistura de isômeros (Sigma-Aldrich) | Avaliar a atividade antifúngica <i>in vitro</i> do farnesol (mistura de isômeros) sozinho e em combinação com agentes antifúngicos contra isolados clínicos e cepas ambientais de <i>C. posadasii</i> , bem como determinar o seu efeito sobre a síntese de ergosterol e sobre a permeabilidade celular. | 0,00000667 a 0,0137 mg/L (<i>in situ</i>) | O farnesol (mistura de isômeros) apresentou uma CIM variando de 0,00171 a 0,01369 mg/L contra todas as cepas testadas. Quando combinados com os antifúngicos (anfotericina B, itraconazol, voriconazol e caspofungina), o farnesol (mistura de isômeros) apresentou efeitos sinérgicos. Quanto à quantificação de ergosterol, observou-se que a exposição às concentrações subinibitórias do farnesol diminuíram a quantidade de ergosterol extraído das células fúngicas. Além disso, o farnesol (mistura de isômeros) apresentou, também, valores de CIM mais baixos quando as cepas foram submetidas a estresse osmótico. |
| Cordeiro et al. (2012) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>Cryptococcus neoformans</i> e <i>Cryptococcus gattii</i>). | IN | Avaliar o potencial antifúngico do farnesol contra <i>C. neoformans</i> e <i>C. gattii</i> , bem como investigar o efeito do farnesol em atividades de | 0,29 a 150 µM (<i>in situ</i>) | O farnesol apresenta atividade inibitória contra <i>C. neoformans</i> e <i>C. gattii</i> com intervalo de CIM de 0,29-75,0 µM, não apresentando interferências significativas sobre a produção de fatores de virulência analisados (atividades de fosfolipases e |

(Continua na página seguinte)

Tabela 14 (continuação)

| | | | fosfolipase e de protease. | | proteases). |
|-------------------------|--|---|--|--------------------------------------|--|
| Cerca et al. (2012) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (isolados clínicos de <i>Staphylococcus epidermidis</i> produtoras de biofilmes). | IN (Sigma-Aldrich) | Analisar as alterações na estrutura, viabilidade e biomassa de biofilme de <i>S. epidermidis</i> exposto ao farnesol, bem como compará-lo com biofilmes expostos à vancomicina e rifampicina. | 300 µM (<i>in situ</i>) | O farnesol não diminui significativamente a viabilidade celular de biofilmes de <i>S. epidermidis</i> , porém foi eficaz em reduzir a biomassa nestes biofilmes. Foi observado que o farnesol promove danos a membrana celular de maneira similar à vancomicina. Além disso, o farnesol pode induzir o desprendimento do biofilme, conforme determinado pela redução na biomassa. |
| Gomes et al. (2011a) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (isolados clínicos de <i>S. epidermidis</i> produtoras de biofilmes). | IN (Sigma-Aldrich) | Avaliar o efeito do farnesol sobre a estrutura e composição da matriz de biofilmes de <i>S. epidermidis</i> . | 30 e 300 µM (<i>in situ</i>) | Os biofilmes de <i>S. epidermidis</i> quando na presença do farnesol (300 µM) continham menos biomassa e tiveram notáveis alterações na composição da sua matriz. Foram verificadas, também, mudanças na estrutura espacial pelo uso de microscópio confocal de varredura à laser. Os resultados obtidos pela quantificação de polímeros extracelulares e por detecção fluorescente de aglutinina de germe de trigo sugerem que o farnesol provoca interrupção da membrana citoplasmática e, conseqüentemente, a liberação de conteúdo celular. |
| Gonçalves et al. (2011) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i>). | <i>trans</i> -Farnesol (Aldrich Chemical) | Avaliar o efeito antibacteriano de uma ampla gama de estruturas antibióticas quando combinado com <i>trans</i> -farnesol ou outros oito compostos sesquiterpênicos contra cepas de <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i> . | 14 a 222 µg/placa (<i>in situ</i>) | O <i>trans</i> -farnesol promoveu um efeito antibacteriano em todas as concentrações testadas frente as cepas de <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i> , sendo desprovido de efeitos mutagênicos nestas concentrações. Além disso, foi observado que os compostos sesquiterpênicos aumentaram a atividade antibacteriana de antibióticos quando testados contra <i>S. aureus</i> . Entretanto, quando testados contra <i>E. coli</i> , observou-se um efeito |

(Continua na página seguinte)

Tabela 14 (continuação)

| | | | | | | |
|-----------------------|---|---------------------|---------|--|--|---|
| | | | | | | antagônico para várias combinações de sesquiterpenos com antibióticos sobre o crescimento desta bactéria. |
| Gomes et al. (2011b) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>S. epidermidis</i>). | IN (Sigma-Aldrich) | | Investigar o efeito pós-antimicrobiano do farnesol contra <i>S. epidermidis</i> e avaliar a ação antimicrobiana do farnesol sozinho e combinado com antibióticos (vancomicina, tetraciclina e rifampicina) contra cepas de <i>S. epidermidis</i> planctônicas e de biofilme. | 100, 200 e 300 μM (<i>in situ</i>) | O farnesol demonstrou ser um potencial agente terapêutico para ser utilizado como adjuvante de antibióticos para o tratamento contra células planctônicas de <i>S. epidermidis</i> . Além disso, o farnesol sozinho e combinado com antibióticos foram eficazes na prevenção da formação de biofilmes. |
| Kaneko et al. (2011) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Staphylococcus warneri</i> , <i>Staphylococcus xylosus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Escherichia coli</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>). | IN (Sigma Chemical) | (Sigma) | Investigar o mecanismo de ação pelo qual o farnesol exerce seu efeito antibacteriano e inibe o crescimento de <i>S. aureus</i> . | 80 mg/mL^{-1} (<i>in situ</i>) | O farnesol apresentou atividade antibacteriana para bactérias do tipo Gram positivas, especialmente para <i>S. aureus</i> , porém não foi eficaz em inibir o crescimento de bactérias Gram negativas. Quanto aos mecanismos de ação, o farnesol pode afetar as classes de HMG-CoA redutases (3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase) – classes I e II – por um mecanismo que difere da estatina. Uma outra via que envolvida na ação antibacteriana do farnesol se dá pela inibição da via do mevalonato. |
| Liu et al. (2010) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>Penicillium expansum</i>). | IN (Sigma Chemical) | (Sigma) | Avaliar o efeito de farnesol no crescimento de <i>P. expansum</i> . | 25 a 200 μM (<i>in situ</i>) | O farnesol inibiu o crescimento de <i>P. expansum</i> com concentração fungicida mínima (CFM) de aproximadamente 100 μM , sendo este efeito decorrente da ação apoptótica do farnesol pela via dependente de caspases. |
| Décanis et al. (2009) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>C. albicans</i>). | IN (Sigma Chemical) | (Sigma) | Avaliar a possível interação sinérgica entre o farnesol e células epiteliais contra infecções por <i>C. albicans</i> . | 10, 100 e 300 μM (<i>in situ</i>) | O farnesol promove a defesa das células epiteliais contra infecções por <i>C. albicans</i> , sendo este efeito mediado pelo aumento na expressão de TLR-2 (receptores do tipo <i>toll-like</i> 2), IL-6 |

(Continua na página seguinte)

Tabela 14 (continuação)

| | | | | | | |
|---------------------------|--|--|--------|--|--------------------------------------|---|
| | | | | | | (interleucina 6) e hBD2 (β -defensina-2 humana) pelo farnesol. |
| Gomes et al. (2009) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de células planctônicas e de biofilmes de <i>S. epidermidis</i>). | IN (Sigma Chemical) | (Sigma | Investigar o efeito do farnesol em células planctônicas e de biofilmes de <i>S. epidermidis</i> . | 30 a 300 μ M (<i>in situ</i>) | O farnesol foi eficaz contra as células planctônicas, sendo este efeito inibitório presente em pequenas concentrações desta substância (100 μ M). Nas células de biofilmes, o efeito do farnesol não foi tão pronunciado, uma vez que este efeito demonstra ser dependente da atividade metabólica e da quantidade de matriz. O efeito do farnesol na concentração de 200 μ M foi semelhante ao efeito da vancomicina no pico da concentração sérica de células planctônicas e de biofilmes. Além disso, a perda da viabilidade celular e, conseqüentemente, perda da capacidade de formação de biofilmes induzidas pelo farnesol sugerem o potencial uso desta substância na prevenção de infecção por <i>S. epidermidis</i> . |
| Derengowski et al. (2009) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de levedura virulenta de <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>). | Mistura de isômeros (Sigma-Aldrich) | | Avaliar o efeito do farnesol (mistura de isômeros) sobre o crescimento e morfogênese de <i>P. brasiliensis</i> . | 2,5 a 300 μ M (<i>in situ</i>) | As concentrações de 25 a 300 μ M foram eficazes na inibição do crescimento de <i>P. brasiliensis</i> , com CIM de 25 μ M. Quando o farnesol (mistura de isômeros) foi testado em concentração que não comprometem a viabilidade celular (5 a 15 μ M), foi observado que esta substância afetou a morfogênese desse fungo, promovendo um retardo na formação do germe-tubo desse microrganismo. Já nas concentrações de 25 μ M de farnesol (mistura de isômeros) observa-se a presença de uma degeneração citoplasmática total. |
| Unnanuntana et al. (2009) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (biofilmes de <i>S. aureus</i> e células pré- | <i>trans,trans</i> -Farnesol (Sigma-Aldrich) | | Investigar os efeitos do <i>trans,trans</i> -farnesol na formação de biofilmes | 0 a 30 mM (<i>in situ</i>) | O <i>trans,trans</i> -farnesol (30 mM) reduziu o número de bactérias viáveis em 104 vezes e inibiu completamente a formação |

(Continua na página seguinte)

Tabela 14 (continuação)

| | | | | | |
|------------------------|--|------------------------------------|---|---|--|
| | osteoblásticas MC3T3-E1 cultivados em discos 6de liga de titânio). | | bacterianos em biomateriais ortopédicos e seus efeitos sobre osteoblastos. | | de biofilmes, sendo que o efeito sobre a formação de biofilmes durou pelo menos três dias. Quando testado em baixas concentrações, o <i>trans,trans</i> -farnesol (0,03 a 3 mM) não inibiu a formação de biofilmes e não potencializou o efeito de concentração submáxima da gentamicina. O efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol foi testado em biofilmes formados; e esta substância também reduziu o número final de bactérias viáveis em 56 vezes. Quando testado nas células pré-osteoblásticas MC3T3-E1, observou-se que o <i>trans,trans</i> -farnesol (3 mM e 30 mM) inibiu a propagação destas células. |
| Hisajima et al. (2008) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> (camundongos fêmeas e isolados clínicos de <i>C. albicans</i>). | IN (NacalaiTesque, Inc.) | Investigar os efeitos do farnesol contra candidíase oral em camundongos. | 1,125, 2,25 e 9 µM/camundongo (v.o.) nos ensaios <i>in vivo</i> e 50 a300 µM (<i>in situ</i>) nos ensaios <i>in vitro</i> | O tratamento com farnesol nas doses variando entre 1,125 e 9 µM foram eficazes na proteção da candidíase oral, sendo este efeito do tipo dose-dependente, conforme estimado pelos escores dos sintomas nas línguas. Além disso, os resultados dos testes histológicos mostraram que o farnesol suprimiu o crescimento micelial de <i>C. albicans</i> na superfície das línguas. O grupo de animais tratados com 9 µM tiveram uma diminuição na perda de massa corporal quando comparados com os demais grupos (controle e farnesol nas doses de 1,125 e 2,25 µM). |
| Kuroda et al. (2007) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> [cepas de <i>S. aureus</i> susceptível (MSSA) e resistente a meticilina (MRSA)]. | IN (Wako Pure Chemical Industries) | Investigar os efeitos sinérgicos do farnesol combinados com antimicrobianos comumente utilizados, principalmente β-lactâmicos, bem como | 1 g/L (<i>in situ</i>) | O farnesol promoveu um aumento na susceptibilidade das bactérias a ação de todos os antimicrobianos testados (ampicilina, oxacilina, cefoxitina, bacitracina, teicoplanina, amicacina, ciprofloxacina) em graus variáveis, exceto a claritromicina frente as cepas de |

(Continua na página seguinte)

Tabela 14 (continuação)

| | | | | | |
|---------------------------|---|---|--|--|---|
| | | | explorar o seu potencial efeito inibitório na síntese da parede celular de <i>S. aureus</i> . | | MSSA e MRSA. Foi observado um aumento na susceptibilidade mais significativa quando o farnesol foi associado a ampicilina, oxacilina e cefoxitina. O efeito do farnesol no aumento da susceptibilidade dos antibióticos é decorrente da inibição da biossíntese na parede celular através da redução do suporte lipídico, bem como pela supressão da produção de estafiloxantina e redução na atividade da ação enzimática das β -lactamases. Observou-se também que o farnesol promoveu supressão da proteína A. |
| Henriques et al. (2007) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>Candida dubliniensis</i>). | <i>trans,trans</i> -Farnesol (Sigma-Aldrich) | Investigar o efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol sobre a morfologia de <i>C. dubliniensis</i> . | 1,5, 15 e 150 $\mu\text{M l}^{-1}$ (<i>in situ</i>) | As concentrações de <i>trans,trans</i> -farnesol testadas não inibiu a taxa de crescimento de <i>C. dubliniensis</i> , porém esta substância promoveu a inibição da formação de hifas e pseudo-hifas. Na concentração de 150 $\mu\text{M l}^{-1}$ o <i>trans,trans</i> -farnesol inibiu completamente a formação de hifas e pseudo-hifas. |
| Navarathna et al. (2007a) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> (camundongos CF-1 fêmeas infectadas com <i>C. albicans</i>). | Mistura de isômeros ou <i>trans,trans</i> -Farnesol (Sigma-Aldrich) | Avaliar se o farnesol afeta a progressão da candidíase disseminada em camundongos. | 1 mL a 20 mM <i>trans,trans</i> -farnesol (v.o. e i.p.) | Os camundongos infectados por <i>C. albicans</i> que receberam <i>trans,trans</i> -farnesol (1 mL a 20 mM, i.p. e v.o) tiveram uma maior mortalidade, sendo que o início da mortalidade do grupo tratado com farnesol via i.p foi 30 h mais cedo do que o grupo controle. Foi observado que o <i>trans,trans</i> -farnesol desempenhou um papel na patogênese da doença, direta ou indiretamente, podendo representar um fator de virulência para <i>C. albicans</i> . |
| Navarathna et al. (2007b) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> (camundongos CF-1) | <i>trans,trans</i> -Farnesol (Sigma-Aldrich) | Examinar o possível papel do <i>trans,trans</i> -farnesol na resistência modulara | 1,2 mM in 0,5% de Tween 80 (i.p.) nos ensaios <i>in vivo</i> e 100 | Foi observado uma elevação nos níveis de TNF- α (fator de necrose tumoral alfa) e IFN- γ (interferão-gama) nos |

(Continua na página seguinte)

Tabela 14 (continuação)

| | | | | | |
|-------------------------|--|---|--|---|--|
| | fêmeas infectadas com <i>C. albicans</i> e macrófagos colhidos da cavidade peritoneal). | contra a candidíase sistêmica, bem como na modulação de células T e expressão de citocinas de macrófagos. | μM (<i>in situ</i>) nos ensaios <i>in vitro</i> | nos camundongos infectados com <i>C. albicans</i> . O pré-tratamento com <i>trans,trans</i> -farnesol reduziu significativamente a elevação nos níveis de IFN- γ e IL-12 (interleucina 12), mas não de TNF- α . Além disso, os camundongos tratados com farnesol exibiram uma inesperada elevação nos níveis de IL-5 (interleucina 5). Os resultados mostram que o <i>trans,trans</i> -farnesol aumenta a susceptibilidade dos camundongos para a candidíase sistêmica. | |
| Rossignol et al. (2007) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>C. parapsilosis</i>). | <i>trans,trans</i> -Farnesol (Sigma-Aldrich) | Avaliar a resposta transcricional de <i>C. parapsilosis</i> expostas a <i>trans,trans</i> -farnesol. | 10 a 100 μM (<i>in situ</i>) | Nas concentrações de 50 e 100 μM o <i>trans,trans</i> -farnesol inibiu fortemente o crescimento de <i>C. parapsilosis</i> , porém este efeito não foi observado nas menores concentrações testadas (10 e 20 μM). Na avaliação do perfil de transcrição gênica, o <i>trans,trans</i> -farnesol foi avaliado na concentração de 50 μM . Foi observado que a adição do <i>trans,trans</i> -farnesol promoveu um aumento de 15 vezes na expressão de GRP2 (relacionado a família GRE2 dependente de NADPH metilgloxal reductase) e um aumento de 6 vezes na expressão de ADH7 (um membro de a família de álcool cinâmico dependente de NADPH). Além disso, observou-se que o <i>trans,trans</i> -farnesol afeta a distribuição de esteróis; afetando a expressão de vários genes ligados ao metabolismo de fosfolipídios e de aminoácidos. |
| Semighini et al. (2006) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>Aspergillus nidulans</i> e <i>C. albicans</i>). | <i>trans,trans</i> -Farnesol (Sigma-Aldrich) | Examinar o efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol no fungo filamentoso <i>A. nidulans</i> . | 10 a 250 μM (<i>in situ</i>) | A menor concentração do <i>trans,trans</i> -farnesol testada (10 μM) promoveu uma completa inibição do crescimento de hifas de <i>A. nidulans</i> . Além disso, o |

(Continua na página seguinte)

Tabela 14 (continuação)

| | | | | | | |
|---------------------------|--------|---|--------------------------------------|--|---|--|
| Jabra-Rizk et al. (2006a) | et al. | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>C. dubliniensis</i> e <i>C. albicans</i>). | <i>in vitro</i> (Sigma Chemical Co.) | Avaliar o efeito antifúngico do farnesol sobre <i>C. dubliniensis</i> e <i>C. albicans</i> , bem como determinar sua CIM e seu efeito sobre a integridade da membrana celular fúngica. | 10, 30 e 300 μM (<i>in situ</i>) | <p><i>trans,trans</i>-farnesol provocou uma rápida condensação de DNA (ácido desoxirribonucleico), sendo observado um aumento no número de núcleos condensados.</p> <p>Os resultados demonstram que o <i>trans,trans</i>-farnesol induz a apoptose de células filamentosas de <i>A. nidulans</i> através de um mecanismo que requer a mitocôndrias funcionais, a produção de ROS e do complexo de proteína G heterotrimérica.</p> <p>Foi observado que as culturas de <i>C. dubliniensis</i> continham 40% de hifas e pseudo-hifas quando cultivadas na ausência de farnesol. Já quando cultivadas com farnesol 300 μM essa quantidade reduziu para menos de 10%. Já referente a <i>C. albicans</i>, foi observada a presença de 90% de hifas em culturas na ausência de farnesol; porém quando cultivadas com farnesol observou-se uma redução para apenas 10% de hifas.</p> <p>Quando se avaliou o efeito do farnesol sobre a formação de biofilmes, observou-se que a incubação com farnesol 300 μM impediu a germinação bem-sucedida das células de levedura aderentes, resultando em baixas formações de biofilmes para ambas cepas testadas.</p> <p>Na avaliação da CIM revelou que o farnesol apresenta uma CIM 200 μM contra <i>C. dubliniensis</i> e $\geq 300 \mu\text{M}$ contra <i>C. albicans</i>; indicando que <i>C. albicans</i> tem uma maior tolerância ao farnesol. Foi observado que o farnesol nas concentrações de 30-50 μM apresentaram um efeito sinérgico, quando combinadas com fluconazol,</p> |
|---------------------------|--------|---|--------------------------------------|--|---|--|

(Continua na página seguinte)

Tabela 14 (continuação)

| | | | | | |
|-----------------------|--|--------------------------|--|-------------------------------------|--|
| | | | | | contras ambas cepas. |
| Shintre et al. (2006) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>S. epidermidis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e isolados clínicos de MRSA, <i>Enterococcus faecium</i> resistente à vancomicina, <i>Acinetobacter baumannii</i> e <i>C. albicans</i>) e clínico (grupo de pessoas com 7 voluntários saudáveis). | IN (Symrise, Totowa, NJ) | Avaliar o efeito sinérgico do farnesol e de diferentes óleos essenciais combinados com antimicrobianos e selecionar o sinergismo mais eficaz para uso de higienização das mãos em um grupo de voluntários saudáveis. | NR | O farnesol apresentou atividade sinérgica contra <i>S. aureus</i> quando associado com os seguintes antibióticos: gluconato de clorexidina, cloreto de benzalcônio, cloreto de benzetônio. Quando associado ao cloreto de benzetônio, o farnesol mostrou atividade sinérgica contra cepas de <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i> . Foi elaborada uma formulação em gel contendo farnesol e cloreto de benzetônio (ZBF) para ser testada nos voluntários; onde foi observado que o ZBF quando usada pelos profissionais pode matar rapidamente as bactérias presente na superfície das mãos. Além disso, o esfregaço da mão ZBF pode continuar ativo contra bactérias transitórias vários minutos após sua aplicação. |
| Saidi et al. (2006) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (isolados clínicos de <i>C. albicans</i> , células epiteliais e de fibroblastos gengivais humanos). | IN (Sigma-Aldrich) | Examinar o efeito do farnesol sobre <i>C. albicans</i> e células epiteliais e de fibroblastos gengivais. | 10 a 300 μ M (<i>in situ</i>) | O farnesol reduziu o crescimento de <i>C. albicans</i> apenas nas concentrações mais elevadas (100, 150 e 300 μ M), quando estas cepas foram cultivadas sozinhas durante o período de contato de 24h. O número de células de <i>C. albicans</i> no farnesol contendo cultura permaneceu elevada. Foi avaliado, também, o efeito do farnesol com tratamentos repetidos (2, 4 e 8 h). Foi observado que os tratamentos repetidos reduziram o crescimento de células fúngicas de aproximadamente 240×10^6 para 120×10^6 . Com os tratamentos repetidos, a redução do crescimento celular mais significativa foi obtida em 8 e 24 h, tanto em altas quanto |

(Continua na página seguinte)

Tabela 14 (continuação)

em baixas concentrações de farnesol. Os resultados sugerem que o farnesol foi eficaz na redução da formação de tubos germinativos de *C. albicans* e inibiu, mais eficazmente, a filamentação quando adicionada ao meio de cultura com soro. Quanto ao efeito do farnesol em células epiteliais e fibroblastos gengivais, esta substância não modificou a morfologia das células epiteliais mesmo em concentrações elevadas (150 e 300 μM). Já sobre a morfologia dos fibroblastos, foi observado que até na concentração de 50 μM o farnesol não promoveu alterações morfológicas. No entanto, em altas concentrações foi observado que as células começaram a se separar e degradar.

Para simular condições *in vivo*, foi testado o efeito do farnesol em fibroblastos na presença de *C. albicans*. No meio isento de soro, o farnesol reduziu a adesão e a proliferação de fibroblastos e promoveu diferenciação e redução da proliferação das células epiteliais até 48 h após o tratamento. Estes efeitos não foram observados na presença do soro.

Quando as células gengivais estavam presentes com farnesol e *C. albicans*, foi observada uma maior inibição na transição de leveduras para hifas, sugerindo um efeito sinérgico entre as células gengivais e farnesol na inibição da transição de *C. albicans*.

Os resultados sugerem que o farnesol é eficaz contra *C. albicans* e pode ter um efeito nas células hospedeiras em determinadas concentrações.

(Continua na página seguinte)

Tabela 14 (continuação)

| | | | | | |
|---------------------------------|---|-------------------------|---|--|--|
| Jabra-Rizk et al. (2006b) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> [isolados clínicos de <i>S. aureus</i> susceptível (MSSA) e resistente a metilicina (MRSA)]. | IN (Sigma Chemical Co.) | Avaliar o efeito do farnesol na suscetibilidade antimicrobiana e formação de biofilmes de <i>S. aureus</i> . | 0 a 300 μ M - 0 a 66 μ g/mL (<i>in situ</i>) | O farnesol na concentração de 200 μ M (44 μ g/mL) inibiu as reações de oxidação-redução nos ensaios de viabilidade celular. Quando testado nas concentrações de 0 a 50 μ M, o farnesol ambas as cepas de <i>S. aureus</i> formaram biofilmes homogêneos; entretanto, na concentração de 100 μ M essa formação foi mínima e nas concentrações mais elevadas (200 e 300 μ M) não houve formação de biofilmes. A adição do farnesol, mesmo em baixas concentrações, promoveu um aumento na permeabilidade de estafilococos a gentamicina com conseqüente redução da CIM para MSSA, sendo que este efeito não foi observado contra MRSA. |
| Katsuyama et al. (2005) | Estudo clínico (17 pacientes – 10 homens e 7 mulheres – com dermatite atópica nos braços de gravidade leve a moderada). | IN (Dragoco Co.) | Examinar os efeitos do creme FX (contendo farnesol 0,2% + xilitol 5%) sobre o balanço da microflora da pele de paciente com dermatite atópica. | farnesol 0,2% + xilitol 5% (uso tópico) | O tratamento com creme FX durante 1 semana reduziu significativamente a proporção de bactérias <i>S. aureus</i> totais nos locais aplicados, quando comparados com aplicações prévias de placebos. Além disso, a condutância média da pele (parâmetro utilizado como indicador do estado de hidratação da superfície da pele) dos locais onde o creme foi aplicado aumentou significativamente quando comparada com o placebo. Os resultados sugerem que o creme FX é um agente de cuidados a pele útil para o tratamento de dermatite atópica colonizada por <i>S. aureus</i> . |
| Rodrigues Goulart et al. (2004) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (clones do parasita <i>Plasmodium falciparum</i>). | IN (Sigma-Aldrich) | Investigar os efeitos de diferentes terpenos (farnesol, nerolidol, limoneno e linalol) na biossíntese de dolichol e cadeia isoprênica lateral de ubiquinonas, bem | 1 a 200 μ M (<i>in situ</i>) | O farnesol apresentou uma concentração inibitória média (IC ₅₀) de 60 μ M. Tanto o farnesol quanto os demais terpenos avaliados inibiram a biossíntese de dolichol nos estágios de trofozoítos e esquizontes. Referente à biossíntese da cadeia isoprênica anexada ao anel |

(Continua na página seguinte)

Tabela 14 (continuação)

| | | | | | |
|-----------------------|--|-------------------------|--|--|--|
| | | | como sobre a isoprenilação protéica nos estágios intraeritrocitários de <i>P. falciparum</i> . | | benzoquinona de ubiquinonas, o farnesol mostrou uma atividade mais forte no estágio de esquizontes. Além disso, o tratamento dos parasitas com o farnesol diminui a incorporação de precursores de isoprenilo em proteínas. |
| Akiyama et al. (2002) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>S. aureus</i> isoladas de lesões por dermatite atópica). | IN (Dragoco Co.) | Investigar as ações do farnesol e xilitol no controle de lesões de pele por dermatite atópica colonizadas por <i>S. aureus</i> | 100 e 2.000 $\mu\text{M}/\text{mL}$ (<i>in situ</i>) | O farnesol apresentou uma CIM de 1.200 $\mu\text{M}/\text{mL}$ contra as cepas de <i>S. aureus</i> . Foi observado que a coagulação por células de <i>S. aureus</i> foi inibida em plasmas contendo farnesol numa concentração de 1/12 da CIM (100 $\mu\text{M}/\text{mL}$). Além disso, a produção de exotoxinas superantígenos por células de <i>S. aureus</i> na presença do farnesol (100 $\mu\text{M}/\text{mL}$) foram cerca de 10 vezes menores do que por células de <i>S. aureus</i> sozinhas. As concentrações do farnesol acima da CIM promoveu um efeito supressor contra as células de <i>S. aureus</i> tanto na fase exponencial quanto na fase estacionária; mostrando-se uma substância promissora como coadjuvante no tratamento de lesões cutâneas colonizadas por <i>S. aureus</i> . |
| Ramage et al. (2002) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>C. albicans</i>). | IN (Sigma Chemical Co.) | Avaliar o efeito do farnesol sobre a formação de biofilmes. | 3, 30 e 300 μM (<i>in situ</i>) | Foi observado que na concentração de 300 μM o farnesol impediu a germinação bem-sucedida e a aderência das células de levedura, resultando em biofilmes escassos ou inexistentes. Porém, quando esta concentração foi diminuída em 10 e 100 vezes, foram observadas a presença de pseudo-hifas (farnesol 30 μM) e hifas (farnesol 3 μM). Na análise das células <i>C. albicans</i> tratadas com farnesol, utilizando a técnica "Northern blot", observou-se que estas células expressaram níveis de |

(Continua na página seguinte)

Tabela 14 (continuação)

| | | | | | |
|-----------------------|---|----|---|----------------------------------|---|
| | | | | | HWPI (proteína de parede hifal 1) e RNAm (ácido ribonucleico mensageiro) mais baixos do que as células não tratadas com farnesol. |
| Machida et al. (1998) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (cepas de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> selvagem e mutantes isogênicos gerados pelo tratamento com brometo de etídio). | IN | Avaliar o mecanismo de ação responsável pelo efeito inibitório do farnesol sobre <i>S. cerevisiae</i> . | 6,25 a 200 µM (<i>in situ</i>) | O farnesol inibiu o crescimento de <i>S. cerevisiae</i> promovendo um aumento no nível de geração de ROS de uma maneira dose-dependente, sendo que este nível teve um aumento de 5 a 8 vezes nas células tratadas com farnesol após a incubação inicial de 30 min. A dependência de estresse oxidativo induzido pelo farnesol na inibição do crescimento foi confirmada pela proteção contra essa inibição de crescimento em células na presença de um agente antioxidante, como o α -tocoferol, probucol ou N-acetilcisteína. Entretanto, o farnesol aumento a geração de ROS somente nas cepas de <i>S. cerevisiae</i> do tipo selvagem e não nos mutantes isogênicos, o que ilustra o papel da função mitocondrial na geração ROS induzida pelo farnesol. Além disso, observou-se que a adição do farnesol inibiu o consumo celular de oxigênio, porém não conseguiram inibir diretamente quaisquer atividades de enzimas oxidases. |

IN – Isômero não especificado; NR – Não reportado.

5.1.2. Efeito antitumoral

Dos 17 artigos incluídos nesta categoria, 11 não especificaram o tipo de isômero de farnesol utilizado, 5 investigaram o efeito antitumoral do *trans,trans*-farnesol e 1 investigaram o efeito do *trans*-farnesol.

Os resultados obtidos demonstram que os diferentes isômeros de farnesol são dotados de propriedades quimioterápicas, efetivas contra diferentes tumores, tais como leucemia, câncer de mama, câncer de próstata e diferentes tipos de carcinomas, adenocarcinomas e alterações tumorais induzidas por diferentes agentes químicos (tabela 15). O que corrobora com os dados encontrados por Rougereau & Rougereau-Person (2004), os quais depositaram uma patente referente ao uso de compostos terpênicos (dentre eles o farnesol) associados com veículos farmacêuticos como agentes úteis na prevenção e tratamento diferentes tipos de cânceres. Além disso, os compostos sesquiterpênicos já são relatados por possuir atividades tóxicas contra células humanas cancerígenas (GHANTOUS et al., 2010; LEE et al., 1971; LEE et al., 1977; ZHANG et al., 2005).

Na literatura consultada observa-se que o *trans,trans*-farnesol apresenta uma toxicidade seletiva em induzir apoptose de células defeituosas. Esta seletividade foi demonstrada pela primeira vez no estudo realizado por Adany e colaboradores (1994), o qual objetivou comparar o efeito do *trans,trans*-farnesol (nas concentrações de 0 a 45 μM) frente a diferentes linhagens celulares de origem neoplásica e células provenientes de tecidos normais. Com os resultados obtidos os autores observaram que esta substância apresentou um efeito mais pronunciado na inibição do crescimento e indução de apoptose de células neoplásicas quando comparado com as células não-tumorais, onde observou-se que nas concentrações ≥ 10 de μM a inibição das células tumorais foi mais significativa. Quando testado na concentração de 45 μM o farnesol provocou a mortalidade de praticamente todas as células malignas após 48 h da incubação.

Os mecanismos de ação pelos quais o farnesol promove seu efeito antitumoral se dá através da participação de diferentes vias de sinalização. Lee e colaboradores (2015) observaram que em células de mieloma múltiplo humano (U266) o farnesol (isômero não especificado) promove seu efeito genotóxico bloqueando a ativação do transdutor de sinal e ativador de transcrição 3 (STAT3) induzida e constitutiva, o qual é mediado pela inibição da ativação das quinases JAK1, JAK2 e c-Src. As proteínas do tipo STAT, principalmente STAT3, possuem um papel importante na sobrevivência e proliferação de diferentes tipos de tumores, tais como: leucemia, linfoma, tumores sólidos e mielomas múltiplos (AHN et al.,

2008; BUETTNER; MORA; JOVE, 2002); esta via pode ser ativada por interleucinas (por exemplo: IL-6) e por fatores de crescimento (por exemplo: EGF). Após ativada, STAT3 sofre um processo de homodimerização e fosforilação induzida, sendo esta fosforilação mediada pela ativação das quinases JAK e c-Src (REN; SCHAEFER, 2002; SCHREINER; SCHIAVONE; SMITHGALL, 2002). Como consequência deste processo ocorre uma translocação nuclear, ligação ao DNA e transcrição do gene subsequente (IHLE, 1996). Esta ativação de STAT3 pode resultar na expressão de numerosos produtos gênicos necessários para a sobrevivência de células tumorais (por exemplo: survivina, Bcl-xl, Bcl-2), proliferação celular, metástase e angiogênese (AGGARWAL et al., 2006). Portanto, substâncias que atuam inibindo a ativação de STAT3 demonstram ter potencial como agente útil na prevenção e tratamento do câncer (YU; JOVE, 2004).

Além dos mecanismos acima descritos, o farnesol (isômero não especificado) induz a apoptose em células U266 através da ativação da caspase-3 (LEE et al., 2015). Este dado corrobora com o estudo de Au-Yeung e colaboradores (2008), que avaliou o efeito anticarcinogênico do farnesol em células humanas de câncer de cólon. Neste estudo os autores demonstram que o farnesol pode induzir a apoptose de células cancerígenas (HT-29 e HCT-116) através da ativação da caspase-3 conduzindo, conseqüentemente, a clivagem da enzima PARP e redução da expressão proteica de BclxL e survivina.

Em linhagens de células leucêmicas, um dos mecanismos envolvidos no efeito citotóxico do *trans,trans*-farnesol se dá pela ação desta substância nos mecanismos celulares de transdução de sinais dependentes da PLC (VOZIYAN; HAUG; MELNYKOVYCH, 1995), visto que células de leucemia aguda CEM-C1, quando na presença do farnesol (20 µM), apresentam uma redução na taxa de incorporação de rótulos radioativos de DAG (um ativador fisiológico de PKC) e fosfolipídios celulares, ambos produtos gerados pela degradação da PC; o que indica uma inibição da PLC.

Voziyan, Goldner & Melnykovich (1993), ao investigar os mecanismos de inibição da biossíntese de PC pelo *trans,trans*-farnesol (20 µM) na mesma linhagem de células leucêmicas supracitadas, observaram que esta substância não promove alteração nas atividades enzimáticas de CTP e DAG. Entretanto, o *trans,trans*-farnesol foi capaz de inibir a incorporação de [3H]colina em lipídios celulares, reduzir a incorporação de rótulo radioativo em PC e promover uma redução na atividade da enzima CPT, inibindo, conseqüentemente, a biossíntese de PC. Como conseqüências dos mecanismos de ação acima citados, as células leucêmicas sofrem diminuição na viabilidade celular e devido a fragmentação apoptótica do DNA nas regiões de ligantes internucleossômicas (HAUG et al., 1994; VOZIYAN; HAUG;

MELNYKOVYCH, 1995). Joo e colaboradores (2015) demonstram que uma outra via envolvida na indução apoptose das células leucêmicas pelo *trans,trans*-farnesol envolve a ativação do apoptossoma pela via intrínseca da cascata PERK-eIF2 α ATF3/4, de uma maneira independente da ativação induzida pela MAPKs.

Nos danos genotóxicos induzidos por diferentes agentes químicos [CdCl₂, benzo(a)pireno, DMBA, TPA, Fe-NTA e azoximetano], o farnesol (isômero não especificado) demonstra ser eficaz na em proteger dos danos tóxicos devido a sua ação antioxidante (CHAUDHARY et al., 2009; JAHANGIR; SULTANA, 2008; JAHANGIR et al., 2005; JAHANGIR et al., 2006), pela interferência na transdução de sinais envolvidos na transcrição gênica (CHAUDHARY et al., 2009); e pela modificação na metabolização de alguns destes compostos pelas diminuição nas atividades das enzimas NADPH-citocromo P450 redutase e epóxido hidrolase micossomiais (QAMAR et al., 2012) e pelo aumento na atividade da enzima glutathiona S-transferase (JAHANGIR; SULTANA, 2008; JAHANGIR et al., 2006; QAMAR et al., 2012).

Tabela 15 – Síntese descritiva dos estudos que investigaram o efeito antitumoral dos diferentes isômeros de farnesol.

| Referência | Tipo de estudo (espécie/cepa e/ou linhagem celular) | Isômeros geométricos do farnesol/Origem (conforme descrito na literatura) | Objetivo | Dose/Concentração (via de administração) | Principais resultados e conclusão (conforme descrito na literatura) |
|-------------------|---|--|--|---|--|
| Lee et al. (2015) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> [camundongos atímicos nu/nu fêmeas e diferentes linhagens de células tumorais (células U266 e MM1.S de mieloma múltiplo humano, células A549 de câncer de pulmão humano, carcinoma de mama humano MDA-MB231, células BxPC-3 de câncer de pâncreas humano e células DU145 de carcinoma de próstata humano)]. | IN (Sigma-Aldrich) | Avaliar a atividade antitumoral do farnesol sozinho e combinado com bortezomibe sobre o crescimento de xenoenxertos tumorais humanos. | 60 mg/kg (i.p.) nos ensaios <i>in vivo</i> e 25, 50, 75, 10, 125 e 150 μ M (<i>in situ</i>) nos ensaios <i>in vitro</i> | O farnesol apresentou efeito antitumoral <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> , sendo que o efeito <i>in vivo</i> pode ser decorrente do bloqueio da ativação do transdutor de sinal e ativador da transcrição 3 (STAT3) induzida e constitutiva. O farnesol 100 μ M suprimiu a ativação constitutiva de STAT3 em 0,6 vezes. O farnesol inibe a fosforilação e translocação de STAT3 constitutiva em células U266, mas não em A549, MDAMB231, BxPC-3 e DU145 e teve pouco efeito sobre a expressão da proteína STAT3 total em todas as linhas de células tumorais analisadas. Este efeito inibitório da STAT3 foi mediado pela inibição da ativação de quinases do tipo <i>Janus-like kinase</i> (JAK1 e JAK2) e c-Src. Além disso, observou-se que o farnesol induz a apoptose em células U266 dependente da ativação da caspase-3. |
| Joo et al. (2015) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (linhagens de células Molt4 de leucemia linfoblástica humana). | <i>trans,trans</i> -farnesol (Sigma-Aldrich) | Examinar os caminhos de sinalização pelo qual o <i>trans,trans</i> -farnesol induz a apoptose em células Molt4 de leucemia linfoblástica humana. | 50 a 175 μ M (<i>in situ</i>) | O <i>trans,trans</i> -farnesol induz efetivamente a apoptose de células Molt4 de leucemia linfoblástica humana, sendo este efeito mediado através de um caminho que envolve a ativação do apoptossoma pela via |

(Continua na página seguinte)

Tabela 15 (continuação)

| | | | | | |
|---------------------|--|--------------------|---|---|--|
| | | | | | intrínseca e pela indução da cascata PERK-eIF2 α -ATF3/4 de uma maneira independente da ativação induzida pela MAPKs. |
| Park et al. (2014) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> (linhagens de células DU145 de câncer de próstata humano e camundongos nude machos). | IN (Sigma-Aldrich) | Investigar o efeito citotóxico do farnesol na indução da apoptose de células de câncer de próstata DU145. | 0 a 100 μ M (<i>in situ</i>) nos ensaios <i>in vitro</i> e 50 mg/kg (v.o.) nos ensaios <i>in vivo</i> | Os resultados demonstram que o farnesol tem potencial como agente quimioterápico contra o câncer de próstata DU145. O farnesol aumenta a apoptose celular de maneira dose-dependente, sendo este efeito mediado pelas vias de sinalização da proteína quinase ativadas por PI3K/Akt. Quando avaliados em modelos <i>in vivo</i> , o farnesol inibiu o crescimento tumoral em camundongos diminuindo significativamente o volume tumoral. |
| Qamar et al. (2012) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> (ratos Wistar machos). | IN (Fluka chemika) | Avaliar os efeitos quimiopreventivos do farnesol contra lesões pulmonares induzidas por benzo(a)pireno. | 100 e 200 mg/kg (v.o.) | O farnesol (100 e 200 mg/kg) promoveu uma redução significativa nas lesões pulmonares e respostas inflamatórias induzidas pela administração intratraquel de bezon(a)pireno. Além disso, o farnesol exibiu um efeito protetor dos níveis de fosfolipídios quando comparadas ao grupo controle. As atividades de metabolização de benzo(a)pireno no tecido pulmonar de ratos foram modificadas pelo farnesol, o qual reduziu as atividades do NADPH-citocromo P450 redutase e epóxido hidrolase microsomais e promoveu um aumento nas atividades da enzima glutathiona S-transferase. |

(Continua na página seguinte)

Tabela 15 (continuação)

| | | | | | | | |
|-------------------------|---|---|-----------------------------------|--|---------------------------------|--|--|
| | | | | | | | Os resultados deste estudo sugerem um papel protetor do farnesol contra os danos pulmonares e toxicidades causadas pelo benzo(a)pireno em ratos <i>Wistar</i> . |
| Chaudhary et al. (2009) | Estudo <i>vivo</i> (Swiss). | pré-clínico (camundongos) | <i>in</i> IN (Sigma Chemical Co.) | Avaliar o efeito quimiopreventivo do farnesol e os mecanismos de ação na tumorigênese induzida DMBA [9,10-dimetilbenz(A)antraceno] e TPA (12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato) | 25, 50 e 100 mg/kg (uso tópico) | | Nas doses de 25 e 50 mg/kg o farnesol reduziu o edema de pele, a hiperplasia, a expressão de COX-2 e a resposta ao estresse oxidativo induzido por TPA, porém estes efeitos não foram observados na dose de 100 mg/Kg. Foi observado que em doses menores (25 e 50 mg/Kg) o farnesol inibiu a via de sinalização de Ras/Raf/ERK1/2 nos tumores de pele dos camundongos, enquanto a dose de 100 mg/kg induziu esta mesma via. Além disso, todas as doses do farnesol alterou a relação Bax/Bcl-2 que leva à indução de apoptose. Os resultados mostram que a aplicação tópica do farnesol mostrou eficaz como agente quimioprotetor, promovendo um efeito anti-inflamatório, antioxidante e apoptótico. |
| Journe et al. (2008) | Estudo <i>vitro</i> (linhagens de células de mama MC-7 ER-positivas). | pré-clínico (linhagens de células de mama MC-7 ER-positivas). | <i>in</i> IN (MP Biomedicals) | Examinar o efeito do farnesol, um intermediário da via do mevalonato, em células de câncer de mama MC-7 ER-positivas. | 10 a 200 µM (<i>in situ</i>) | | O farnesol ativa FXR (receptores de farnesóides X) com consequente indução de mitogenicidade em células MCF-7 através de uma interferência positiva com ER, sendo essa estimulação do crescimento celular completamente reprimida por antiestrogênios. Os resultados sugerem que o farnesol induz uma diminuição no nível de ER nas células MCF-7, com um fenômeno no receptor do tipo “downregulation”. O farnesol |

(Continua na página seguinte)

Tabela 15 (continuação)

| | | | | | |
|------------------------|--|--------------------|--|------------------------------------|--|
| | | | | | aumenta, também, a expressão do receptor de progesterona (PgR) nestas células. |
| Au-Yeung et al. (2008) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (linhagens de células HT-29 de adenocarcinoma de colón humano com gene p53 mutado e células HCT 116 com gene p53 de tipo selvagem). | IN (Sigma-Aldrich) | Elucidar os mecanismos de ação do efeito anti-carcinogênico do farnesol e geranilgeraniol em células humanas de câncer de colón. | 0 a 400 μ M (<i>in situ</i>) | <p>O farnesol suprimiu o crescimento das células cancerígenas HT-29 e HCT 116, onde observou-se que o número de células viáveis tinha sido reduzido significativamente de forma dose-dependente em diferentes tempos de tratamento. Estas ações inibitórias de crescimento observadas com o tratamento com farnesol pode ser devido à indução de apoptose nas células de câncer de colón.</p> <p>Foram estimadas as concentrações efetivas de 25%, 50% e 75% (CE25, CE50 e CE75) do farnesol após 96 h de incubação, sendo encontradas as concentrações de 25, 50 e 100 μM, respectivamente, frente ambas as linhagens celulares.</p> <p>Foram investigadas as mudanças morfológicas nas células tratadas com farnesol e geranilgeraniol usando coloração fluorescente H33342. Observou-se que nas células tratadas com ambas substâncias a condensação da cromatina nuclear foi facilmente identificada e foi identificada, também, a presença de corpos granulares.</p> <p>Neste estudo os resultados mostraram que tanto o farnesol quanto o geranilgeraniol reduziram a expressão protéica de BclxL e</p> |

(Continua na página seguinte)

Tabela 15 (continuação)

| | | | | | |
|-----------------------------|--|--|--|------------------------------------|--|
| | | | | | <p>survívina em células HT-29 e HCT 116 e que estas substâncias podem induzir apoptose ativando caspase-3 que conduz à clivagem de PARP [poli(ADP)ribose polimerase]. Além disso, a inibição de proteínas anti-apoptóticas também podem desempenhar um papel durante estes processos. Outra etapa que está envolvida no efeito apoptótico induzido pelo farnesol é a ativação do PPARγ (receptores ativados por proliferadores de peroxissoma gama).</p> |
| Jahangir and Sultana (2008) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> (camundongos Swiss machos). | IN | Avaliar os efeitos antígenotóxicos do farnesol na genotoxicidade em camundongos induzida pelo benzo(a)pireno. | 1 e 2%kg ⁻¹ (v.o.) | <p>A administração do benzo(a)pireno promoveu a indução de enzimas metabolizadoras [Citocromo P450 (CYP) e atividade de aril hidrocarboneto hidroxilase (AHH)], perda de integridade do DNA e modulação do sistema de defesa antioxidante significativamente. Observou-se que o tratamento com farnesol (1 e 2%kg⁻¹) suprimiu as atividades de CYP e AHH em grupos de moduladores e restaurou a redução dos níveis glutatona, quinona redutase e glutatona-S-transferase. Além disso, o farnesol restaurou a integridade do DNA, promovendo uma redução simultânea nas quebras de cadeia de DNA e na formação de adultos de DNA <i>in vivo</i>.</p> |
| Wiseman et al. (2007) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> [(linhagens celulares de adenocarcinoma | <i>trans</i> -farnesol (Sigma-Aldrich) | Investigar os efeitos de três isoprenóides (álcool perílico, geraniol e <i>trans</i> -farnesol) no ciclo celular e | 0 a 120 μ M (<i>in situ</i>) | <p>O <i>trans</i>-farnesol promoveu a inibição da proliferação celular de forma dose-dependente tanto em células MIA PaCa-2 quanto em BxPC-3.</p> |

(Continua na página seguinte)

Tabela 15 (continuação)

| | | | |
|------------------------|--|--|---|
| | pancreático ductal MIA PaCa-2 (CRL-1420) e BxPC-3 (CRL-1687)]. | observar os mecanismos de ação antiproliferativo. | Quando administrado em combinação, tanto o <i>trans</i> -farnesol quanto os isoprenóides exibiram um efeito aditivo antiproliferativo contra as células cancerígenas MIA PaCa-2. Todos os três compostos isoprenóides induziram uma parada do ciclo celular G0/G1 que coincidiu com um aumento na expressão da ciclina quinase, proteínas inibidoras p21Cip1 e p27Kip1 e uma redução na ciclina A, ciclina B1 e nos níveis de proteína de quinase dependentes de ciclina (Cdk) 2. Os dados deste estudo sugerem fortemente que isoprenóides, bem como outros agentes farmacológicos que induz a expressão p21Cip1 e p27Kip1 podem ter efeitos quimioterapêuticos no tratamento do câncer de pâncreas. |
| Jahangir et al. (2006) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> (ratos Wistar machos). | Avaliar a eficácia antioxidante e os efeitos inibitórios do farnesol no aparecimento de marcadores de promoção tumoral precoce na toxicidade induzida por Fe-NTA (nitrilotriacetato férrico) em ratos. | 1 e 2%/kg (v.o.) O tratamento do farnesol (1 e 2%/kg) nos ratos intoxicados por nitrilotriacetato férrico reverteu os efeitos induzidos por este agente tóxico: o aumento no teor de H ₂ O ₂ (peróxido de hidrogênio), formação de malondialdeído, atividade da xantina oxidase, atividade da ornitina descarboxilase e a incorporação de 3H-timidina do DNA renal induzidos, com depleção simultânea nos níveis séricos de marcadores de toxicidade (nitrogênio uréico no sanguíneo e creatinina). Observou-se que o tratamento profilático com farnesol promoveu a |

(Continua na página seguinte)

Tabela 15 (continuação)

| | | | | | |
|------------------------|---|------------------|---|--|--|
| | | | | | restauração no conteúdo renal de glutathione do tipo dose-dependente e nas enzimas metabolizadoras de fase II (catalase, glutathione-S-transferase e quinona redutase). Os resultados deste estudo demonstram que o farnesol reduz acentuadamente o dano oxidativo e que este composto pode proporcionar proteção substancial contra a toxicidade renal induzida por Fe-NTA. |
| Jahangir et al. (2005) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> (camundongos Swiss machos). | IN | Avaliar o efeito antígeno-tóxico e antioxidante do farnesol contra a genotoxicidade e estresse oxidativo renal induzido por cloreto de cádmio (CdCl ₂). | 1% e 2% por kg de peso corporal (v.o.) | O farnesol promoveu a proteção das células contra os danos celulares e toxicidade induzidas por cádmio. O tratamento com farnesol reduziu a formação de aberrações dos cromossomos induzidas por cádmio nos micronúcleos. Este efeito antígeno-tóxico se dá devido a restauração de enzimas da fase II, depleção dos níveis de peroxidação lipídica e xantina oxidase e pelo aumento concomitante do status antioxidante. |
| Rao et al. (2002) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> (ratos F344 machos desmamados). | IN (Robeco Inc.) | Avaliar a eficácia do efeito quimiopreventivo do farnesol e lanosterol em focos de criptas colônicas aberrantes induzidas por azoximetano em ratos. | 1,5 % (v.o. – na dieta) | A administração do farnesol na dieta dos animais não promoveu alterações no fígado, rins, intestino e pulmão. Quanto aos efeitos quimiopreventivos, observou-se que o farnesol inibiu a formação de criptas colônicas aberrantes em cerca de 34% e reduziu a multiplicidade de criptas em cerca de 44%. Além disso, o farnesol não mostrou nenhum efeito sobre os níveis séricos de HDL (lipoproteína de alta densidade) e colesterol. |

(Continua na página seguinte)

Tabela 15 (continuação)

| | | | | | | |
|-----------------------|---|--|---|--|-------------------------------|--|
| | | | | | | Os dados obtidos nesse estudo demonstram que a administração dietética do farnesol 1,5% inibe a formação de lesões pré-neoplásicas no cólon. |
| Voziyan et al. (1995) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (linhagem de células CEM-C1 leucemia aguda). | <i>in vitro</i> (linhagem de células CEM-C1 leucemia aguda). | <i>trans,trans</i> -Farnesol (Aldrich Chemical Co.) | Verificar os mecanismos de citotoxicidade do <i>trans,trans</i> -farnesol. | 20 µM (<i>in situ</i>) | O <i>trans,trans</i> -farnesol (20 µM) reduziu a taxa de incorporação de rótulos radioativos em DAG (diacilglicerol) e fosfolipase C (PLC) específica para PC após cerca de 1 h de incubação. Foi observado que no tempo de incubação posterior (cerca de 2 h) o <i>trans,trans</i> -farnesol promoveu a inibição da fosfolipase D, sendo este efeito demonstrado pela diminuição na síntese de DAG, as quais foram seguidas pela fragmentação apoptótica do DNA e inibição do crescimento celular. Os resultados demonstram que o efeito citotóxico do <i>trans,trans</i> -farnesol envolve a participação dos mecanismos celulares de transdução de sinais dependentes da fosfolipase C, uma vez que foi demonstrada que a síntese de DAG derivado de PC, um ativador fisiológico de proteína quinase C (PKC), é inibida em células CEM-C1 nos primeiros tempos de incubação com <i>trans,trans</i> -farnesol. |
| Haug et al. (1994) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (linhagem de células CEM-C1) | <i>in vitro</i> (linhagem de células CEM-C1) | IN (American Radiolabeled Chemicals) | Verificar a participação da fosfatidilcolina no efeito apoptótico do farnesol em | 10 a 30 µM (<i>in situ</i>) | A incubação de células CEM-C1 com farnesol resultou na inibição do crescimento celular. No entanto, |

(Continua na página seguinte)

Tabela 15 (continuação)

| | | | | | | |
|---------------------|---|---|---|--|-----------------------------------|---|
| | resistentes a dexametasona). | a | células humanas. | linfoblastóides | | quando a proliferação celular foi presa em 0,05 mM de timidina, as duas concentrações do farnesol (18 e 27 μ M) que foram testadas não tiveram efeito sobre o número de células vivas para até 48 h de incubação. No presente estudo, entre vários fosfolípidos formadores de membrana que testado, apenas PC inverteu a inibição do crescimento celular induzido por farnesol. A inibição foi reversível também pelo DAG. Os resultados mostram que, após a incubação na presença de farnesol, as células diminuem a viabilidade; e que seu DNA nuclear se torna fragmentado em regiões ligantes internucleossômicas, mostrando padrão característico de bandas em 180 a 200 intervalos de pares de bases. Este efeito induzido por farnesol também foi demonstrado por citometria de fluxo por coloração do DNA celular com iodeto de propídio e foi parcialmente reversível com fosfatidilcolina. |
| Adany et al. (1994) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> [linhagens de células CEM-C1 e CEM-C7 de leucemia aguda humana, células C-4-1 de carcinoma cervical humano, fibroblastos CF-3 de prepúcio, células endoteliais de aorta bovina, células endoteliais de aorta | | <i>trans,trans</i> -farnesol (Aldrich Chemical Co.) | Comparar o efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol em diferentes linhagens celulares de origem neoplásica e não neoplásica. | 0 a 45 μ M (<i>in situ</i>) | O efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol na inibição do crescimento e morte celular foi mais pronunciado em células neoplásicas do que em células provenientes de tecidos normais. Observou-se que a inibição de células malignas foi mais significativa nas concentrações de 10 a 33 μ M de <i>trans,trans</i> -farnesol. Estes efeitos inibitórios sobre o |

(Continua na página seguinte)

Tabela 15 (continuação)

| | | | | | | |
|-----------------------|--|---|--|--------------------------|---|--|
| | porcinas, células da próstata, células HL-60 de leucemia promielocítica humana, células HeLa S3K de carcinoma epitelíode humano do colo do útero; células DU-145 de carcinoma humano da próstata e células L5 178Y-R de linfoma de rato (tumorgênica) e L5 178Y-S (não-origenário)]. | | | | | crescimento das células malignas tornaram-se evidentes após 24 h de incubação com 45 µM de <i>trans,trans</i> -farnesol e depois de 48 h de incubação praticamente todas as células estavam mortas. Quanto ao crescimento das células normais, observou-se que o crescimento foi inibido apenas 20-70% mesmo após 72 h de incubação com 45 µM de <i>trans,trans</i> -farnesol. Dentre as células não-malignas testadas, os fibroblastos CF-3 de prepúcio não foram sensíveis ao tratamento com <i>trans,trans</i> -farnesol. Os resultados deste estudo demonstra pela primeira vez que existe uma toxicidade seletiva do <i>trans,trans</i> -farnesol para células malignas, o que aumenta a possibilidade de que esta substância possam vir a ser aplicada na quimioterapia contra o câncer. |
| Voziyan et al. (1993) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (linhagem de células CEM-C1 de leucemia humana aguda). | <i>trans,trans</i> -farnesol (Aldrich Chemical Co.) | Investigar o mecanismo de inibição da biossíntese de PC pelo isoprenóide <i>trans,trans</i> -farnesol em linhagem de células leucêmicas humanas. | 20 µM (<i>in situ</i>) | O farnesol inibiu a incorporação de [3H]colina em lipídios celulares e reduziu a incorporação de rótulo radioativo em PC. Na presença de <i>trans,trans</i> -farnesol a biossíntese de PC não foi inibida durante os primeiros 30 min de incubação, mas foi inibido em 31% entre 30 e 60 min e 45% entre 60 e 90 min. Observou-se que o <i>trans,trans</i> -farnesol não promoveu nenhuma mudança nas atividades enzimáticas de CTP (colina-fosfato citidililtransferas) e DAG. Entretanto, o farnesol promoveu uma | |

(Continua na página seguinte)

| | | | | | |
|---------------------------|---|---|--|--------------------------------|---|
| | | | | | redução significativa na atividade da enzima CPT (colesterol fosfotransferase), inibindo, conseqüentemente, a biossíntese de PC. |
| Melnykovich et al. (1992) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (linhagens de células CEM-C1 e CEM-C7 de leucemia humana aguda e de células HL-60 de leucemia promielocítica). | <i>trans,trans</i> -farnesol (Aldrich Chemical Co.) | Examinar os efeitos do <i>trans,trans</i> -farnesol exógeno no crescimento em linhagens de células T de leucemia humana. | 9 a 31,5 µM (<i>in situ</i>) | Observou-se que após 72 h de incubação o <i>trans,trans</i> -farnesol apresentou um efeito inibidor sobre a proliferação das células leucêmicas do tipo CEM-C1, sendo este efeito do tipo dose-dependente. Com base na análise da distribuição do tamanho celular, os dados evidenciaram que as concentrações do <i>trans,trans</i> -farnesol utilizadas neste estudo não promoveu destruição celular, o que demonstra que o efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol nestas células estava relacionado à inibição da proliferação celular ao invés da lise celular. A inibição do crescimento celular pelo <i>trans,trans</i> -farnesol foi examinada também nas linhagens de células CEM-C7 sensíveis aos glicocorticóides e nas células promielocíticas humana HL-60. As células CEM-C7 foram mais resistentes e as células HL-60 foram mais sensíveis ao <i>trans,trans</i> -farnesol do que a linha CEM-C1. Este efeito inibitório promovido pelo <i>trans,trans</i> -farnesol foi impedido quando as células foram incubadas em com fosfatidilcolina ou diacilglicerol. |

5.1.3. Efeitos nos sistemas nervoso e cardiovascular

Na tabela 16 é possível observar os artigos que investigaram os efeitos do farnesol no sistema nervoso e cardiovascular.

Existem poucos relatos de trabalhos que investigaram a ação do farnesol no sistema nervoso. Dos artigos inclusos nesta RS, três estudos avaliaram o efeito dos diferentes isômeros de farnesol (isômero não especificado) no sistema nervoso, os quais demonstram que esta substância apresenta propriedades analgésicas (SHAHNOURI; TABARI; ARAGHI, 2016; SILVA et al., 2017); decorrente da possível interação do farnesol com canais de K^+ ATP e com os receptores 5-HT₃ (SILVA et al., 2017), ansiolítico, sedativo, depressor (SHAHNOURI; TABARI; ARAGHI, 2016) e neuroprotetor (SANTHANASABAPATHY; SUDHANDIRAN, 2015). Dos estudos que investigaram a ação do farnesol no SNC, somente Santhanasabapathy & Sudhandiran (2015) especificaram o tipo de isômero utilizado (*trans*-farnesol).

Shahnouri, Tabari & Araghi (2016) associam o efeito ansiolítico promovido pelo farnesol (isômero não especificado) com a redução nos níveis plasmáticos de cortisol decorrentes da administração desta substância. Quanto ao efeito neuroprotetor, Santhanasabapathy & Sudhandiran (2015) afirmam que o *trans*-farnesol regula a cascata apoptótica intrínseca, o que faz com que haja uma proteção nos neurônios dos danos oxidativos promovidos por lipopolissacarídeos.

Os efeitos observados nos trabalhos de Silva e colaboradores (2017) e Santhanasabapathy & Sudhandiran (2015) corroboram com os resultados encontrados no estudo de Oliveira-Júnior e colaboradores (2013), que objetivou avaliar a atividade antinociceptiva e neurotóxica do farnesol em camundongos. Como resultados os autores observaram que o farnesol (em doses de 50, 100 e 200 mg/Kg, i.p.) foi eficaz em reduzir o estímulo alérgico e que, nas doses de 50 e 100 mg/Kg, não causou lesões nas regiões cerebrais avaliadas (hipocampo e estriado).

No sistema cardiovascular, o farnesol (isômeros não especificados) e *trans,trans*-farnesol possuem efeito cardioprotetor e promovem ações cardiovasculares que levam à diminuição da pressão arterial, tais como: inotropismo negativo no átrio esquerdo, alteração na condutância do Ca^{+2} na membrana celular e vasodilatação (tabela 16).

Com relação aos mecanismos de ação responsáveis pelos efeitos cardiovasculares do farnesol; ao avaliar o efeito cardioprotetor desta substância em ratos que sofreram lesões cardíacas isquêmicas, Szücs e colaboradores (2013) observaram que o farnesol (isômero não

especificado) diminui o tamanho da área infartada pela sua provável interação na via do mevalonato, a qual promove um aumento nas proteínas pela geranylgeranilação. Já no trabalho Ferdinandy e colaboradores (1998), os autores observam que o farnesol (isômero não especificado) restaura o pré-condicionamento cardíaco em ratos com hipercolesteremia e não afeta a gravidade da isquemia no coração de ratos com dieta rica em colesterol. No que se refere aos efeitos vasoativos do farnesol (isômero não especificado) e *trans,trans*-farnesol, os estudos demonstram que esta substância atua promovendo o bloqueio de canais de Ca^{+2} do tipo L (LUFT et al., 1999; ROULLET et al., 1997b; ROULLET et al., 1996), sendo que esta ação inibitória é independente da proteína G dos canais de Ca^{+2} e está presente apenas em células que expressam a subunidade α_1 (LUFT et al., 1999).

Tabela 16 – Síntese descritiva dos estudos que investigaram os efeitos dos diferentes isômeros de farnesol nos sistemas nervoso e cardiovascular.

| Referências | Tipo de estudo (espécie/cepa e/ou linhagem celular) | Isômeros geométricos do farnesol/Origem (conforme descrito na literatura) | Objetivo | Dose/Concentration (route of administration) | Principais resultados e conclusão (conforme descrito na literatura) |
|---------------------------|---|---|---|--|--|
| Silva et al. (2017) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> (camundongos Swiss machos). | IN (Sigma-Aldrich) | Avaliar o efeito antinociceptivo do farnesol e do complexo β CD/FAR (β -ciclodextrina + farnesol). | 50 e 100 mg/kg (v.o.) | Tanto o farnesol quanto o complexo β CD/FAR (50 e 100 mg/kg) apresentaram efeito antinociceptivo, promovendo uma redução nos comportamentos associados a dor orofaciais, possivelmente mediado pelos canais de K^+ dependentes de ATP e pelos receptores 5-hidroxitriptamina (5-HT ₃). Para investigar se o eventual prejuízo na coordenação motora dos camundongos tratados com farnesol poderia influenciar nos efeitos analgésicos foi realizado o teste do rota-rod. Observou-se que ambas as substâncias testadas não promoveram nenhuma alteração significativa no desempenho motor dos animais. Além disso, o complexo β CD/FAR demonstrou melhorar as propriedades farmacológicas quando comparado ao composto ativo sozinho. |
| Vasconcelos et al. (2017) | Estudo pré-clínico <i>ex vivo</i> (cobaias machos – <i>Cavia porcellus</i>). | IN (Sigma-Aldrich) | Avaliar os efeitos farmacológicos de sete terpenos (farnesol, nerol, citronelol, geraniol, | 0,01 a 10 mM (<i>in situ</i>) | O farnesol promoveu um efeito inotrópico negativo, sendo um dos compostos que apresentou uma maior potência negativa. |

(Continua na página seguinte)

Tabela 16 (continuação)

| | | | | | |
|-------------------------|---|--------------------|---|-----------------------|---|
| | | | isoprenol, fitol e nerolidol) na contratilidade do músculo cardíaco do átrio esquerdo. | | Analisando os resultados, foi observada uma relação direta entre a potência relativa dos terpenos avaliados e a sua respectiva classe química, sendo a quantidade de unidades isoprênicas um fator que influencia diretamente a potência farmacológica. Por exemplo, o farnesol (sesquiterpenóide) foi 11 vezes mais potente do que o seu monoterpênóide equivalente (geraniol). Da mesma forma, os monoterpênos nerol, citrionelol e geraniol apresentaram um efeito inotrópico negativo maior do que o hemiterpeno isoprenol. De todos os terpenos testados apenas o fitol não foi capaz de reduzir a resposta contrátil do átrio esquerdo de cobaia. |
| Shahnouri et al. (2016) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> (camundongos Swiss albinos machos). | IN (Sigma-Aldrich) | Avaliar as propriedades neurofarmacológicas do farnesol e sua influência sobre os níveis plasmáticos de cortisol. | 50 e 100 mg/kg (i.p.) | Para avaliar os efeitos centrais do farnesol (efeito ansiolítico, sedativo analgésico e depressor) foram realizados o teste do campo aberto, labirinto em cruz elevado, teste do nado forçado e teste da placa quente. Observou-se que no teste do campo aberto o farnesol na dose de 100 mg/kg promoveu uma diminuição significativa na atividade locomotora. Já no labirinto em cruz elevado foi observado que nesta mesma dose o farnesol levou a um aumento no número de entradas e no tempo de permanência dos animais nos braços abertos. No teste do nado forçado tanto a dose de 50 mg/kg quanto a de 100 mg/kg do farnesol promoveu um aumento no tempo de imobilidade. Na avaliação do efeito |

(Continua na página seguinte)

Tabela 16 (continuação)

| | | | | | |
|--|---|--|--|---|--|
| | | | | | analgésico através do teste da placa quente, o farnesol na dose de 100 mg/kg promoveu um prolongamento significativo na latência das respostas aos estímulos nociceptivos. Foi observado que o farnesol promove uma redução nos níveis plasmáticos de cortisol, o que pode explicar o efeito ansiolítico. Os resultados encontrados neste estudo sugerem que o farnesol possui potenciais efeitos do tipo ansiolítico-Like e induz depressão e alterações na atividade locomotora. Fornecendo evidências farmacológicas que apoiam o uso do farnesol como sedativo para o alívio de transtornos de ansiedade. |
| Santhanasabapathy and Sudhandiran (2015) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> (camundongos Swiss albinos machos). | <i>trans</i> -farnesol (Sigma-Aldrich) | Investigar o efeito protetor do <i>trans</i> -farnesol na neurodegeneração induzida por lipopolissacarídeos (LPS) através da modulação da cascata apoptótica intrínseca no córtex e hipocampo. | 25, 50, 100, 150 e 200 mg/kg (v.o.) | O <i>trans</i> -farnesol promoveu um efeito neuroprotetor atenuando as alterações degenerativas no córtex e hipocampo dos cérebros dos ratos, sendo que este efeito se dá pela regulação da cascata apoptótica intrínseca decorrente da proteção dos neurônios de danos oxidativos. |
| Szücs et al. (2013) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> (ratos Wistar machos). | IN (SAFC Supply Solution) | Avaliar o efeito cardioprotetor do farnesol e seu mecanismo de ação contra lesões isquêmicas. | 0,2, 1, 5 e 50 mg/kg/dia (v.o.) | O farnesol diminuiu o tamanho do infarto com efeito do tipo dose-resposta, sendo este efeito cardioprotetor mediado provavelmente pelo aumento de proteínas pela geranilgeranilação (da via do mevalonato) e parece ser independente do efeito antioxidante do farnesol. |
| Luft et al. (1999) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> [células | IN (Aldrich) | Caracterizar os efeitos do farnesol em canais Ca ⁺² | 100 mmol/L (<i>in situ</i>) nos ensaios <i>in vitro</i> e | O farnesol bloqueou as correntes do canal de Ca ⁺² no estado de repouso, |

(Continua na página seguinte)

Tabela 16 (continuação)

| | | | | | |
|--------------------------|--|--------------------|---|--|--|
| | A7r5 de aorta de ratos, células C9 de ovário de hamster chinês que expressam canais de Ca ²⁺ com subunidade α_1c (CHOC9) e ratos SBN/yr machos]. | vasculares tipo L. | 500 mg/kg (v.o.) nos ensaios <i>in vivo</i> | <p>sendo que o bloqueio inicial foi de 63±6% nas células A7r5 e de 50±9% nas células CHOC9, com um potencial de retenção de 280 mV. Em ambas as linhas celulares, a inibição da corrente pelo farnesol era proeminente em toda a faixa de tensão sem alterações nos picos da relação corrente-tensão. E nem a infusão intracelular do análogo do GDP estável (guanosina difosfato) (100 mmol/L) e nem a despolarização da membrana de condicionamento forte impediu o efeito inibitório do farnesol, o que indica que esta inibição é independente da proteína G dos canais de Ca²⁺.</p> <p>Na avaliação efeito do farnesol em ratos normotensos e hipertensos, foi administrada uma dose de 500 mg/kg e observou-se que o farnesol reduziu significativamente a pressão arterial nos ratos hipertensos em um período menor que 48 h.</p> <p>Com os resultados obtidos, conclui-se que o farnesol pode representar um antagonista dos canais de Ca²⁺ do músculo liso vascular. Uma vez que o farnesol é ativo em células que expressam apenas a subunidade α_1, os dados sugerem que esta subunidade representa o alvo molecular para a ligação do farnesol. Além disso, o farnesol tem uma ação hipotensora que pode ser relevante em modelos <i>in vivo</i>.</p> | |
| Ferdinandy et al. (1998) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> (ratos Wistar machos). | IN (Sigma-Aldrich) | Avaliar o efeito cardioprotetor do farnesol na recuperação do pré-condicionamento e síntese de óxido nítrico cardíaco | 5 μ M/kg (i.p.) | O tratamento com farnesol restaura o pré-condicionamento, mas não restaura a síntese basal de óxido nítrico cardíaco em ratos com hipercolesterolemia. Além disso, observou-se que o |

(Continua na página seguinte)

Tabela 16 (continuação)

| | | | | | |
|------------------------|---|--|--|--|--|
| | | | em ratos com dieta rica em colesterol. | | tratamento com farnesol não afeta significativamente a gravidade da isquemia no protocolo de não pré-condicionamento em corações de ratos alimentados com colesterol. |
| Roullet et al. (1997a) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (células A7r5 de aorta de ratos). | <i>trans,trans</i> -farnesol (Aldrich) | Caracterizar o efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol na fluidez da membrana das células do músculo liso vascular. | 10 e 30 μM (<i>in situ</i>) | O <i>trans,trans</i> -farnesol reduziu significativamente os transientes $[\text{Ca}^{+2}]$ induzidos por KCl, mas não modificou as propriedades dinâmicas na membrana celular. Além disso, administração do <i>trans,trans</i> -farnesol reduziu a sinalização nos canais de Ca^{+2} voltagem-dependentes nas células isoladas do músculo liso, sendo que este efeito não é consequência da ativação de enzimas Ca^{+2} -ATPases e nem do aumento inespecífico na fluidez da membrana celular. |
| Roullet et al. (1997b) | Estudo pré-clínico <i>ex vivo</i> e <i>in vitro</i> (artérias isoladas do leito arterial mesentérico de ratos Wistar machos e células A10 e A7r5 de músculo liso vascular). | <i>trans,trans</i> -farnesol (Aldrich) | Explorar as propriedades vasoativas do <i>trans,trans</i> -farnesol. | 5 a 30 μM (<i>in situ</i>) | O <i>trans,trans</i> -farnesol reduziu a sinalização do Ca^{+2} em artérias e células do músculo liso e inibiu as correntes dos canais de Ca^{+2} do tipo L voltagem-dependentes. O bloqueio do canal Ca^{+2} do tipo L também ocorreu sob configuração de vedação apertada (giga-ohm) usando análise de canal único anexada a célula, sugerindo assim uma possível ação do <i>trans,trans</i> -farnesol dentro do espaço intracelular. Além disso, foi observado que o <i>trans,trans</i> -farnesol não afetou as vias sensíveis a Ca^{+2} implicadas na contração do músculo liso. Os resultados indicam que o <i>trans,trans</i> -farnesol é um inibidor da sinalização de Ca^{+2} no músculo liso vascular, atuando como um bloqueador dos canais de Ca^{+2} do tipo L presentes na membrana plasmática. |

(Continua na página seguinte)

Tabela 16 (continuação)

| | | | | | |
|-----------------------|---|---|---|--|---|
| Roullet et al. (1996) | Estudo pré-clínico <i>ex vivo</i> (aorta torácicas isoladas de ratos <i>Wistar</i> machos e segmentos arteriais de pacientes com doenças vasculares periféricas). | <i>trans,trans</i> -farnesol (Aldrich Chemical Co.) | Caracterizar as propriedades vasoativas dos análogos de farnesil na inibição da vasoconstrição induzida por norepinefrina em artérias de ratos e humanos. | 15 e 30 μM (<i>in situ</i>) | Todas as concentrações do <i>trans,trans</i> -farnesol que foram avaliadas apresentaram um efeito inibitório na contração induzida por norepinefrina, sendo este efeito do tipo dose-dependente. Além disso, observou-se que o <i>trans,trans</i> -farnesol também foi eficaz na inibição das contrações induzida por KCl (cloreto de potássio) e NaF (fluoreto de sódio), sugerindo uma ação complexa sobre os canais de Ca^{+2} acoplados a proteína G. Quando testado em artérias humanas, o <i>trans,trans</i> -farnesol demonstrou ser um potente inibidor da vasoconstrição, onde foi observado que após 30 min da administração do <i>trans,trans</i> -farnesol na concentração de 30 μM obteve-se uma constrição máxima de $34,6 \pm 5,8\%$, nas contrações induzidas por norepinefrina. |
|-----------------------|---|---|---|--|---|

IN – Isômero não especificado

5.1.4. Efeitos metabólicos e no sistema hepático

Dos 4 artigos inclusos nesta classificação, 2 avaliaram a ação do farnesol no sistema hepático (ŠPIČÁKOVÁ et al., 2017; VINHOLES et al., 2014) e 2 avaliaram os efeitos metabólicos (DUCAN; ACHER, 2008; GOTO et al., 2011) (tabela 17). Quanto ao tipo de isômero do farnesol investigado, apenas o estudo de Špičáková et al. (2017) não especifica o tipo de isômero. Em outros estudos, os autores investigaram os efeitos metabólicos ou hepáticos do *trans,trans*-farnesol.

No trabalho de Špičáková e colaboradores (2017), três sesquiterpenos (farnesol, *trans*-nerolidol e *cis*-nerolidol) foram avaliadas quanto aos seus efeitos inibitório nas atividades enzimáticas na família do citocromo P450 (CYPs, CBR1, NQO1, AKRs, GSTs, UGTs e SULTs). Os resultados obtidos demonstraram que tanto o farnesol quanto os demais sesquiterpenos, na concentração de 100 µM, inibiram a atividade de enzimas pertencentes a subfamília CYPs (CYP1A, CYP2 e CYP3A). A CYP3A4 é uma das principais enzimas envolvidas na metabolização de fármacos, o que sugere que os sesquiterpenos avaliados neste estudo podem interagir e influenciar a metabolização quando administrados em associação com outros fármacos.

Um outro efeito do farnesol e outros compostos sesquiterpenos no sistema hepático é a hepatoproteção. Vinholes e colaboradores (2014) observaram que, em hepatócitos de fígados de ratos, o *trans,trans*-farnesol e outros sesquiterpenos, na concentração de 1 mM, foram eficazes em promover um efeito hepatoprotetor contra a peroxidação lipídica, onde foi observado que de todos os sesquiterpenos avaliados o *trans,trans*-farnesol foi o composto mais eficaz em promover uma redução nos níveis de MDA.

No que concerne aos efeitos metabólicos do *trans,trans*-farnesol, os estudos demonstram que esta substância promove uma redução na concentração sérica de triglicerídeos (DUCAN; ACHER, 2008; GOTO et al., 2011), impede a hiperglicemia e esteatose hepática em animais obesos com dieta rica em gordura (GOTO et al., 2011). Ambos estudos sugerem que o efeito do *trans,trans*-farnesol em melhorar as anormalidades metabólicas é decorrente da ação desta substância em promover um aumento nas expressões de RNAm de PPAR α (do tipo “upregulation”) nos genes-alvo envolvidos na oxidação de ácidos graxos (DUCAN; ACHER, 2008; GOTO et al., 2011) e genes envolvidos na β -oxidação mitocondrial. Além disso, Goto e colaboradores. (2011) observaram que o *trans,trans*-farnesol aumenta a expressão de RNAm em genes-alvo do FRX e diminui a

expressão dos genes da proteína 1c de ligação ao elemento de resposta aos esteroides e da ácido graxo sintase.

Tabela 17 – Síntese descritiva dos estudos que investigaram os efeitos metabólicos e hepáticos dos diferentes isômeros de farnesol.

| Referências | Tipo de estudo (espécie/cepa e/ou linhagem celular) | Isômeros geométricos do farnesol/Origem (conforme descrito na literatura) | Objetivo | Dose/Concentração (vias de administração) | Principais resultados e conclusão (conforme descrito na literatura) |
|-------------------------|--|---|--|---|--|
| Špičáková et al. (2017) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (hepatócitos de fígados de ratos Wistar machos e de fígados humanos excluídos do transplante por razões médicas). | IU (Sigma-Aldrich) | Avaliar o efeito inibitório de três sesquiterpenos acíclicos (farnesol, trans-nerolidol e cis-nerolidol) nas atividades de enzimas pertencentes a família de citocromos P450 (CYPs, CBR1, NQO1, AKRs, GSTs, UGTs e SULTs). | 0 a 100 μ M (<i>in situ</i>) | Tanto o farnesol quanto os demais sesquiterpenos testados na concentração de 100 μ M promoveram uma inibição significativa das atividades enzimáticas de citocromos P450 (subfamílias: CYP1A, CYP2B e CYP3A) dos fígados de ratos, bem como nos microsomas hepáticos humanos. Por outro lado, todos os sesquiterpenos testados não afetaram significativamente as atividades de enzimas redutoras de carbono (AKR1A, AKR1C, CBR1 e NQO1) e enzimas de conjugação (GSTs, UGT e SULT). Os resultados obtidos neste estudo demonstram que o farnesol e os demais sesquiterpenos avaliados podem promover interações quando administradas em associação com outros fármacos, uma vez que a enzima CYP3A4 (pertencente a subfamília CYP3A) é responsável pela metabolização de cerca de 50% de todos os fármacos. |
| Vinholes et al. (2014) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (hepatócitos de fígados de ratos Wistar fêmeas). | <i>trans,trans</i> -farnesol (Sigma-Aldrich) | Investigar a potencial atividade hepatoprotetora do <i>trans,trans</i> -farnesol e outros sesquiterpenos contra a peroxidação lipídica. | 1 mM (<i>in situ</i>) | Com exceção de α -humuleno, todos os sesquiterpenos testados (1 mM) foram eficazes na redução dos níveis de malonaldeído (MDA) na peroxidação lipídica endógena e induzida. O <i>trans,trans</i> -farnesol foi um dos compostos que promoveu um maior efeito |

(Continua na página seguinte)

Tabela 17 (continuação)

| | | | | | |
|--------------------------|---|--|--|--|---|
| Goto et al. (2011) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> (camundongos obesos machos) KK-Ay | <i>trans,trans</i> -farnesol (Sigma-Aldrich) | Investigar se o <i>trans,trans</i> -farnesol funciona como um agonista dual dietético para ativar o PPAR α (receptores ativados por proliferadores de peroxissoma alfa) e PPAR γ em modelos <i>in vivo</i> . | 0,5% (v.o. – na dieta) | hepatoprotetor, com um percentual de redução de MDA de $69,72 \pm 1,82\%$. |
| | | | | | <p>O <i>trans,trans</i>-farnesol administrado na dieta dos camundongos foi eficaz em impedir a hiperglicemia e esteatose hepática induzida pela dieta rica em gordura, promovendo uma redução significativa nos níveis de glicemia, glicosúria e a incidência e conteúdo de triglicerídeos hepáticos. Estes efeitos podem ser decorrentes da dupla ativação do FXR e PPARα (receptores ativados por proliferadores de peroxissomas α).</p> <p>O <i>trans,trans</i>-farnesol promoveu um efeito do tipo “upregulated”, aumentando as expressões de RNAm de PPARα nos genes-alvo envolvidos na oxidação de ácidos graxos no fígado. Por outro lado, o <i>trans-trans</i>-farnesol não foi eficaz para regular as expressões do RNAm de PPARγ (receptores ativados por proliferadores de peroxissomas γ). Além disso, o <i>trans-trans</i>-farnesol aumentou o nível de expressão de RNAm em genes-alvo do FXR e diminuíram os dos da proteína 1c de ligação ao elemento de resposta aos esteroides e da ácido graxo sintase.</p> <p>Esses achados sugerem que o <i>trans,trans</i>-farnesol pode melhorar anormalidades metabólicas em camundongos através de caminhos dependentes e independentes de PPARα e que a ativação de FXR pelo <i>trans,trans</i>-farnesol pode contribuir parcialmente com o efeito do PPARα na redução do conteúdo de triglicerídeos hepáticos.</p> |
| Duncan and Archer (2008) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> (ratos) | <i>trans,trans</i> -farnesol (Sigma-Aldrich) | Avaliar o efeito do <i>trans,trans</i> -farnesol sobre | 500 mg/kg (v.o.) nos ensaios <i>in vivo</i> e 10, 20 | O <i>trans,trans</i> -farnesol reduziu a concentração sérica de triglicerídeos. Os |

(Continua na página seguinte)

Tabela 17 (continuação)

| | | | |
|--|---|---|--|
| Sprague-Dawley machos e linhagens de hepatócitos de rato Clone-9). | os níveis séricos de triglicerídeos, bem como verificar os possíveis mecanismos de ação responsáveis por estes efeitos. | e 30 μM (<i>in situ</i>) nos ensaios <i>in vitro</i> | mecanismos que possivelmente medeiam esta resposta incluem a oxidação de ácidos graxos prejudicados presentes nos hepatócitos, sendo este resultante da ativação de PPAR α e pelo efeito “upregulation” de genes envolvidos na β -oxidação mitocondrial, bem como pelo efeito “downregulation” na síntese de ácidos graxos resultante da diminuição nos níveis de RNAm. |
|--|---|---|--|

IN – Isômeros não específicos

5.1.5. Outros efeitos farmacológicos e toxicológicos

Um total de 6 artigos foram inclusos nesta categoria, os quais avaliaram as seguintes propriedades farmacológicas e/ou toxicológicas do farnesol: atividade anti-inflamatória (KHAN; SULTANA, 2011; MARCUZZI et al., 2008; QAMAR; SULTANA, 2008), ação antioxidante (KHAN; SULTANA, 2011; LATEEF et al., 2013; QAMAR; SULTANA, 2008), efeito no crescimento no crescimento e diferenciação celular na epiderme (HANLEY et al., 2000), excipiente para melhorar a absorção transdérmica de fármacos (NOKODCHI et al., 2007) e mecanismos de ação envolvidos no efeito apoptótico (LAGACE; RIDGWAY, 2005) (tabela 18). Quanto ao tipo de isômero do farnesol investigado, apenas o estudo de Hanley et al. (2000) especifica o tipo de isômero; e em sua pesquisa os autores verificaram os mecanismos de ação responsáveis pelo efeito do *trans,trans*-farnesol no crescimento e diferenciação celular na epiderme.

No estudo de Qamar & Sultana (2008), o qual objetivou avaliar o efeito protetor do farnesol contra os danos induzidos pela administração intratraqueal de EFC, o tratamento dos ratos com farnesol (isômero não especificado), nas doses de 50 e 100 mg/kg (v.o.), foi eficaz em proteger os pulmões dos animais contra os danos causados pelo EFC. Os autores observaram que, nos fluídos de lavagem brocoalveolar, o farnesol (isômero não especificado) promoveu uma redução nos níveis de lactato desidrogenase, na contagem do número total de células e nos níveis de malondialdeído. Além disso, o tratamento com farnesol reduziu o edema pulmonar, aumentou os níveis de glutathione, diminuiu a citotoxicidade e a peroxidação lipídica na membrana; sendo que estes resultados foram convalidados com os achados histopatológicos, que demonstrou uma redução na infiltração celular e edema e uma arquitetura alveolar intacta.

Lateef e colaboradores (2013) também investigaram os efeitos protetores do farnesol (isômero não especificado – nas doses de 50 e 100 mg/kg, v.o.) em ratos expostos ao EFC; os resultados obtidos demonstraram que o farnesol exibiu um efeito protetor contra a estratificação nos núcleos das células dos testículos e próstata induzidas pelo EFC; sendo este efeito possivelmente decorrente da atividade antioxidante do farnesol através da diminuição das atividades enzimáticas da xantina oxidase peroxidação lipídica.

Khan & Sultana (2011), ao avaliarem o efeito protetor do farnesol (isômero não especificado) contra os danos teciduais induzidos por 1,2-dimetil-hidrazina (DMH), observaram que o tratamento dos ratos com farnesol (isômero não especificado – doses de 50 e 100 mg/kg, v.o.) suprimiu os danos induzidos pelo DMH devido a sua atividade anti-

inflamatória e por proteger os tecidos dos danos oxidativos, através da redução na peroxidação lipídica e atividades enzimáticas (superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione-S-transferase e quinona reductase). Além de proteger o tecido dos danos inflamatórios induzidos pelo EFC e DMH, o farnesol (na dose de 500 mg/kg, i.p. – isômeros não especificado) demonstrou ser eficaz na prevenção da inflamação induzida por alendronato/muramyl dipeptide, o qual promove um distúrbio inflamatório semelhante a deficiência de mevalonato quinase (MARCUIZZI et al., 2008).

Referente ao efeito do farnesol (isômero não especificado) no crescimento no crescimento e diferenciação celular na epiderme, Lagace & Ridgway (2005) observaram que o farnesol promove seu efeito apoptótico por uma via dependente da clivagem de caspases e exportação nuclear de CCT α , o que corrobora com outros estudos que avaliaram o efeito apoptótico do farnesol em diferentes tipos de células (AU-YEUNG et al., 2008; LEE et al., 2015; LIU et al., 2010).

Quanto ao uso do farnesol (isômero não especificado) como excipiente para melhorar a absorção transdérmica de fármacos, Nokhodochi e colaboradores (2007), ao investigar o efeito de diferentes tipos de terpenos (carvona, óxido de limoneno, mentona, farnesol e nerolidol) na absorção transdérmica do diclofenaco sódico, observaram que de todos os terpenos avaliados o farnesol foi a segunda substância mais eficaz no aumento do coeficiente de permeabilidade deste fármaco. Nas indústrias farmacêuticas compostos terpênicos já são utilizados com esta finalidade e como princípios ativos de fitofármacos (OLIVEIRA et al., 2014), sendo este uso decorrente provavelmente das características lipofílicas destes compostos (NOKHODOCHI et al, 2007).

Tabela 18 – Síntese descritiva do estudos que investigaram os outros efeitos farmacológicos e toxicológicos dos diferentes isômeros de farnesol.

| Referência | Tipo de estudo (espécie/cepa e/ou linhagem celular) | Isômeros geométricos do farnesol/Origem (conforme descrito na literatura) | Objetivo | Dose/Concentration (route of administration) | Principais resultados e conclusão (conforme descrito na literatura) |
|-------------------------|--|--|---|---|---|
| Lateef et al. (2013) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> (ratos Wistar machos). | IU (Fluka chemika) | Investigar os efeitos do farnesol contra o estresse oxidativo induzido pelo extrato de fumo de cigarro (EFC) e verificar as alterações histológicas nos testículos e próstata de ratos. | 50 e 100 mg/kg (v.o.) | <p>O farnesol (50 e 100 mg/kg) diminuíram significativamente as atividades enzimáticas da xantina oxidase e peroxidação lipídica, ambas enzimas são responsáveis pela produção de radicais livres.</p> <p>O EFC promoveu uma redução nos níveis de glutathione e nas atividades de enzimas dependentes de glutathione e enzimas antioxidantes, sendo que os grupos tratados com farnesol tiveram este efeito revertido.</p> <p>Quando aos achados histológicos, observou-se que o farnesol exibiu um efeito protetor contra a estratificação de núcleos induzida pelo EFC. Além disso, os animais tratados com farnesol apresentaram próstata com arquitetura normal.</p> <p>Também foi demonstrado que o tratamento com EFC resultou em diminuição das células leydig, sendo que o pré-tratamento com farnesol mostrou efeitos protetores significativos contra esta redução induzida pelo EFC nos testículos de ratos Wistar.</p> |
| Khan and Sultana (2011) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> (ratos Wistar machos). | IU (Fluka chemika) | Avaliar o efeito protetor do farnesol contra o estresse oxidativo, resposta | 50 e 100 mg/kg (v.o.) | O tratamento com farnesol promoveu uma melhora significativamente nos danos oxidativos induzidos por DMH, |

(Continua na página seguinte)

Tabela 18 (continuação)

inflamatória e danos no tecido apoptótico induzidos por 1,2-dimetilhidrazina (DMH).

diminuindo a peroxidação lipídica do tecido acompanhado pelo aumento de atividades enzimáticas das seguintes enzimas: superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione-S-transferase e quinone reductase. Além disso, o tratamento com farnesol diminuiu significativamente a atividade da caspase-3 em tecido colônico. Os achados histológicos também revelaram que o tratamento com farnesol reduziu significativamente gravidade do edema submucoso, a destruição regional da camada mucosa e a infiltração intensa de células inflamatórias nas camadas mucosas e submucosas do cólon.

Os dados do presente estudo sugerem que o farnesol suprime efetivamente o dano induzido por DMH na mucosa colônica de ratos Wistar, melhorando as respostas ao estresse oxidativo, inflamatórias e apoptóticas.

| | | | | | |
|--------------------------|--|--------------------|--|-----------------------|--|
| Qamar and Sultana (2008) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> (ratos Wistar machos). | IU (Fluka chemika) | Avaliar o efeito protetor do farnesol contra a inflamação pulmonar maciça, estresse oxidativo e consequentes ferimentos induzidos pela administração intratraqueal do EFC. | 50 e 100 mg/kg (v.o.) | O tratamento com farnesol (50 e 100 mg/kg) foi eficaz em proteger os pulmões contra os danos causados pelo EFC, sendo observada uma redução nos níveis de lactato desidrogenase, contagem total de células, proteína total e malondialdeído nos fluídos da lavagem broncoalveolar dos ratos expostos ao EFC. O tratamento com farnesol aumentou o teor de glutathione, reduziu o edema pulmonar e promoveu uma diminuição significativa na citotoxicidade e peroxidação lipídica da membrana, o que |
|--------------------------|--|--------------------|--|-----------------------|--|

(Continua na página seguinte)

Tabela 18 (continuação)

| | | | | | |
|---------------------------|--|--------------------------|--|-----------------------------------|---|
| Marcuzzi et al. (2008) | Estudo pré-clínico <i>in vivo</i> (camundongos BALB/c machos). | IU (Euphar group s.r.l.) | Avaliar o efeito de isoprenóides exógenos (geraniol, farnesol e geranilgeraniol) em camundongos com distúrbio inflamatório semelhante a deficiência de mevalonato quinase (MKD) induzido por aminobifosfonatos e muramil dipeptídeo. | 250 e 500 mg/kg (i.p.) | indica que o farnesol apresenta efeito protetor contra a toxicidade pulmonar do EFC. Esses efeitos correlacionam-se com os achados histopatológicos, o qual exibe uma redução significativa na infiltração celular e edema e mostra arquitetura alveolar intacta nos pulmões dos animais tratados com farnesol. Apenas a dose de 500 mg/kg do farnesol foi eficaz na prevenção da inflamação induzida pelo alendronato/muramil dipeptídeo, inibindo os níveis de SAA (amilóide sérica A) e os valores de PEC (número de células no exsudado peritoneal). Os resultados sugerem que este composto, bem como os demais isoprenóides testados, podem ser eficazes no tratamento de MKD em humanos. |
| Nokhodchi et al. (2007) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (pele abdominal de ratos Wistar machos). | IU (Merck) | Investigar o efeito de diferentes concentrações de terpenos na absorção transdérmica do diclofenaco sódico. | 0,25 a 2,5% (<i>in situ</i>) | Dos terpenos avaliados, o farnesol foi a segunda substância mais eficaz no aumento do coeficiente de permeabilidade do diclofenaco sódico, promovendo um aumento de 78 vezes na absorção transdérmica deste fármaco; sendo este efeito decorrente, provavelmente, das características lipofílicas do farnesol. |
| Lagace and Ridgway (2005) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> (linhagens de células de ovário de hamster chinês K1 – CHO-K1). | IU (sigma-Aldrich) | Determinar como a síntese de fosfatidilcolina e a atividade CCT α (fosfocolina citidililtransferase α) contribuem para a indução da apoptose por farnesol e álcool oleílico. | 0 a 60 μ M (<i>in situ</i>) | O efeito inicial com a administração do farnesol (60 μ M – concentração apoptótica) foi uma rápida (10-30 min) e transitória ativação da síntese de fosfatidilcolina. Durante este período, observou-se uma diminuição de 40% na massa de DAG. Posteriormente, após 1h, o farnesol promoveu a clivagem de caspases e exportação nuclear de CCT α , a qual foi prevenida pelo tratamento com oleato ou DiC8 (dioctanilglicerol). A proteção contra a apoptose induzida por |

(Continua na página seguinte)

Tabela 18 (continuação)

| | | | | | |
|----------------------|---|--|--|--|--|
| Hanley et al. (2000) | Estudo pré-clínico <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> (células de epiderme humana isolada de prepúcios recém-nascidos e queratinócitos; e camundongos). | <i>trans,trans</i> -farnesol (sigma-Aldrich) | Verificar os mecanismos de ação responsáveis pelo efeito do farnesol no crescimento e diferenciação celular na epiderme. | 5 e 10 μM (<i>in situ</i>) nos ensaios <i>in vitro</i> e 40 mL/cm^2 1 mM de <i>trans,trans</i> -farnesol (em propilenoglicol/etanol, 7:3 – uso tópico e no flanco) nos ensaios <i>in vivo</i> | farnesol exigiu a síntese de fosfatidilcolina e a atividade da CCT α . A formação de envelopes celular cornificados, um marcador da diferenciação terminal dos queratinócitos, bem como os níveis de proteína e RNAm de duas proteínas necessária para formação do envelope cornificado, involucrina e transglutaminase, aumentaram em 2 a 3 vezes em queratinócitos humanos normais tratados com farnesol. As aplicações tópicas de farnesol em camundongos promoveu o aumento dos níveis de RNAm e proteína da diferenciação de genes específicos, profilagrina e loricrina, determinados por imuno-histoquímica e hibridização <i>in situ</i> . Esses achados sugerem um novo papel para isoprenóides intermediário de colesterol no regulamento de transcrição regulados por PPAR α de genes específicos de diferenciação. |
|----------------------|---|--|--|--|--|

IN – Isômeros não especificado

5.1.6. *Qualidade metodológica/Riscos de viés*

A avaliação da qualidade metodológica e do risco de viés em estudos individuais é uma etapa essencial de uma RS (HOOIJMANS et al., 2014; HIGGINS et al., 2011), uma vez que para se obter resultados confiáveis é importante que a pesquisa seja bem projetada, eficientemente executada, corretamente analisada e que os dados sejam interpretados e apresentados de forma correta e compreensível (FESTING; ALTMAN, 2002).

Conforme mostrado na figura 23 somente o estudo pré-clínico com animais não-humanos realizado por Rao; Newmark & Reddy (2002) foi classificado em baixo risco de viés. Na figura 24 é possível observar que 50% dos estudos não descrevem uma sequência de alocação gerada e aplicada de forma adequada e que em 92,85% dos artigos não ficou clara se houve ocultação da alocação. Além disso, 85,71% dos estudos não deixam claro se a avaliação dos resultados foi realizada às cegas. Por outro lado, 100% dos estudos apresentaram baixo risco de viés no que se refere à resultados seletivos/tendenciosos e 90% dos estudos estavam livres de outros problemas que poderiam causar vieses, tais como: contaminação por agrupamento de drogas, influência dos financiadores e erros de unidade de análises.

| | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | P6 | P7 | P8 | P9 | P10 |
|--|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| Silva et al. (2017). | - | + | + | + | + | ? | + | + | + | + |
| Vasconcelos et al. (2017). | - | + | ? | ? | ? | ? | ? | ? | + | ? |
| Shahnouri; Tabari; Araghi (2016). | + | + | ? | + | ? | + | ? | ? | + | + |
| Jahangir et al. (2015). | - | + | ? | + | + | ? | - | ? | + | + |
| Horev et al. (2015). | + | ? | ? | + | - | ? | - | ? | + | ? |
| Lee et al. (2015). | + | ? | ? | + | - | + | ? | ? | + | + |
| Santhanasabapathy; Sudhandiran (2015). | + | + | ? | ? | ? | + | ? | ? | + | + |
| Park et al. (2014). | - | + | ? | + | ? | + | ? | ? | + | + |
| Lateef et al. (2013). | - | + | ? | + | ? | + | ? | ? | + | + |
| Szűcs et al. (2013). | + | + | ? | + | ? | + | ? | + | + | + |
| Qamar et al. (2012). | + | + | ? | + | ? | + | ? | + | + | + |
| Khan; Sultana (2011). | + | + | ? | + | ? | + | ? | + | + | + |
| Goto et al. (2011). | - | + | ? | ? | ? | ? | ? | ? | + | + |
| Chaudhary et al. (2009). | + | + | ? | + | ? | + | ? | + | + | + |
| Jahangir; Sultana (2008). | - | + | ? | ? | ? | ? | ? | ? | + | + |
| Qamar; Sultana (2008). | + | + | ? | + | ? | + | ? | + | + | + |
| Marcuzzi et al. (2008). | + | + | ? | + | ? | + | ? | + | + | + |
| Duncan; Archer (2008). | + | + | ? | + | ? | + | ? | ? | + | + |
| Hisajima et al. (2008). | - | + | ? | ? | ? | ? | ? | ? | + | + |
| Navarathna et al. (2007a). | + | + | ? | + | ? | + | ? | + | + | + |
| Navarathna et al. (2007b). | - | + | ? | ? | ? | ? | ? | + | + | + |
| Jahangir et al. (2006). | + | + | ? | + | ? | + | ? | + | + | + |
| Rao; Newmark; Reddy (2002). | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Hanley et al. (2000). | - | ? | ? | ? | ? | ? | ? | ? | + | + |
| Luft et al. (1999). | - | + | ? | ? | ? | ? | ? | ? | + | + |
| Ferdinandy et al. (1998). | - | + | ? | ? | ? | ? | ? | + | + | + |
| Roulet et al. (1997b). | - | ? | ? | ? | ? | ? | ? | ? | + | + |
| Roulet et al. (1996). | - | ? | ? | ? | ? | ? | ? | ? | + | + |

+ Baixo risco de viés
? Risco não claro de viés
- Alto risco de viés

Figura 23. Resumo de qualidade metodológica para ensaios pré-clínicos: revisão dos julgamentos dos autores sobre cada item de qualidade metodológica para cada estudo incluído. (P1 - Foi gerada uma sequência aleatória de alocação dos diferentes grupos?; P2 - Os diferentes grupos foram agrupados em parâmetros similares (tais como: sexo, idade, peso dos animais, tempo do tratamento ou indução da doença?); P3 - A alocação dos diferentes grupos foi adequadamente sigilosa?; P4 - Os animais foram selecionados aleatoriamente durante o experimento?; P5 - Os cuidadores e/ou os investigadores não tinham conhecimento da intervenção que cada animal recebeu durante o experimento?; P6 - Os animais foram selecionados aleatoriamente para avaliação de resultados?; P7 - O avaliador dos resultados não tinham conhecimento da intervenção que cada grupo recebeu durante o experimento?; P8 - A identificação e interpretação dos resultados foi realizada adequadamente?; P9 - Os

relatórios do estudo são livres de resultados seletivos? Os métodos utilizados foram descritos de forma compreensível?; **P10** - O estudo estava livre de outros problemas que podem resultar em alto risco de viés (tais como: contaminação das drogas, influência dos financiadores, erros de análise)?.

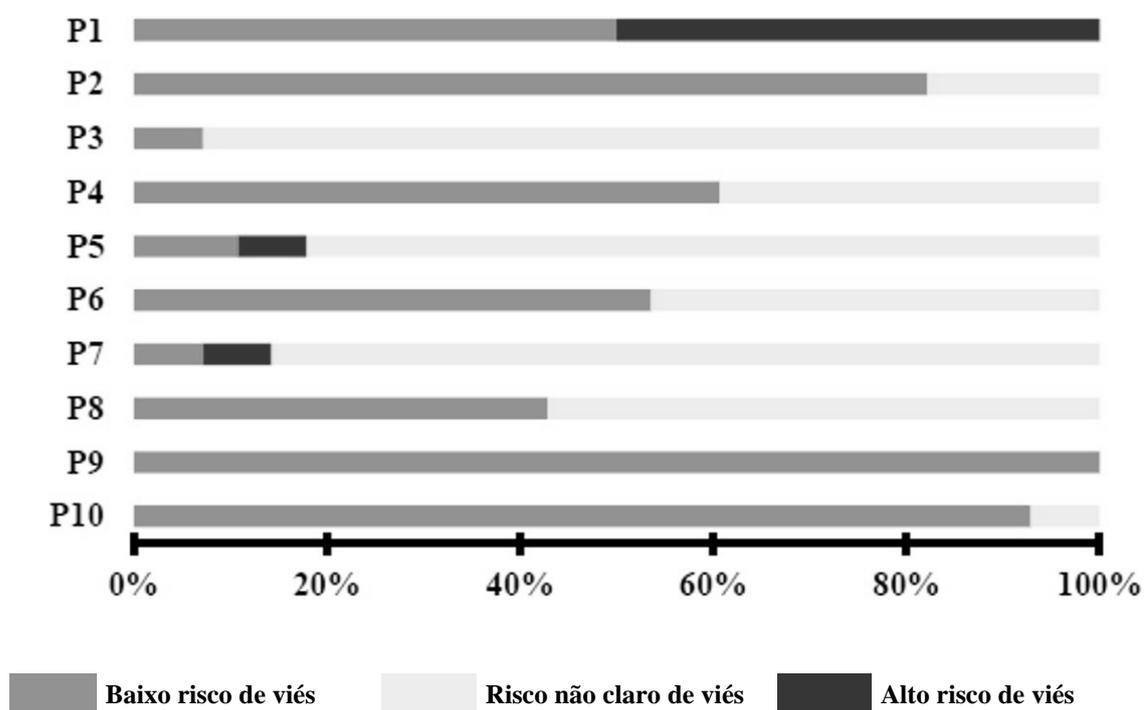


Figura 24. Gráfico de qualidade metodológica para ensaios pré-clínicos: revisão dos julgamentos dos autores sobre cada item de qualidade metodológica para cada estudo incluído apresentados em porcentagem. (**P1** - Foi gerada uma sequência aleatória de alocação dos diferentes grupos?; **P2** - Os diferentes grupos foram agrupados em parâmetros similares (tais como: sexo, idade, peso dos animais, tempo do tratamento ou indução da doença)?; **P3** - A alocação dos diferentes grupos foi adequadamente sigilosa?; **P4** - Os animais foram selecionados aleatoriamente durante o experimento?; **P5** - Os cuidadores e/ou os investigadores não tinham conhecimento da intervenção que cada animal recebeu durante o experimento?; **P6** - Os animais foram selecionados aleatoriamente para avaliação de resultados?; **P7** - O avaliador dos resultados não tinham conhecimento da intervenção que cada grupo recebeu durante o experimento?; **P8** - A identificação e interpretação dos resultados foi realizada adequadamente?; **P9** - Os relatórios do estudo são livres de resultados seletivos? Os métodos utilizados foram descritos de forma compreensível?; **P10** - O estudo

estava livre de outros problemas que podem resultar em alto risco de viés (tais como: contaminação das drogas, influência dos financiadores, erros de análise).

Quanto aos estudos clínicos pode-se observar que somente o estudo de Katsuyama e colaboradores (2005) deixa claro que foi realizada uma geração de sequência aleatória, que houve a ocultação de alocação, cegueira do participante e avaliador e que não teve viés de financiamento. No entanto somente no estudo de Shintre, Gaonkar & Modak (2006) os dados dos resultados incompletos foram julgados adequadamente (figuras 25 e 26). A figura 26 fornece um resumo gráfico do risco geral de viés nos 2 estudos clínicos.

| | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | P6 |
|---------------------------------|----|----|----|----|----|----|
| Shintre; Gaonkar; Modak (2006). | - | ? | + | ? | ? | - |
| Katsuyama et al. (2005). | + | + | ? | + | + | + |

+ Baixo risco de viés
 ? Risco não claro de viés
 - Alto risco de viés

Figura 25. Resumo de qualidade metodológica para ensaios clínicos: revisão dos julgamentos dos autores sobre cada item de qualidade metodológica para cada estudo incluído. [P1 – Geração de sequência aleatória; P2 – Alocação sigilosa; P3 – Dados de resultados incompletos; P4 – Viés de financiamento; P5 – Cegueira (participante); P6 – Cegueira (avaliador de resultados)].



Figura 26. Gráfico de qualidade metodológica para ensaios clínicos: revisão dos julgamentos dos autores sobre cada item de qualidade metodológica para cada estudo incluído apresentados em porcentagem.

Do total de 28 estudos pré-clínicos com animais não-humanos, 26 artigos não deixam claro se houve cegamento durante a alocação dos diferentes grupos. Bebart, Luyten & Heard (2003) afirma que estudos em que não há uma alocação adequada e uma avaliação oculta são mais propensos a relatar falhas no efeito do tratamento do que os estudos que fazem uso desses métodos. Quanto aos 2 artigos clínicos inclusos na RS, observa-se que para os seis itens avaliados 50% de risco de viés ou risco não claro de viés. Estudos afirmam que a falta de randomização, cegamento, cálculos de tamanho de amostra e análise estatística inadequada têm sido os principais fatores que contribuem para o aparecimento de viés e de resultados falso positivos (TSILIDIS et al., 2013; SENA et al., 2007).

5.2. Revisão crítica das patentes de produtos farmacêuticos que contém o farnesol na sua formulação

A busca das patentes objetivou realizar uma compilação dos produtos de interesses farmacêuticos que contém o farnesol na sua composição. A pesquisa primária identificou 34 patentes: 23 na WIPO, 10 no INPI e 1 na LatiPat. Após a triagem, 12 patentes foram excluídas, por não estarem de acordo com os critérios de inclusão, e 22 preencheram os critérios de inclusão: 18 da WIPO, 3 do INPI e 1 da LatiPat. Desse total, 11 foram indexados em duas ou mais bases de dados e foram considerados apenas uma vez; resultando no total de 11 patentes selecionadas para análise final. A figura 27 apresenta um fluxograma com um resumo dos resultados das buscas primárias até a seleção final das patentes.

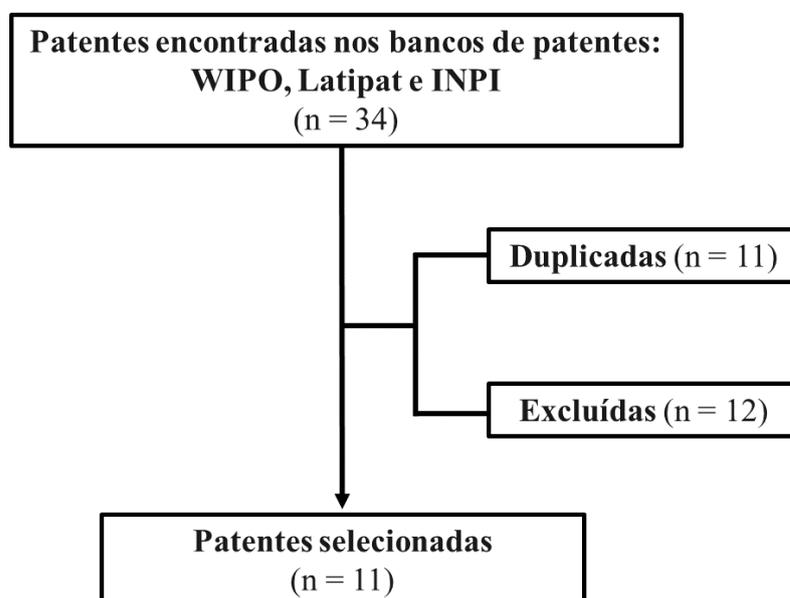


Figura 27. Fluxograma da pesquisa e seleção das patentes.

Na figura 28 é possível observar que o país que tem um maior número de patentes depositadas é o Brasil ($n = 3$), seguido dos Estados Unidos e República da Coreia ($n = 2$). No que se refere a classificação internacional de patentes, 10 (do total de 11) foram classificadas como preparações para uso médico, odontológico ou higiênico. E o ano de 2000 foi o que teve mais depósitos de patentes ($n = 2$), quando comparado com os demais.

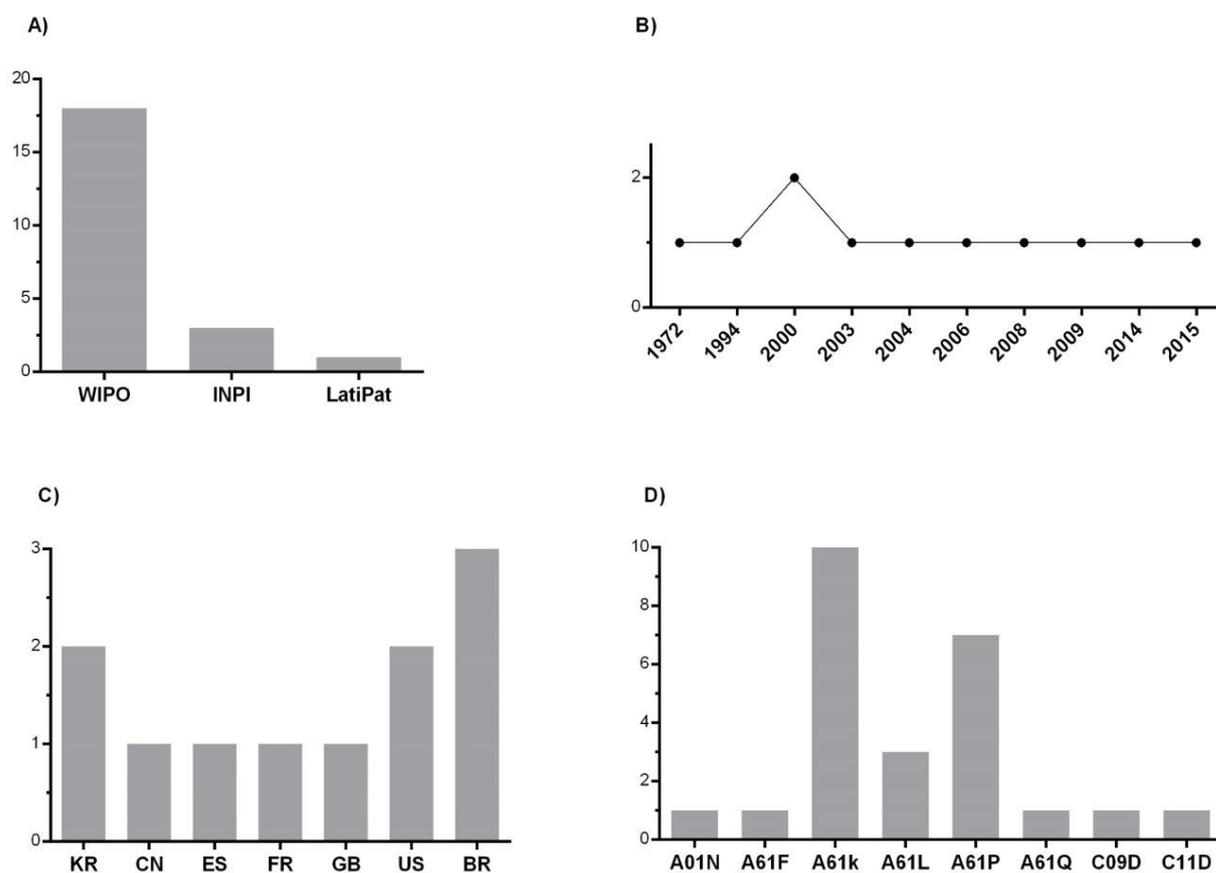


Figura 28. (A) Distribuição das patentes em cada banco eletrônico de patentes. (B) Evolução anual das patentes. (C) Distribuição dos países depositantes de patentes (KR – República da Coreia, CN- China, ES – Espanha, FR – França, GB – Reino Unido, US – Estados Unidos da América, BR – Brasil). (D) Distribuição de patentes pela Classificação Internacional de Patentes (A01N – Preservação de corpos de seres humanos ou animais ou plantas ou suas partes, A61F/A61P – Atividade terapêutica específica de compostos químicos ou preparações medicinais, A61K – Preparações para uso médico, odontológico ou higiênico, A61L – Métodos ou aparelhos para esterilizar materiais ou objetos em geral, A61Q – Uso específico

de cosméticos ou preparações higiênicas semelhantes, C09D – Composições de revestimento, C11D - Óleos animais ou vegetais, gorduras, substâncias gordas ou ceras).

Na tabela 19 é possível observar que os produtos patenteados inclusos neste trabalho apresentam diferentes efeitos de interesses farmacêuticos, por exemplo: prevenção e/ou tratamento doenças e distúrbios que afetam o sistema nervoso central; prevenção e tratamento diferentes tipos de câncer, prevenção e tratamento de doenças relacionadas a neovascularização; produtos de higiene pessoal ou cosméticos; agentes biocidas e/ou biostáticos; prevenção e tratamento de problemas na pele.

Ainda na tabela 1 observa-se que duas patentes não reportam a via de administração e as formas de apresentações farmacêuticas dos produtos; e que somente uma patente apresenta na sua formulação o farnesol puro, ou seja, sem associações com outras substâncias bioativas ou carreadoras.

Tabela 19 – Patentes de interesses farmacêuticos contendo o farnesol na sua formulação.

| Patente | IPC | Inventor/Ano/País | Formulação | Via de administração [forma(s) farmacêutica(s)] | Uso terapêutico |
|-----------------|----------------------|--------------------------------------|--|---|---|
| KR1020150008802 | A61K A61P | Jo et al., 2015 KR | Clorexidina, tioguanosina, mebendazol, fenbendazol, colchicina e farnesol | Formulações sólidas para administração oral (comprimidos, pílulas, pós, grânulos, cápsulas, trociscos e semelhantes); formulações líquidas para administração oral (suspensões, soluções, emulsões ou xaropes); formulações para administração parentérica (soluções aquosas esterilizadas, soluções não aquosas, suspensões, emulsões, preparações liofilizadas, supositórios e semelhantes) | Prevenir ou tratar doenças cerebrais degenerativas |
| KR1020140083522 | A61K A61P | Sung et al., 2014 KR | Trans-farnesol | NR | Prevenir e tratar de doenças relacionadas a neovascularização |
| CN101336984 | A61K A61P A61Q | Zhihong et al., 2009 CN | 8 a 25 partes de Ji Li Xiang, 4 a 12 partes de <i>Euphorbia thymifolia</i> L., 3 a 12 partes de <i>Mosla chinensis</i> Maxim e 1 a 5 partes de farnesol | Uso local como produto farmacêutico ou cosmético, que pode ser utilizado nas seguintes formas: líquido, gel, pomada, creme, loções, <i>sprays</i> , grânulos e similares | Eliminar o odor das axilas |
| US20080286209 | A61K A61P | Roullet; Crabbe & Metten, 2008 US | Trans,trans-farnesol, cis-farnesol, nerolidol, farnesilamina, geranilresorcinol, trifluorometil, trifluorofarnesol, 2,6,6-trimetilciclohex-1-enil ou trans,trans-retinol | Via intranasal (composição aerossolizada e composição nebulizada) | Tratar síndrome de abstinência de álcool e os sintomas neurológicos associados [por exemplo, depressão, tremor, ansiedade, hiperatividade autonômica (por exemplo, sudorese, aumento da pressão arterial, taquicardia), |

(Continua na página seguinte)

Tabela 19 (continuação)

| | | | | | |
|-----------------|------------------------------|--|--|--|--|
| | | | | | alucinações, convulsões de abstinência alcoólica, <i>delirium tremens</i> (DT) e perda de memória] |
| ES2247711 | A61L C11D A61K A61P | Doi et al., 2006 ES | Um monoterpene, tais como mentol, borneol, cânfora, geraniol, eucaliptol, anetol, limoneno, eugenol e similares, um sesquiterpene, tais como o farnesol, nerolidol e semelhantes, um diterpene como fitol, cembrene e similares, ou outro terpenóide | Uso tópico (solução oftálmica) | Composição oftálmica para aumentar o umedecimento de lentes de contato flexíveis |
| US20040072915 | A61K A61P | Rougereau & Rougereau-Person, 2004 US | Associação de um veículo farmacêutico inerte com uma quantidade terapêutica efetiva de uma mistura de α -bisabolol e farnesol e/ou geraniol, e/ou a seus derivados | Administração oral (ampolas, comprimidos, pastilhas, pastilhas, cápsulas, gotas, xaropes); administração cutânea (forma de unguentos, cremes, géis ou qualquer outra forma farmacêutica adequada); administração parenteral (soluções injetáveis por via intravenosa, subcutânea ou intramuscular); administração retal (supositórios) | Prevenção e tratamento de diferentes tipos de cânceres |
| PI 0310045-6 A2 | A61F A61L A61K A61P | Koenig, 2003 BR | Farnesol ou outros compostos isoprenóides | Uso tópico ou em artigos de cuidado pessoal (tais como: vestimentas absorventes de pessoal, artigos de cuidado feminino, artigos de cuidado com a saúde, lenços pré-umedecidos, lenços absorventes, lenços de banho, lenços faciais, loções e cremes) | Uso em artigos de cuidado pessoal como método de prevenção de infecções fúngicas na pele |
| PI 0009893-0 A2 | A61K | Robinson et al., 2000 BR | Compostos de vitamina B3, farnesol e/ou | Uso tópico (loção para pele, creme, gel, espuma, essência, pasta, emulsão, aspensão, condicionador, tônico, | Uso estético, profilático ou terapêutico na regularização de traços |

(Continua na página seguinte)

Tabela 19 (continuação)

| | | | | | |
|-----------------|----------------------|-------------------------------|--|--|---|
| | | | fitantriol | cosmético, batom, base, polidor de unhas, pós-barbeamento ou similares) | descontínuos visíveis e/ou tácteis na pele, tais como: linhas finas, rugas, poros alargados, aspereza, ressecamento |
| PI 0009892-2 A2 | A61K | Bissett, 2000 BR | Farnesol e um carreador dermatologicamente aceitável | Uso tópico (creme) | Regularizar a condição do tecido ceratinoso em mamíferos, como a pele, cabelos e unhas |
| FR2697133 | A01N A61L C09D | Gerard, 1994 FR | Formulações farmacêuticas que compreendem um álcool sesquiterpênico (farnesol, tetrahidroxi-farnesol, nerolidol, santalol) e um composto polar (por exemplo a glicerina) | NR | Agente biocida e/ou bioestáticos uteis para no combate de bactérias (Gram-negativas ou Gram-positivas), fungos, vírus, plantas, moluscos ou insetos |
| GB1279686 | A61K | Laboratório Meram, 1972 GB | Combinação de farnesol com um ou mais agentes antipsicóticos (haloperidol, clorpromazina) | Soluções ou suspensões que contenham, por um lado, um agente antipsicótico e, por outro lado, farnesol (cápsulas enterro-solúveis, supositórios, soluções potáveis em forma de gota, líquidos que contêm um agente emulsionante e que são diluídos numa bebida efervescente e soluções injetáveis que são preparadas com um solvente e adjuvantes adequados) | Potencializar a ação de agentes antipsicóticos (neuroléptico ou tranquilizante) |

IPC - Classificação Internacional de Patentes, KR – República da Coreia, CN – China, US – Estados Unidos da América, ES – Espanha, BR – Brasil, FR – França, GB - Reino Unido, NR – Não reportado

O farnesol é relatado na literatura por possuir propriedades biológicas e farmacológicas que podem ser úteis na terapêutica de várias enfermidades que acometem sistemas orgânicos, podemos citar como exemplo: propriedades antimicrobianas, efeito antitumoral, ação antioxidante, efeito anti-inflamatório, antinociceptivo e neuroprotetor, dentre outros.

Das patentes inclusas nesta revisão, observa-se que há uma predominância de produtos que referem o uso do farnesol como agente antimicrobiano, o qual pode ser utilizado como biocida e/ou bioestático em produtos de higiene pessoal e no tratamento e prevenção de doenças causadas por diferentes bactérias e fungos (GERARD, 1994; KOENIG, 2003; ZHIHONG et al., 2009).

Na última década vários estudos pré-clínicos, *in vitro* e *in vivo*, já foram realizados objetivando investigar os efeitos antimicrobianos do farnesol; sozinho e associado com fármacos antibacterianos e antifúngicos já disponíveis no mercado, bem como elucidar os mecanismos de ação responsáveis por esses efeitos (ABDEL-RHMAN; EL-MAHDY; EL-MOWAFY, 2015; BHATTACHARYYA et al., 2014; BRILHANTE et al., 2013; BRILHANTE et al., 2015; CASTELO-BRANCO et al., 2016; CERCA et al., 2012; CORDEIRO et al., 2012; DÉCANIS; SAVIGNAC; ROUABHIA, 2009; DERENGOWSKI et al., 2009; FERNANDES et al., 2016; GOMES et al., 2009; GOMES et al., 2011a; GOMES et al., 2011b; GONÇALVES et al., 2011; HISAJIMA et al., 2008; HOREV et al., 2015; KANEKO et al., 2011; KATRAGKOU et al., 2015; KOVÁCS et al., 2016; LIU et al., 2010; MOGEN et al., 2015; UNNANUNTANA et al., 2009; WANG et al., 2014).

Na literatura observa-se que há uma predominância de estudos que avaliaram o efeito do farnesol frente a cepas de bactérias Gram-positiva quando comparados as cepas Gram-negativa. Esta predominância pode ser justificada por o farnesol ser uma substância de origem natural; visto que há estudos que demonstram que as bactérias Gram-negativas são mais resistentes à ação de produtos naturais, devido a capacidade da membrana presente nessas bactérias formarem um envelope complexo capaz de protegê-las contra a ação antimicrobiana desses agentes (HOLLEY; PATEL, 2005; OLADIMEJI; ORAFIDIYA; OKEKE, 2004).

No estudo de Kaneko e colaboradores (2011), o qual objetivou avaliar o efeito do farnesol em cepas de bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus xylosus*, *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*,) e Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*), os autores observaram que o farnesol inibiu o crescimento bacteriano das cepas do tipo Gram-

positivas, sendo mais eficaz contra *S. aureus*, porém não foi eficaz em inibir o crescimento das cepas do tipo Gram-negativas. Por outro lado, estudos observaram que o farnesol inibi o crescimento de bactérias Gram-negativas, são elas: *Burkholderia pseudomallei* (CASTELO-BRANCO et al., 2016), *P. aeruginosa* (ABDEL-RHMAN, EL-MAHDY; EL-MOWAFY, 2015) e *E. coli* (GONÇALVES et al., 2011). No estudo de Abdel-Rhman; El-Mahdy & El-Mowafy (2015), os autores referem que o farnesol, além de inibir o crescimento desta bactéria, promove também a redução da produção de hemossilina (um dos fatores de virulência deste patógeno).

Na patente depositada por Rougereau & Rougereau-Person (2004), os autores relatam o efeito anticancerígenos das associações de veículos farmacêuticos com diferentes compostos terpênicos (dentre eles o farnesol) frente a diferentes tipos de cânceres. O que corrobora com os estudos descritos na literatura que investigaram os efeitos antitumorais do farnesol frente a diferentes linhagens de células tumorais, tais como: células U266 e MM1.S de mieloma múltiplo humano (LEE et al., 2015), células Molt4 de leucemia linfoblástica humana (JOO et al., 2015), células DU145 de câncer de próstata humano (PARK et al., 2014), células de câncer de mama MC-7 ER-positivas (JOURNE et al., 2008), células HT-29 de adenocarcinoma de colón humano com gene p53 mutado e células HCT 116 com gene p53 de tipo selvagem (AU-YEUNG et al., 2008), células de adenocarcinoma pancreático ductal MIA PaCa-2 (CRL-1420) e BxPC-3 (CRL-1687) (WISEMAN; WERNER; CROWELL, 2007), de células CEM-C1 de leucemia aguda humana (ADANY et al., 1994; HAUG et al., 1994; MELNYKOVYCH; HAUG; GOLDNER, 1992; VOZIYAN; GOLDNER; MELNYKOVYCH, 1993; VOZIYAN; HAUG; MELNYKOVYCH, 1995).

Os mecanismos de ação envolvidos nos efeitos genotóxicos do farnesol ocorrem por diferentes vias de sinalização. Lee e colaboradores (2015), observaram que em células U266, de mieloma múltiplo humano, o farnesol induz a apoptose por meio da ativação da caspase-3. Ainda neste estudo, após avaliarem o efeito do farnesol *in vivo* (em camundongos atímicos nu/nu fêmeas), os autores sugerem que a ação antitumoral desta substância pode ser decorrente do bloqueio da ativação do transdutor de sinal e ativador da transcrição 3 (STAT3) constitutiva, através da inibição a fosforilação e translocação deste transdutor e pela inibição da ativação de quinases JAK1, JAK2 e c-Src.

Já nas células leucêmicas Molt4, de leucemia linfoblástica humana, o efeito do farnesol envolve a ativação do apoptossoma, sendo que esta ação se dá pela via intrínseca e pela indução da cascata PERK-eIF2 α -ATF3/4 (PARK et al., 2014). Em células de leucemia aguda humana, do tipo CEM-C1, o farnesol promove a fragmentação do DNA das células

tumorais; em regiões ligantes internucleossômicas (HAUG et al., 1994) e reduz a atividade da enzima colesterol fosfotransferase, inibindo, conseqüentemente, a biossíntese de fosfatidilcolina (VOZIYAN; GOLDNER; MELNYKOVYCH, 1993).

No estudo de Adany e colaboradores (1994), foi realizada uma comparação do efeito do farnesol em diferentes linhagens celulares de origem neoplásica e não neoplásica; os resultados obtidos demonstraram, pela primeira vez, que existe uma toxicidade seletiva do farnesol para células malignas; o que aumenta a possibilidade de que esta substância possa vir a ser aplicada na quimioterapia contra o câncer.

Além dos usos acima descritos, foram encontradas, também, patentes de produtos que objetivam o uso do farnesol (associado com outros compostos) no tratamento e prevenção de doenças que podem acometer o sistema nervoso central, sendo que esta substância pode ser útil na prevenção e tratamento de doenças cerebrais degenerativas (JO et al., 2015); e no tratamento de síndrome de abstinência alcoólica e dos sintomas neurológicos associados (tais como: depressão, tremor, ansiedade, hiperatividade autonômica, alucinações, convulsões de abstinência alcoólica, *delirium tremens* e perda de memória) (ROULLET; CRABBE-JUNIOR; METTEN, 2008). Na patente do Laboratório Meram (1972) é apresentada uma formulação contendo agentes antipsicóticos (haloperidol, clorpromazina) combinados com o farnesol, sendo este composto utilizado para potencializar a ação dos agentes antipsicóticos.

Santhanasabapathy & Sudhandiran (2015), investigaram o efeito protetor do farnesol na neurodegeneração induzida por lipopolissacarídeos (LPS) através da modulação da cascata apoptótica intrínseca no córtex e hipocampo, os resultados encontrados demonstraram que o farnesol promove um efeito neuroprotetor, o qual foi eficaz em atenuar as alterações degenerativas no córtex e no hipocampo do cérebro de ratos. Os autores sugerem que este efeito se dá pela regulação da cascata apoptótica intrínseca decorrente da proteção dos neurônios de danos oxidativos.

Shahnouri; Tabari & Araghi (2015), avaliaram as propriedades neurofarmacológicas do farnesol e sua influência sobre os níveis plasmáticos de cortisol; os autores observaram que o farnesol possui efeito do tipo ansiolítico-*Like*, induz depressão no sistema nervoso central e promove alterações na atividade locomotora. Ainda nesse estudo os pesquisadores associam o efeito ansiolítico do farnesol a redução nos níveis plasmáticos de cortisol; e afirmam que os resultados sugerem o uso deste composto como sedativo para o alívio de transtornos de ansiedade.

Com relação a patente que refere o uso do farnesol na prevenção e tratamento de doenças relacionadas a neovascularização (SUNG et al., 2014), esta ação pode ser decorrente

do efeito apoptótico (ADANY et al., 1994; LAGACE; RIDGWAY, 2005) e anti-inflamatório (CHAUDHARY et al., 2009; KHAN; SULTANA, 2011; MARCUZZI et al., 2008; QAMAR; SULTANA, 2008) desta substância.

Dentre as patentes encontradas nesta revisão, duas referem o uso do farnesol na estética, como agente preventivo ou terapêutico, na regularização de traços descontínuos, visíveis e/ou tácteis na pele (ROBINSON et al., 2000), e na regularização de tecido ceratinoso (BISSETT, 2000). Esta aplicação pode ser decorrente das propriedades antioxidantes do farnesol, visto que substâncias antioxidantes minimizam os efeitos do envelhecimento por inibir o estresse oxidativo e, conseqüentemente, a ação dos radicais livres (MAXWELL, 1995). O estresse oxidativo pode causar, também, desequilíbrios no organismo provocando doenças na pele, podendo ocasionar danos as estruturas presentes na epiderme, como proteínas, lipídios e DNA (BUCHLI, 2002).

5.3. Bioprospecção farmacológica na investigação comportamental e neuroprotetora do farnesol em camundongos submetidos à convulsão induzida por pilocarpina

Com a realização da revisão sistemática e da revisão crítico-analítica sobre as propriedades farmacológicas e toxicológicas do farnesol foi possível observar que na literatura já existem relatos de estudos que investigaram a ação dessa substância na prevenção e tratamento de diferentes enfermidades que acometem o sistema nervoso central. Foram reportados os seguintes efeitos centrais para essa substância: efeitos antinociceptivo (OLIVEIRA-JÚNIOR et al. 2013; SHAHNOURI; TABARI; ARAGHI, 2016; SILVA et al. 2017), ansiolítico e depressor (SHAHNOURI; TABARI; ARAGHI, 2016), atividade neuroprotetora (SANTHANASABAPATHY; SUDHANDIRAN, 2015), prevenção e tratamento de doenças cerebrais degenerativas (JO et al., 2015) e tratamento de síndrome de abstinência alcoólica e dos sintomas neurológicos associados (ROULLET; CRABBE; METTEN, 2008).

O estudo bibliográfico demonstrou que o farnesol apresenta grande potencial como agente útil na prevenção e tratamento de distúrbios que acometem o sistema nervoso central e que estão associadas aos processos neurodegenerativos. Então, tomando como base as premissas encontradas nos artigos e patentes incluídas no estudo bibliográfico, neste trabalho investigamos pela primeira vez o efeito neuroprotetor do farnesol em modelo animal de ictogênese e/ou epileptogênese.

5.3.1. Toxicidade oral aguda e screening hipocrático

O uso de plantas com propriedades medicinais e a procura por moléculas bioativas oriundas destas têm sido uma prática amplamente utilizada como alternativa terapêutica no tratamento de doenças (AKIYAMA; OTSUBO, 2010; FRYE; SREENIVASULA; ADAMS, 2015). Um dos principais motivos que contribui com este aumento na procura por produtos naturais deve-se aos efeitos colaterais advindos da elevada toxicidade dos fármacos alopáticos e, referente a terapêutica dos diferentes tipos de epilepsias, Quintans-Júnior e colaboradores (2002) afirmam que a alta toxicidade das DAE's faz com que os pacientes epiléticos procurem por práticas terapêuticas alternativas mais seguras, sendo o uso de plantas uma das práticas mais procuradas por estes pacientes.

Devido a transmissão cultural entre gerações a prática terapêutica com uso de produtos de origem natural é uma das terapias alternativas mais comum na população (DIEGUES, 1996). Além disso, a crença popular de que por ser natural, o preparado vegetal é isento de efeitos adversos, e por tratar-se de uma terapia de baixo custo têm contribuído com a ampliação desta prática (BORGES; BAUTISTA; GUILERA, 2008). Entretanto, os pesquisadores têm se esforçados não só no intuito de comprovar os possíveis efeitos farmacológicos, mas, também, identificar o potencial tóxico das plantas medicinais e dos compostos bioativos isolados ou sintetizados a partir das mesmas, os quais são comumente utilizados em forma de fitoterápicos (JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

Neste estudo, o possível efeito tóxico do *trans,trans*-farnesol foi investigado pelo teste de toxicidade oral aguda e pela avaliação dos parâmetros hipocráticos propostos por Malone (1977). Na tabela 20 é possível observar as alterações comportamentais promovidas pelo farnesol (5.000 mg/kg, v.o.) no teste de toxicidade oral aguda e na avaliação do *screening* hipocrático proposto por Malone (1977). Nos tempos iniciais de avaliação (5, 10, 15, 30, 60 e 90 min) o tratamento com *trans,trans*-farnesol (5.000 mg/kg, v.o.) promoveu piloereção nos camundongos, podendo este efeito se caracterizado como um estímulo excitatório do sistema nervoso central e/ou manifestação de toxicidade. Nos tempos de 150-240 min após a administração do *trans,trans*-farnesol não foi observada nenhuma alteração comportamental nos animais.

Tabela 20 – Alterações comportamentais registradas em camundongos decorrentes da administração oral aguda do *trans,trans*-farnesol (5.000 mg/kg) seguindo o método do *screening* hipocrático proposto por Malone (1977).

| GRUPOS | TEMPO (min) | EFEITOS OBSERVADOS |
|-------------------|-------------|--|
| CL (0,1 ml/ 10g) | 5 | Ausência de alterações comportamentais |
| | 10 | Ausência de alterações comportamentais |
| | 15 | Ausência de alterações comportamentais |
| | 30 | Ausência de alterações comportamentais |
| | 60 | Ausência de alterações comportamentais |
| | 90 | Ausência de alterações comportamentais |
| | 120 | Ausência de alterações comportamentais |
| | 150 | Ausência de alterações comportamentais |
| | 180 | Ausência de alterações comportamentais |
| | 210 | Ausência de alterações comportamentais |
| | 240 | Ausência de alterações comportamentais |
| FAR (5.000 mg/kg) | 5 | Piloereção (+) |
| | 10 | Piloereção (+) |
| | 15 | Piloereção (+) |
| | 30 | Piloereção (+) |
| | 60 | Piloereção (+) |
| | 90 | Piloereção (+) |
| | 120 | Piloereção (+) |
| | 150 | Ausência de alterações comportamentais |
| | 180 | Ausência de alterações comportamentais |
| | 210 | Ausência de alterações comportamentais |
| | 240 | Ausência de alterações comportamentais |

+ = Efeito Presente; CL = Controle (salina - solução fisiológica 0,9%); FAR = *trans,trans*-farnesol.

Do dia 0 até o 14º dia após o tratamento com o *trans,trans*-farnesol (5.000 mg/kg, v.o.) os camundongos foram avaliados quanto ao percentual de sobrevivência e alteração na massa corporal. Durante esse período todos os animais sobreviveram ao tratamento com *trans,trans*-farnesol (5.000 mg/kg, v.o.) e não apresentaram alterações significativas na sua massa corporal ($p = 0,5605$, figura 29). Na avaliação macroscópica dos órgãos (cérebro, coração, pulmões, fígado, baços e rins) nenhuma anormalidade foi identificada.

Em conformidade com as diretrizes estabelecidas pela OECD 423 foi estipulada uma $DL_{50} \geq 5.000$ mg/kg para o tratamento via oral com o *trans,trans*-farnesol.

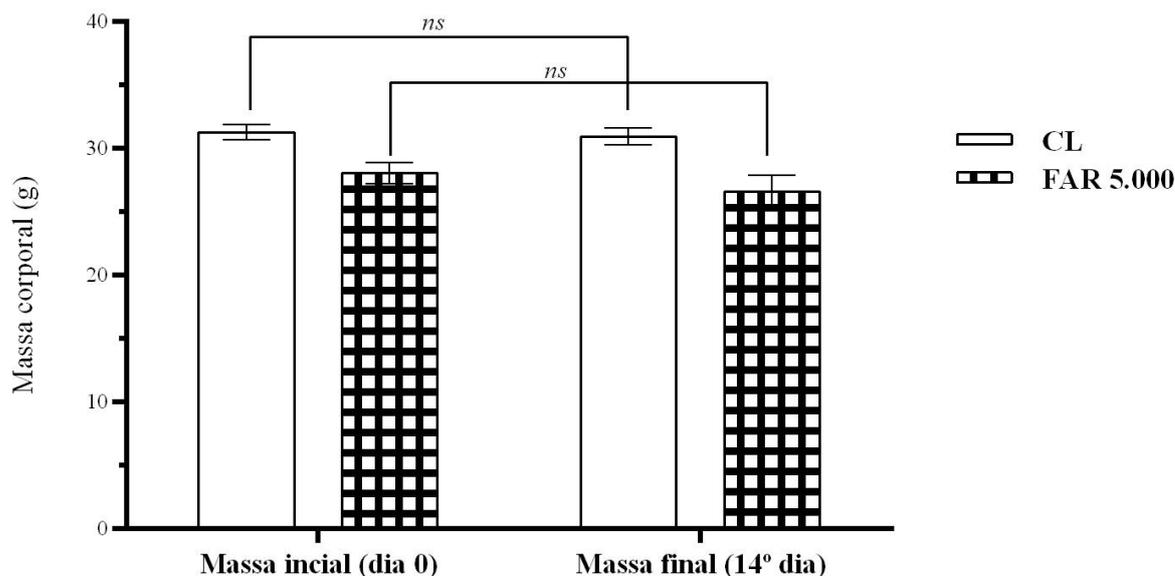


Figura 29. Massa inicial (0 dias) e massa final (14 dias) dos animais submetidos ao teste de toxicidade aguda pela administração oral do *trans,trans*-farnesol (5.000 mg/kg).

Os valores são expressos em média \pm E.P.M. (erro padrão da média). Todos os grupos tiveram um $n = 3$ animais. Os dados foram analisados pelo teste paramétrico ANOVA (análise de variância) de duas vias seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Bonferroni*. O nível de significância adotado para rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 (5 %). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. *ns* = não significativo, CL = Controle (salina - solução fisiológica 0,9%; 0,1 mL/10 g, v.o.), FAR 5.000 = *trans,trans*-farnesol 5.000 mg/kg (v.o.).

Tabela 21 – Análise descritiva e valor de prova (p) da massa inicial (dia 0) e massa final (14º dia) dos animais submetidos ao teste de toxicidade aguda pela administração oral do *trans,trans*-farnesol (5.000 mg/kg).

(Coluna Estatística p. 240; *Analyze* p. 241).

| Grupos (n=3) | Massa corporal (g) | | |
|-----------------|--------------------|-------------------|----------------|
| | Inicial (dia 0) | Final (14º dia) | Valor de prova |
| | $\bar{X} \pm S_x$ | $\bar{X} \pm S_x$ | P |
| CL | 31,28 \pm 0,60 | 30,94 \pm 0,67 | >0,9999 |
| FAR 5.000 | 28,07 \pm 0,86 | 26,62 \pm 1,26 | 0,5605 |

Os valores são expressos em média \pm E.P.M. (erro padrão da média). Todos os grupos tiveram um $n = 3$ animais. Os dados foram analisados pelo teste paramétrico ANOVA (análise de variância) de duas vias seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Bonferroni*. O nível de significância adotado para rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 (5 %). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos quando comparado a massa inicial (dia 0) com a massa final (14º dia). \bar{X} = Média aritmética, S_x = Erro padrão da média, CL = Controle (salina - solução fisiológica 0,9%; 0,1 mL/10 g, v.o.), FAR 5.000 = *trans,trans*-farnesol 5.000 mg/kg (v.o.).

Estudos têm demonstrado que diferentes isômeros de farnesol apresentam potencial tóxico em induzir apoptose de diferentes tipos de linhagens celulares (AU-

YEUNG et al., 2008; LEE et al., 2015; PARK et al., 2014; WISEMAN; WERNER; CROWELL, 2007); porém, estes compostos apresentam uma seletividade em promover efeitos citotóxicos em células com malformações (ADANY et al., 1994).

No estudo de Oliveira-Júnior e colaboradores (2013), ao avaliarem a atividade neurotóxica do *trans,trans*-farnesol em camundongos, os autores observaram que nas doses de 50 e 100 mg/kg esta substância não manifestou efeitos tóxicos, visto que não foram encontradas lesões nas regiões cerebrais avaliadas (hipocampo e estriado).

Por outro lado, estudos têm demonstrado o potencial de diferentes isômeros de farnesol em promover proteção em diferentes órgãos vitais que geralmente sofrem com os danos ocasionados por substâncias tóxicas. São exemplo destes efeitos protetores: cardioproteção (FERDINANDY et al., 1998; SZÜCS et al., 2013), neuroproteção (SANTHANASABAPATHY; SUDHANDIRAN, 2015), hepatoproteção (VINHOLES et al., 2014).

Os relatos bibliográficos dos efeitos protetores dos diferentes isômeros de farnesol e da toxicidade seletiva em induzir apoptose de células defeituosas, possivelmente, explicam os resultados encontrados no nosso estudo, visto que na dose em que o *trans,trans*-farnesol foi investigado (5.000 mg/kg, v.o.) não foram observadas alterações comportamentais que indiquem efeitos tóxicos para esta substância, os animais não sofreram perda da massa corporal e que na avaliação macroscópica não foram identificados danos nos órgãos vitais avaliados.

5.3.2. Avaliação do efeito comportamental

Como consequência dos processos convulsivos é frequente a presença de alterações cognitivas e comportamentais nos pacientes portadores de epilepsia, tais como: alterações de humor, memória prejudicada, transtornos de ansiedade e depressão, as quais são consequências do comprometimento nas funções do sistema límbico sensorial (BEAR, 1979; BEAR; FEDIO, 1977; WAXMAN; GESCHWIND, 1974). Dentre as alterações cognitivas e comportamentais, a depressão é a comorbidade mais comum em pacientes com epilepsia (HARDEN, 2002; KANNER; BALABANOV, 2002).

Afim de investigar a ação do *trans,trans*-farnesol nas principais comorbidades decorrentes das alterações cognitivas e comportamentais que podem surgir como consequência da neurodegeneração promovida pelos processos convulsivos, foram realizados os testes do labirinto em cruz elevado, campo aberto, *rota rod* e nado forçado, os quais

permitiram avaliar, respectivamente, os possíveis efeitos ansiolítico, sedativo e/ou depressor, alteração motora e antidepressivo.

5.3.2.1. Teste do labirinto em cruz elevado

A realização deste teste permitiu investigar se o *trans,trans*-farnesol apresenta propriedade ansiolítica-símile. Rodgers & Dalvi (1997) afirmam que este protocolo, quando executado corretamente, permite detectar se a substância em estudo tem alguma relação com a neurotransmissão GABAérgica via receptor GABA_A, sendo reportado como um dos protocolos utilizados na triagem de possíveis drogas a serem utilizadas no tratamento de transtornos de ansiedade.

Este teste tem como base a avaliação de duas características principais nos roedores. A primeira é em relação à aversão que os animais tendem a ter em explorar os espaços abertos. A outra característica envolve o comportamento exploratório dos animais em ambientes desconhecidos (FERNANDES; FILE, 1996). Quando o animal é submetido a uma situação estressante e desconhecida eles optam por lugares fechados e protegidos; este comportamento é comparado de forma análoga com a ansiedade em humanos. Portanto, quando uma droga apresenta propriedades ansiolíticas o animal tende a explorar mais vezes os braços abertos do que os braços fechados (PELLOW et al., 1985)

Os nossos resultados demonstram que as três doses do *trans,trans*-farnesol (12,5, 25 e 50 mg/kg) investigadas no teste do labirinto em cruz elevado não apresentam propriedades ansiolíticas (figura 30). Os animais tratados com *trans,trans*-farnesol na dose de 12,5 mg/kg apresentaram uma menor preferência dos pelos braços abertos, sendo observada uma diminuição de 72,21% no número de entradas dos animais nos braços abertos quando comparado ao grupo controle ($1,667 \pm 0,4944$ vs. $6 \pm 0,6325$, $p = 0,0007$, figura 30A). Quanto aos demais parâmetros analisados (tempo de permanência nos braços abertos, número de entradas e tempo de permanência nos braços fechados) não foi observada nenhuma diferença significativa entre os diferentes grupos tratados com o *trans,trans*-farnesol quando comparado ao grupo controle. O tratamento com o diazepam (1 mg/kg) apresentou efeito ansiolítico esperado, sendo eficaz em aumentar a preferência dos animais pelos braços abertos, estimulando-os a entrarem mais vezes nos braços abertos ($12 \pm 0,7746$ vs. $6 \pm 0,6325$, $p < 0,0001$) e permanecerem por mais tempo nos mesmos ($101,3 \pm 9,9854$ vs. $59 \pm 10,14$, $p = 0,0149$) em 100% e 71,69%, respectivamente, quando comparado ao grupo controle (figuras 30A e 30B). O tratamento com diazepam diminuiu significativamente a entrada dos animais nos braços fechados ($4,667 \pm 0,8819$ vs. $9,5 \pm 1,118$, $p = 0,0063$) e o tempo de permanência

($157 \pm 11,02$ vs. $232,5 \pm 9,587$, $p < 0,0001$) em 50,87% e 32,47%, respectivamente, quando comparado ao controle salina (figuras 30C e 30D).

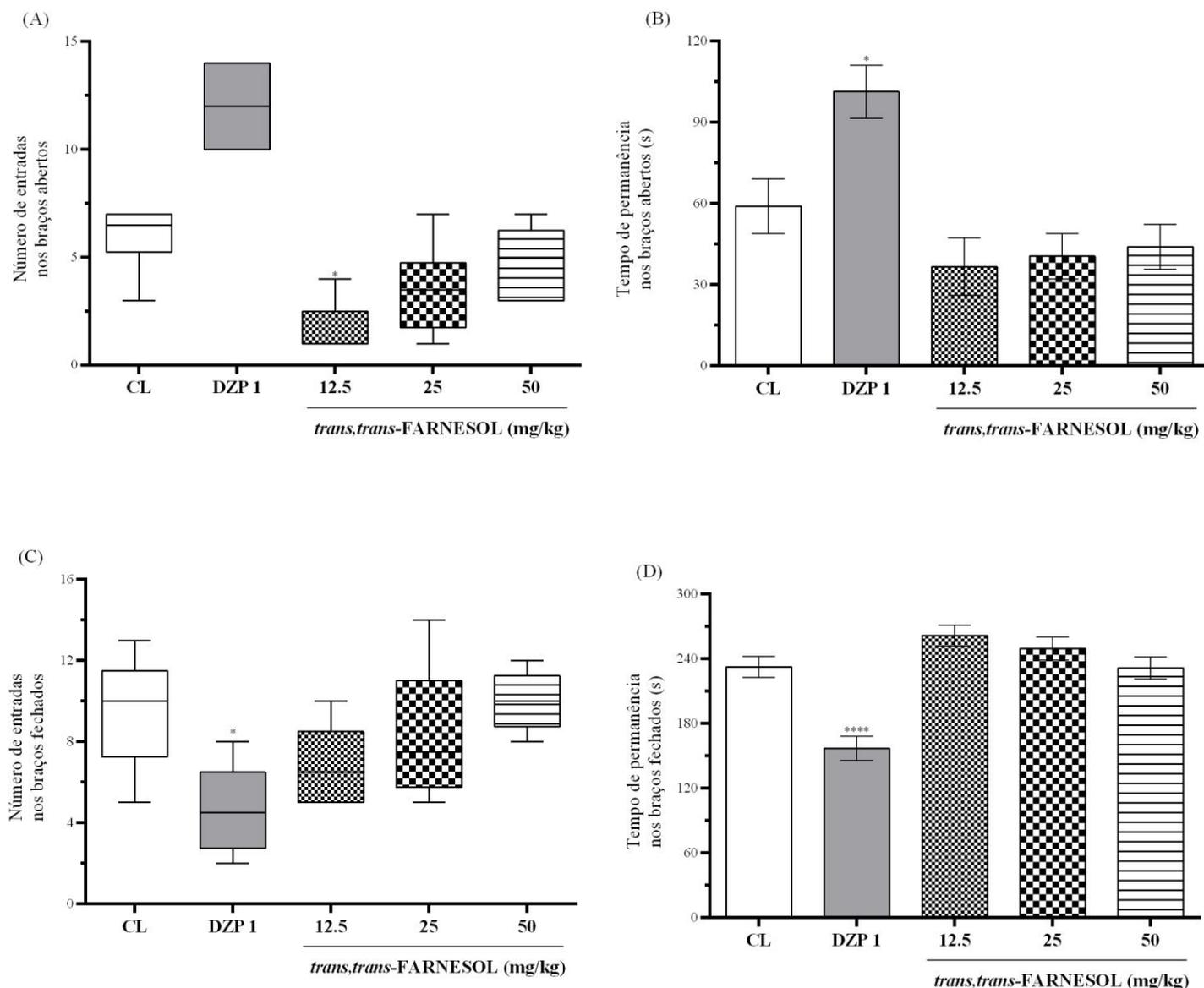


Figura 30. Efeito do *trans,trans*-farnesol sobre os parâmetros comportamentais dos camundongos no teste do labirinto em cruz elevado.

Os valores de (A) e (C) são expressos em mediana, mínimo e máximo. Os valores de (B) e (D) são expressos em média \pm E.P.M. (erro padrão da média). Todos os grupos tiveram um $n = 8$ animais. Os dados de (A) e (C) foram analisados pelo teste não paramétrico *Kruskal-Wallis* seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Dunn*. Os dados de (B) e (D) foram analisados pelo teste paramétrico ANOVA (análise de variância) de uma via seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Dunnnett*. Em todos os testes estatísticos, paramétricos e não paramétricos, o nível de significância adotado para rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 (5%). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * = $p < 0,05$, *** = $p \leq 0,001$, CL = Controle (salina - solução fisiológica 0,9%; 0,1 mL/10 g, v.o.), DZP 1 = Diazepam (1 mg/kg, i.p.).

Tabela 22 – Análise descritiva e valor de prova (p) do efeito do *trans,trans*-farnesol sobre os parâmetros comportamentais dos camundongos no teste do labirinto em cruz elevado.

(Coluna Estatística p. 242, 244, 246 e 248; *Analyze* p. 243, 245, 247 e 249).

| Grupos (n=8) | N.E.B.A. | | T.E.B.A. (s) | | N.E.B.F. | | T.P.B.F. (s) | |
|-----------------|----------------|---------|-------------------|--------|----------------|---------|-------------------|---------|
| | Med (min, máx) | p | $\bar{X} \pm S_x$ | P | Med (min, máx) | p | $\bar{X} \pm S_x$ | p |
| CL | 6,5 (3, 7) | – | 59,00 ± 10,14 | – | 10 (5, 13) | – | 232,50 ± 9,59 | – |
| DZP 1 | 12 (10, 14) | 0,2865 | 101,30 ± 9,85 | 0,0149 | 4,5 (2, 8) | 0,0208 | 157,00 ± 11,02 | <0,0001 |
| FAR 12,5 | 1 (1, 4) | 0,0379 | 36,67 ± 10,64 | 0,3052 | 6,5 (5, 10) | 0,4059 | 261,50 ± 9,92 | 0,1746 |
| FAR 25 | 3,5 (1, 7) | 0,6402 | 40,50 ± 8,48 | 0,4646 | 7,5 (5, 14) | >0,9999 | 249,50 ± 10,89 | 0,6035 |
| FAR 50 | 5 (3, 7) | >0,9999 | 44,00 ± 8,19 | 0,6373 | 10 (8, 12) | >0,9999 | 231,50 ± 10,22 | >0,9999 |

Os valores de (N.E.B.A.) e (N.E.B.F.) são expressos em mediana, mínimo e máximo. Os valores de (T.P.B.A.) e (T.P.B.F.) são expressos em média ± E.P.M. (erro padrão da média). Todos os grupos tiveram um n = 8 animais. Os dados de (N.E.B.A.) e (N.E.B.F.) foram analisados pelo teste não paramétrico *Kruskal-Wallis* seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Dunn*. Os dados de (T.P.B.A.) e (T.P.B.F.) foram analisados pelo teste paramétrico ANOVA (análise de variância) de uma via seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Dunnnett*. Em todos os testes estatísticos, paramétricos e não paramétricos, o nível de significância adotado para rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 (5%). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. N.E.B.A. = Número de entradas nos braços abertos, T.P.B.A. = Tempo de permanência nos braços abertos, N.E.B.F. = Número de entradas nos braços fechados, T.E.B.F. = Tempo de permanência nos braços fechados, Med = mediana, min = mínimo, máx = máximo, \bar{X} = Média aritmética, S_x = Erro padrão da média, CL = Controle (salina - solução fisiológica 0,9%; 0,1 mL/10 g, v.o.), DZP 1 = Diazepam 1 mg/kg (i.p.), FAR 12,5 = *trans,trans*-farnesol 12,5 mg/kg (v.o.), FAR 25 = *trans,trans*-farnesol 25 mg/kg (v.o.), FAR 50 = *trans,trans*-farnesol 50 mg/kg (v.o.).

Shahnouri, Tabari & Araghi (2016), investigaram os efeitos neurofarmacológicos do farnesol (50 e 100 mg/kg, i.p., isômero não especificado - IN) em camundongos e observaram que no teste do labirinto em cruz elevado a dose de 50 mg/kg desta substância não apresenta propriedade ansiolítica-símile; no entanto, os animais tratados com a dose de 100 mg/kg exibiram uma maior preferência pelos braços abertos, o que caracteriza um efeito do tipo ansiolítico. Os autores associaram este efeito a redução nos níveis de cortisol plasmático promovida pela administração do farnesol nos animais. Os resultados do estudo de Shahnouri, Tabari & Araghi (2016) corroboram com os nossos achados, pois observamos também que na dose de 50 mg/kg (v.o.) o farnesol (IN) não exibiu propriedades ansiolítica-símile.

Por outro lado, na literatura estudos têm confirmado que substâncias pertencentes à esta classe química mostram-se eficazes como possíveis agentes a serem utilizados no tratamento de transtornos de ansiedade. São exemplos de sesquiterpenos com ação ansiolítica-símile no teste do LCE: (–)- α -bisabolol (0,5, 1 e 2 mg/kg, i.p.) promove um efeito ansiolítico possivelmente por atuar no sistema de neurotransmissão GABAérgica (TABARI; TEHRANI, 2017); nerolidol (12,5, 25 e 50 mg/kg, i.p.), que promove uma ação ansiolítica-símile sem

comprometer a atividade locomotora (GOEL; KAUR; PAHWA, 2016); bilobalide, que apresenta atividade ansiolítica devido o seu efeito *up-regulation* na expressão de receptores de glicocorticóides no hipocampo (MA et al., 2012); β -cariofileno (50 mg/kg, i.p.), que mostrou-se atuar possivelmente pela via dos receptores canabinóides subtipo 2 (BAHI et al., 2014). Galdino e colaboradores (2012) também investigaram a ação do β -cariofileno (50, 100 e 200 mg/kg, v.o.) e observaram que esta substância apresenta efeito ansiolítico e que este efeito não é mediado pela via dos receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} e nem pela via dos receptores benzodiazepínicos.

Apesar dos relatos na literatura de que os sesquiterpenos apresentam propriedade ansiolítica-símile e de o farnesol já ter sido reportado por possuir essa ação, o que possivelmente justifica a ausência deste efeito no nosso estudo são as doses na qual o *trans,trans*-farnesol foi testado (12,5, 25 e 50 mg/kg) e a via de administração utilizada (v.o.); visto que no estudo de Shahnouri; Tabari & Araghi (2016) a presença de uma resposta ansiolítica foi observada somente nos animais tratados pela via intraperitoneal com a dose de 100 mg/kg do farnesol (IN). A soma destes dois fatores, dose e via de administração, pode ter afetado diretamente a sua biodisponibilidade e eficácia. Montanha & Azevedo (2004) afirmam que o método de administração é um dos fatores que mais influenciam na obtenção do efeito de uma droga, pois a via utilizada implica tanto no seu tempo de absorção quanto na biodisponibilidade sistêmica.

5.3.2.2. *Teste do campo aberto*

O teste do campo aberto é um dos mais utilizados para investigar a atividade de substâncias sobre a atividade locomotora e/ou exploratória de roedores (ARCHER, 1973). O campo aberto foi desenvolvido por Hall (1934) para fins de estudo da “emocionalidade” em ratos. O termo emocionalidade foi empregado por Hall para caracterizar o fato de o animal ficar, por exemplo, inerte quando exposto a um novo ambiente (LISTER, 1990). Este teste objetiva submeter o animal a um ambiente desconhecido que o torne impossibilitado de escapar (WALSH; CUMMINS, 1976).

De acordo com Costa-Lotuf e colaboradores (2004) os parâmetros número de cruzamentos (NC) e o número de *rearing* (NR) permitem avaliar o índice de atividade locomotora e atividade exploratória, respectivamente. Já a avaliação da capacidade de autolimpeza (*grooming*) do animal em um ambiente novo permite investigar duas atividades: a capacidade estimulante ou depressora de uma dada substância e atividades mais específicas, como efeito tipo ansiolítico e sedativo (OLSEN, 2000).

A tabela 23 mostra a influência dos diferentes tratamentos com *trans,trans*-farnesol nas atividades locomotora e exploratória dos animais. Os resultados mostram que as três doses (12,5, 25 e 50 mg/kg) do *trans,trans*-farnesol afetaram a atividade locomotora dos animais causando uma redução no número de cruzamentos em 55,18%, 45,65% e 40,69%, respectivamente, quando comparado ao controle salina ($p < 0,0001$, $p = 0,001$ e $p = 0,023$, respectivamente). No número de *rearing*, observou-se que somente nas três doses (12,5, 25 e 50 mg/kg) do *trans,trans*-farnesol não houve alteração nesse parâmetro comportamental quando comparado ao grupo controle ($p = 0,0885$, $p = 0,2345$ e $p > 0,9999$, respectivamente). No número de *grooming* em nenhuma das doses de *trans,trans*-farnesol (12,5, 25 e 50 mg/kg) utilizadas neste trabalho promoveram diferenças significativas quando comparado ao grupo controle ($p = 0,0970$, $p = 0,8022$ e $p = 0,6589$, respectivamente). Os animais tratados com diazepam (2 mg/kg) apresentaram uma redução em todos os parâmetros avaliados (número de cruzamentos, número de *rearing* e número de *grooming*) em 41,06%, 96,66% e 77,77%, respectivamente, quando comparado ao controle salina ($p = 0,019$, $p < 0,0001$ e $p = 0,0008$, respectivamente).

Tabela 23 – Efeito do *trans,trans*-farnesol sobre os parâmetros comportamentais dos camundongos no teste do campo aberto.

(Coluna Estatística p. 250, 252 e 254; *Analyze* p. 251, 253 e 255).

| Grupos (n=8) | NC | | NR | | NG | |
|-----------------|----------------|---------|----------------|---------|----------------|--------|
| | Med (min, máx) | P | Med (min, máx) | p | Med (min, máx) | p |
| CL | 101 (85, 123) | – | 10 (3, 22) | – | 4 (1, 10) | – |
| DZP 2 | 60,50 (46, 78) | 0,0190 | 0 (0, 0) | <0,0001 | 1 (0, 2) | 0,0008 |
| FAR 12,5 | 46 (27, 64) | <0,0001 | 3,5 (0, 13) | 0,0885 | 2 (0, 3) | 0,0970 |
| FAR 25 | 51 (40, 90) | 0,0010 | 5 (1, 10) | 0,2345 | 2,5 (1, 5) | 0,8022 |
| FAR 50 | 58 (27, 89) | 0,0230 | 7,5 (2, 17) | >0,9999 | 2,5 (1, 5) | 0,6589 |

Os valores são expressos em mediana, mínimo e máximo. Todos os grupos tiveram um n = 8 animais. Os dados foram analisados pelo teste não paramétrico *Kruskal-Wallis* seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Dunn*.. O nível de significância adotado para rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 (5%). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos quando comparados ao grupo controle salina. NC = Número de cruzamentos; NR = Número de *rearing*, NG = Número de *grooming*. Med = mediana, min = mínimo, máx = máximo, \bar{X} = Média aritmética, S_x = Erro padrão da média, CL = Controle (salina - solução fisiológica 0,9%; 0,1 mL/10 g, v.o.), DZP 2 = Diazepam 2 mg/kg (i.p.), FAR 12,5 = *trans,trans*-farnesol 12,5 mg/kg (v.o.), FAR 25 = *trans,trans*-farnesol 25 mg/kg (v.o.), FAR 50 = *trans,trans*-farnesol 50 mg/kg (v.o.).

Os resultados obtidos pela avaliação do NR configuram uma possível atividade depressora do *trans,trans*-farnesol, sendo que este efeito é do tipo dose-dependente, ou seja, a

resposta depende da dose administrada (a medida que se diminui a dose administrada o efeito depressor se intensifica).

Os animais tratados com a menor dose do *trans,trans*-farnesol (12,5 mg/kg, v.o.) exibiram uma redução para todos os parâmetros avaliados no campo aberto (NC, NR e NG), corroborando com os dados encontrados por Shahnouri; Tabari & Araghi (2016), os quais observaram que o farnesol (50 e 100 mg/kg, i.p., IN) promove uma diminuição significativa na atividade locomotora e no número de *grooming*, o que sugere um possível efeito sedativo e/ou depressor do SNC.

No estudo de Tabari & Tehrani (2017), os autores encontraram resultados semelhantes para o (-)- α -bisabolol (álcool sesquiterpeno monocíclico), foi observado que no campo aberto o (-)- α -bisabolol (5 e 10 mg/kg, i.p.) apresentou um efeito depressor reduzindo o número de cruzamentos dos animais quando comparados com o controle grupo. Por outro lado, outros compostos sesquiterpênicos que já foram avaliados no teste do campo aberto exibiram efeitos típicos de fármacos ansiolíticos sem afetar a atividade locomotora dos animais, são exemplos: o nerolidol (GOEL; KAUR; PAHWA, 2016), β -cariofileno (BAHI et al., 2014; GALDINO et al., 2012) e bilobalide (MA et al., 2012).

5.3.2.3. Teste do Rota-rod

Para validar os resultados obtidos no campo aberto foi realizado o teste do *rota-rod*. Este é um dos protocolos mais utilizados para medir o efeito miorrelaxante ou de uma alteração na coordenação motora de drogas que possivelmente possam deprimir a neurotransmissão na junção neuromuscular esquelética (CARLINI; BURGOS, 1979). A perda da coordenação motora reflete na força do equilíbrio, na marcha e na competência sensorial, os quais prejudicam os ensaios comportamentais podendo afetar a memória, motivação e exploração (BOEHM et al., 2000).

Os resultados mostram que as três doses do *trans,trans*-farnesol (12,5, 25 e 50 mg/kg) investigadas no teste do *rota-rod* não afetaram a coordenação motora dos animais, uma vez que não foi observada diferença estatisticamente significativa ao comparar os parâmetros (tempo de permanência e número de quedas) dos diferentes grupos tratados com farnesol com o grupo controle (tabela 24). O tratamento com o diazepam (5 mg/kg) apresentou o efeito miorrelaxante esperado, modificando o número de quedas ($0,62 \pm 0,26$ vs. 0 ± 0) e o tempo de permanência ($57,50 \text{ s} \pm 1,25$ vs. $60 \text{ s} \pm 0$) quando comparado aos animais tratados com salina ($p = 0,0041$ e $p = 0,0117$, respectivamente, tabela 24).

Tabela 24 – Efeito do *trans,trans*-farnesol sobre a coordenação dos camundongos no teste do *Rota-rod*.

(Coluna Estatística p. 256 e 258; *Analyze* p. 257 e 259).

| Grupos (n=8) | NQ | | TP | |
|-----------------|----------------|----------|-------------------|----------|
| | Med (min, máx) | <i>p</i> | $\bar{X} \pm S_x$ | <i>P</i> |
| CL | 0 (0, 0) | – | 60,00 ± 0,00 | – |
| DZP 5 | 0,5 (0, 2) | 0,0041 | 57,50 ± 1,25 | 0,0117 |
| FAR 12,5 | 0 (0, 0) | >0,9999 | 60,00 ± 0,00 | >0,9999 |
| FAR 25 | 0 (0, 0) | >0,9999 | 60,00 ± 0,00 | >0,9999 |
| FAR 50 | 0 (0, 0) | >0,9999 | 60,00 ± 0,00 | >0,9999 |

Os valores de (NQ) são expressos em mediana, mínimo e máximo. Os valores de (TP) são expressos em média ± E.P.M. (erro padrão da média). Todos os grupos tiveram um n = 8 animais. Os dados de (NQ) foram analisados pelo teste não paramétrico *Kruskal-Wallis* seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Dunn*. Os dados de (TP) foram analisados pelo teste paramétrico ANOVA (análise de variância) de uma via pelo teste de comparações múltiplas de *Dunnnett*. O nível de significância adotado para rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 (5%). Valores de *p* <0,05 foram considerados significativos quando comparados ao grupo controle salina. NC = Número de cruzamentos; NR = Número de *rearing*, NG = Número de *grooming*, Med = Mediana, min = mínimo, máx = máximo, \bar{X} = Média aritmética, S_x = Erro padrão da média, CL = Controle (salina - solução fisiológica 0,9%; 0,1 mL/10 g, v.o.), DZP 2 = Diazepam 5 mg/kg (i.p.), FAR 12,5 = *trans,trans*-farnesol 12,5 mg/kg (v.o.), FAR 25 = *trans,trans*-farnesol 25 mg/kg (v.o.), FAR 50 = *trans,trans*-farnesol 50 mg/kg (v.o.).

Os dados encontrados no nosso estudo para o *trans,trans*-farnesol no teste do *roda-rod* corroboram com os achados de Silva e colaboradores (2017), os quais investigaram o efeito antinociceptivo do composto (50 e 100 mg/kg, v.o.). Neste trabalho os autores realizaram o teste do *roda-rod* para verificar se o eventual prejuízo na coordenação motora dos camundongos tratados com *trans,trans*-farnesol poderia influenciar nos efeitos analgésicos, os resultados obtidos revelaram que ambas as doses testadas não promoveram nenhuma alteração significativa no desempenho motor dos animais.

Os resultados obtidos no teste do *rota-rod* nos revelam que a alteração na atividade locomotora observada no teste do campo aberto não é resultante do efeito miorrelaxante nos animais, visto que os animais tratados com *trans,trans*-farnesol não apresentaram comprometimento na sua coordenação motora. Esses dados nos levam a concluir que o comprometimento locomotor, evidenciando pela redução na atividade exploratória no campo aberto, é advindo do possível efeito sedativo e/ou depressor do farnesol.

5.3.2.4. Teste do nado forçado

O teste do nado forçado é considerado o modelo farmacológico *in vivo* mais utilizado na investigação de drogas com atividade antidepressiva (PORSOLT; LE PICHON; JALFRE, 1977). Apesar deste teste não reproduzir adequadamente a sintomatologia da depressão em humanos, ele apresenta um alto valor preditivo na busca de drogas com possível atividade antidepressiva (WILLNER, 2005), uma vez que antidepressivos clássicos são eficazes em reduzir o tempo em que os animais permanecem imóveis quando submetidos a este teste (CRYAN; PAGE; LUCKI, 2002; PORSOLT; LE PICHON; JALFRE, 1977).

A figura 31 mostra o efeito das diferentes doses de *trans,trans*-farnesol no teste do nado forçado. A análise estatística revelou que na dose de 12,5 mg/kg o *trans,trans*-farnesol apresentou um efeito depressor, aumentando em 51,72% o tempo de imobilidade dos animais quando comparado ao grupo controle ($94,83 \pm 8,592$ vs. $62,5 \pm 4,295$, $p = 0,0058$). Os animais tratados com *trans,trans*-farnesol 25 mg/kg não apresentaram diferenças significativas quando comparados ao controle salina ($74 \pm 9,754$ vs. $62,5 \pm 4,295$, $p = 0,5386$). Por outro lado, os animais submetidos ao tratamento com *trans,trans*-farnesol na dose de 50 mg/kg apresentaram uma redução de 62,12% no tempo de imobilidade quando comparado com os animais tratados com salina ($23,67 \pm 4,326$ vs. $62,5 \pm 4,295$, $p = 0,001$), o que demonstra possivelmente um efeito do tipo antidepressivo-símile. O tratamento com a imipramina (30 mg/kg) foi eficaz em reduzir o tempo de imobilidade dos animais em 97,33% quando comparado com os animais tratados com salina ($1,667 \pm 1,667$ vs. $62,5 \pm 4,295$, $p < 0,0001$).

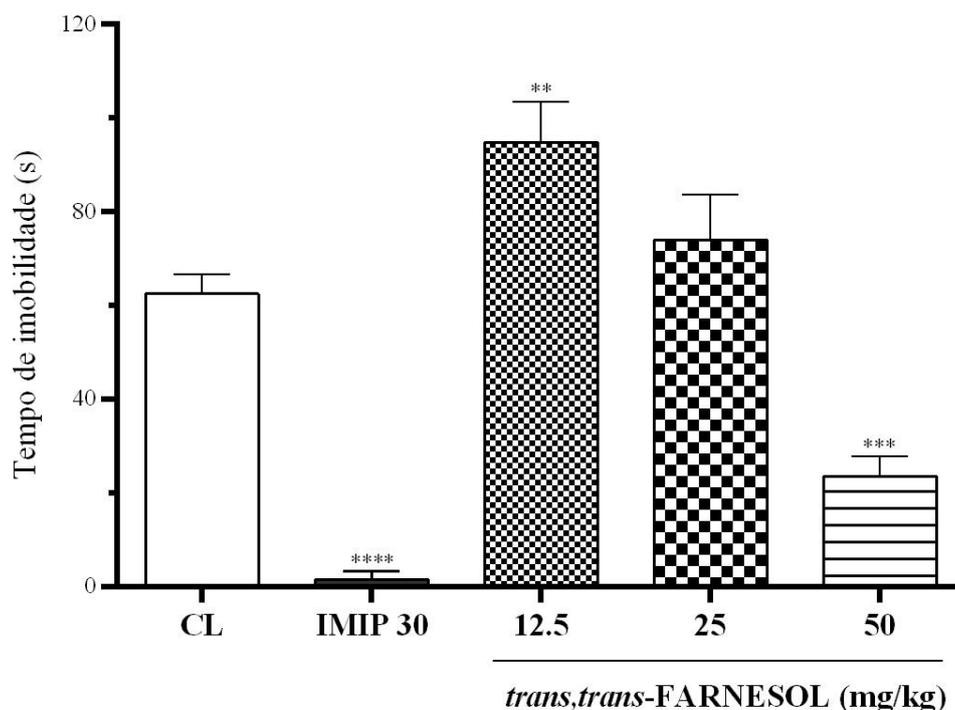


Figura 31 – Efeito do *trans,trans*-farnesol em camundongos submetidos ao teste do nado forçado.

Os valores são expressos em média \pm E.P.M. (erro padrão da média). Todos os grupos tiveram um $n = 6$ animais. Os dados foram analisados pelo teste paramétrico ANOVA (análise de variância) de uma via pelo teste de comparações múltiplas de *Dunnnett*. O nível de significância adotado para rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 (5%). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. ** = $p \leq 0,01$, **** = $p \leq 0,0001$, CL = Controle (salina - solução fisiológica 0,9%; 0,1 mL/10 g, v.o.), IMIP 30 = Imipramina 30 mg/kg (i.p.).

Tabela 25 – Análise descritiva e valor de prova (p) do efeito do *trans,trans*-farnesol em camundongos submetidos ao teste do nado forçado.

(Coluna Estatística p. 260; *Analyze* p. 261).

| Grupos (n=6) | Tempo de Imobilidade (s) | |
|-----------------|--------------------------|---------|
| | $\bar{X} \pm S_x$ | P |
| CL | 62,50 \pm 4,30 | - |
| IMIP 30 | 1,66 \pm 1,66 | <0,0001 |
| FAR 12,5 | 94,83 \pm 8,59 | 0,0058 |
| FAR 25 | 74,00 \pm 9,75 | 0,5356 |
| FAR 50 | 26,67 \pm 4,37 | 0,0010 |

Os valores são expressos em média \pm E.P.M. (erro padrão da média). Todos os grupos tiveram um $n = 6$ animais. Os dados foram analisados pelo teste paramétrico ANOVA (análise de variância) de uma via pelo teste de comparações múltiplas de *Dunnnett*. O nível de significância adotado para rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 (5%). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos quando comparados ao grupo controle salina. NC = Número de cruzamentos; NR = Número de *rearing*, NG = Número de *grooming*, \bar{X} = Média aritmética, S_x = Erro padrão da média, CL = Controle (salina - solução fisiológica 0,9%; 0,1 mL/10 g, v.o.), IMIP 30 = Imipramina 30 mg/kg (i.p.), FAR 12,5 = *trans,trans*-farnesol 12,5 mg/kg (v.o.), FAR 25 = *trans,trans*-farnesol 25 mg/kg (v.o.), FAR 50 = *trans,trans*-farnesol 50 mg/kg (v.o.).

Os resultados obtidos no teste do nado forçado indicam que quando testado na menor dose (12,5 mg/kg) o *trans,trans*-farnesol promoveu um efeito característico de substâncias depressoras, enquanto que animais tratados com a maior dose (50 mg/kg) tiveram uma redução no tempo de imobilidade, sendo este efeito típico de drogas antidepressivas. Os nossos dados divergem dos achados de Shahnouri, Tabari & Araghi (2016), os quais observaram que nas doses de 50 e 100 mg/kg (i.p.) o farnesol (IN) não apresenta atividade antidepressiva. Os autores observaram que ambas as doses do farnesol (IN) aumentaram o tempo de imobilidade no nado forçado, sendo este efeito mais intenso nos animais tratados com a dose de 100 mg/kg. A possível justificativa para esta divergência pode ser explicada pela via de administração utilizada, visto que no nosso estudo fizemos uso da via oral e Shahnouri et al. (2016) fizeram uso da via intraperitoneal. A cavidade peritoneal é bem vascularizada, e os fármacos ou substâncias infundidas por essa via atingem níveis plasmáticos em cerca de 10 segundos, bem como não sofrem metabolismo hepático de primeira passagem (LUKAS; BRINDLE; GREENGARD, 1971), o que favorece com que a substância tenha uma maior biodisponibilidade sistêmica (MONTANHA; AZEVEDO, 2004), o que pode ter favorecido com que o a substância, quando administrada pela via intraperitoneal, tenha chegado no seu local de ação numa concentração capaz de promover efeito depressor. Rustay; Wahlsten & Crabbe (2003) afirmam que é frequente a presença de efeito bifásico em substâncias que atuam no sistema nervoso central, podendo estas atuarem como estimulantes em baixas doses e sedativas ou depressoras em doses mais elevadas, e vice-versa.

5.3.2.5. *Convulsões induzidas por pilocarpina*

O modelo de convulsões induzidas por pilocarpina foi escolhido por permitir investigar a participação de diferentes sistemas de neurotransmissão que podem atuar como moduladores durante o processo de ictogênese (FRIEDMAN; BEHRENS; HEINEMANN, 2007; JOPE; MORRISETT; SNEAD, 1986; KHAN et al., 2000; OLNEY; COLLINS; SLOVITER, 1986; PERSINGER; LEUNG; STEWART, 2001; SAVOLAINEN; HIRVONEN, 1992; TURSKI et al., 1983). Além disso, a hiperexcitabilidade colinérgica central pela superdosagem de pilocarpina promove importantes alterações cognitivas e comportamentais, as quais são resultantes, em parte, do processo neurodegenerativo e neuroinflamatório consequentes das crises convulsivas e/ou epiléticas.

A superdosagem de pilocarpina produz lesões neuronais em diferente áreas cerebrais, sendo as principais áreas afetadas as: estruturas límbicas, as quais sofrem perda neuronal

hippocampal; amígdala, córtex entorrinal e piriforme, o que promove o envolvimento de diferentes áreas no processo de epileptogênese (CAVALHEIRO, 1991; FERNANDES, 2013; TURSKI et al., 1983). Por agir focalmente no lobo temporal, o modelo da pilocarpina induz a epilepsia do lobo temporal (tipo de epilepsia mais frequente em adultos); e é indicado pelo *National Institutes of Health* – NIH como um modelo útil na triagem de drogas antiepilépticas e na investigação dos efeitos de fármacos sobre as comorbidades e farmacoresistência associadas a epilepsia (GALANOPOULOU et al., 2012).

A figura 32 mostra o efeito das diferentes doses de *trans,trans*-farnesol sobre as convulsões induzidas por pilocarpina. A análise estatística revelou que somente na dose de 50 mg/kg o farnesol foi eficaz em aumentar a latência da primeira convulsão tônica ou tônico-clônica quando comparado ao grupo controle (aumento de 73,24%, $p = 0,0059$, figura 32A). No parâmetro de latência de morte dos animais a dose de 12,5 mg/kg foi a mais eficaz em aumentar a latência de morte dos animais (aumento de 134,58% vs. grupo controle, $p < 0,0001$, figura 32B), sendo esse efeito semelhante ao observado nos animais tratados com diazepam 2 mg/kg (aumento de 150% vs. grupo controle, $p < 0,0001$, figura 32B). Na avaliação da intensidade da crise convulsiva, observa-se que o tratamento com *trans,trans*-farnesol (12,5, 25 e 50 mg/kg) não foi eficaz em amenizar a intensidade das crises convulsivas quando comparado ao grupo controle ($p > 0,9999$, $p > 0,9999$ e $p = 0,9968$, respectivamente, figura 32C). Por outro lado, ao avaliar o percentual de sobrevivência após 24 h, observou-se que todos os grupos que receberam o tratamento com as diferentes doses do *trans,trans*-farnesol tiveram animais sobreviventes aos danos causados pela pilocarpina; entretanto, a dose de 12,5 mg/kg foi a que promoveu um maior percentual de sobrevivência (87,5%, figura 32D). Quanto aos animais tratados com diazepam, o tratamento foi eficaz em aumentar a latência da primeira convulsão tônica ou tônico-clônica (aumento de 301,97% vs. grupo controle, $p < 0,0001$, figura 32A) e promoveu a proteção dos animais contra os danos ocasionados pela pilocarpina, promovendo um percentual de 100% de sobrevivência após 24h. Na avaliação da intensidade da crise convulsiva, os animais tratados com diazepam apresentaram crises convulsivas menos intensas do que os animais tratados com salina ($1,875 \pm 0,4407$ vs. $4,875 \pm 0,1250$, $p = 0,0002$, figura 32C).

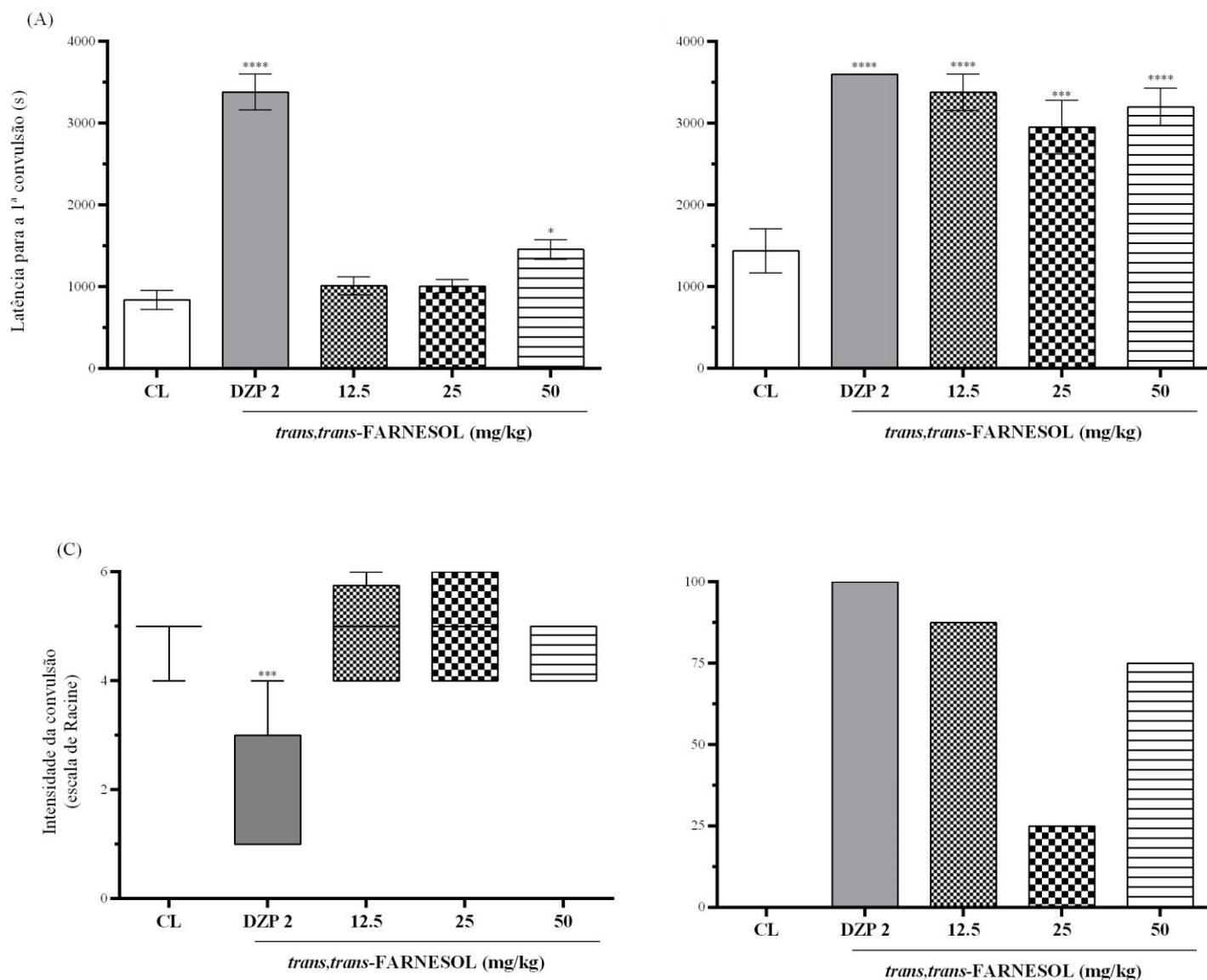


Figura 32. Efeito do *trans,trans*-farnesol em camundongos submetidos à convulsão induzida por pilocarpina. (A) Latência da primeira convulsão clônica ou tônico-clônica; (B) Latência de morte dos animais; (C) Estágios e intensidade das crises convulsivas com base na escala de Racine (1972) adaptada por Lüttjohann; Fabene & Luijtelaar (2009); e (D) Percentual de sobrevivência dos animais após 24h da administração do pentilenotetrazol.

Os valores de (A) e (B) são expressos em média \pm E.P.M. (erro padrão da média). Os valores de (C) são expressos em mediana, mínimo e máximo. Os valores de (D) são expressos em porcentagem. Todos os grupos tiveram um $n = 8$ animais. Os dados de (A) e (B) foram analisados pelo teste paramétrico ANOVA (análise de variância) de uma via seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Dunnnett*. Os dados de (C) foram analisados pelo teste não paramétrico *Kruskal-Wallis* seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Dunn*. Em todos os testes estatísticos, paramétricos e não paramétricos, o nível de significância adotado para rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 (5%). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * = $p < 0,05$, ** = $p \leq 0,01$, *** = $p \leq 0,001$, **** = $p \leq 0,0001$, CL = Controle (salina - solução fisiológica 0,9%; 0,1 mL/10 g, v.o.), DZP 2 = Diazepam (2 mg/kg, i.p.).

Tabela 26 – Análise descritiva e valor de prova (p) do efeito do *trans,trans*-farnesol em camundongos submetidos à convulsão induzida por pilocarpina.

(Coluna Estatística p. 262, 264 e 266; *Analyze* p. 263, 265 e 267).

| Grupos (n=8) | L.P.C. (s) | | L.M. (s) | | Intensidade da crise | | Sobrevivência após 24h |
|---------------------|-------------------|---------|-------------------|---------|----------------------|---------|---------------------------|
| | $\bar{X} \pm S_x$ | P | $\bar{X} \pm S_x$ | p | Mediana | p | (%) |
| CL | 841,6 ± 115,50 | – | 1440 ± 272,80 | – | 5 | – | 0 |
| DZP 2 | 3383 ± 217,50 | <0,0001 | 3600 ± 0,00 | <0,0001 | 1 | 0,0002 | 100 |
| FAR 12,5 | 1013 ± 108,60 | 0,8750 | 3378 ± 225,50 | <0,0001 | 5 | >0,9999 | 87,5 |
| FAR 25 | 1009 ± 77,87 | 0,8843 | 2956 ± 330,80 | 0,0014 | 5 | >0,9999 | 25 |
| FAR 50 | 1458 ± 119,50 | 0,0059 | 3202 ± 229,90 | 0,0002 | 4 | 0,9968 | 75 |

Os valores de L.P.C. e L.M. são expressos em média ± E.P.M. (erro padrão da média). Os valores da Intensidade da crise são expressos em mediana. Os valores da Sobrevivência após 24h são expressos em porcentagem. Todos os grupos tiveram um n = 8 animais. Os dados de L.P.C. e L.M. foram analisados pelo teste paramétrico ANOVA (análise de variância) de uma via seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Dunnnett*. Os dados da Intensidade da crise foram analisados pelo teste não paramétrico *Kruskal-Wallis* seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Dunn*. Em todos os testes estatísticos, paramétricos e não paramétricos, o nível de significância adotado para rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 (5%). Valores de p <0,05 foram considerados significativos quando comparados ao grupo controle salina. L.P.C. = Latência da primeira convulsão clônica ou tônico-clônica, L.M. = Latência de morte, \bar{X} = Média aritmética, S_x = Erro padrão da média, % = Porcentagem. CL = Controle (salina - solução fisiológica 0,9%; 0,1 mL/10 g, v.o.), DZP 2 = Diazepam (2 mg/kg, i.p.), FAR 12,5 = *trans,trans*-farnesol 12,5 mg/kg (v.o.), FAR 25 = *trans,trans*-farnesol 25 mg/kg (v.o.), FAR 50 = *trans,trans*-farnesol 50 mg/kg (v.o.).

Os resultados encontrados demonstram que o *trans,trans*-farnesol não mostrou-se promissor como agente anticonvulsivante. Foi observada a presença de crises convulsivas/epilépticas nos diferentes grupos que receberam o tratamento com esta substância. Por outro lado, nas três doses investigadas (12,5, 25 e 50 mg/kg, v.o. – 0,25%, 0,5% e 1% da DL_{50}), o *trans,trans*-farnesol exibiu um significativo efeito neuroprotetor, sendo este efeito evidenciado pelos parâmetros de latência de morte e percentual de sobrevivência dos animais 24 h após o estresse induzido pela pilocarpina. Dentre as doses em que o *trans,trans*-farnesol foi testado, a de 12,5 mg/kg (menor dose testada – 0,25% da DL_{50}) foi a mais eficaz em promover um aumento no limiar de morte e no percentual de animais sobreviventes após 24h.

Estudos têm demonstrado o potencial dos compostos terpênicos em proteger os animais dos danos cerebrais promovidos por diferentes agentes pró-convulsivos e/ou epileptogênicos (ALMEIDA et al., 2011). Dentre os compostos terpênicos com ação anticonvulsivante, podemos citar como exemplo: terpinen-4-ol (ATANASOVA-SHOPOVA; RUSINOV; BOICHEVA, 1973; DE SOUSA et al., 2009), citral, β -mirceno, limoneno (ARORA, SHARMA, KAPILA, 1958; QUITANS-JUNIOR et al., 2010), linalol (DE SOUSA

et al., 2010; NWAIWU; AKAH, 1986), α -terpineol (DE SOUSA; QUITANS; DE ALMEIDA, 2007), citronelol (DE SOUSA et al., 2006), eugenol, metileugenol, isoeugenol, estragol, safrol (DALLMEIER; CARLINE, 1981), carvacrol (QUITANS-JUNIOR et al., 2010).

Quanto as substâncias classificadas quimicamente na mesma classe que o *trans,trans*-farnesol (sesquiterpenóides), algumas são reportadas na literatura por possuírem ação aticonvulsivante e neuroprotetora, são elas: (+)-deidrofuquinona (GARLET et al., 2017), nerolidol (KAUR; PAHWA; GOEL, 2016), β -cariofileno (DE-OLIVEIRA et al., 2016), ácido valerênico (HINTERSTEINER et al. 2014; KHOM et al., 2016; TORRES-HERNÁNDEZ; DEL VALLE-MOJICA; ORTÍZ, 2015), *trans*-cariofileno (GALINDO; PULTRINI; COSTA, 2010; LIU et al., 2014), curcumol (DING et al., 2014), *ar*-turmerona (ORELLANA-PAUCAR et al., 2013) e β -eudesmol (CHIOU; LING; CHANG, 1997). Isto corrobora com os resultados encontrados no nosso estudo, o qual demonstrou que o *trans,trans*-farnesol (álcool sesquiterpênico) apresenta potencial como agente neuroprotetor em camundongos submetidos as convulsões induzidas por pilocarpina. O efeito desta substância pode estar associado a sua classe química, tendo em vista que, conforme acima citado, compostos sesquiterpênicos possuem ação neuroprotetora e anticonvulsivante em modelos animais.

À elucidação dos possíveis mecanismos envolvidos na ação neuroproteção promovida pelo *trans,trans*-farnesol deu-se pela investigação da participação dos principais sistemas e vias de neurotransmissão afetadas pela pilocarpina durante o processo de ictogênese e epileptogênese (neurotransmissão colinérgica, neurotransmissão monoaminérgica e sistema antioxidante) (MARINHO et al., 1998; PERSINGER et al., 1993).

5.3.3. Possíveis mecanismos de ação responsáveis pelo efeito anticonvulsivante e neuroprotetor do trans,trans-farnesol

5.3.3.1. Participação do sistema colinérgico - Tremores induzidos por oxotremorina

Para verificar o possível envolvimento do sistema colinérgico no efeito neuroprotetor do *trans,trans*-farnesol foi realizado o teste dos tremores induzidos por oxotremorina.

A oxotremorina (agonista colinérgico) é um ligante que atua seletivamente em receptores colinérgicos muscarínicos no sistema nervoso central e periférico. Esta droga é capaz de induzir atividade tremorigênica, a qual parece ser mediada principalmente através da estimulação central do sistema colinérgico, mediante ativação dos receptores muscarínicos do tipo M1 (BEBBINGTON; BRIMBELCOMBE; SHAKESHAFT, 1966).

A figura 33 mostra o efeito do *trans,trans*-farnesol sobre o modelo dos tremores induzidos por oxotremorina. A análise estatística revelou que nos três tempos avaliados (10, 20 e 30 min) tanto o *trans,trans*-farnesol (12,5 mg/kg) quanto a atropina (10 mg/kg) reverteram significativamente a intensidade dos tremores induzidos por oxotremorina quando comparado ao grupo controle ($p < 0,0001$ para ambos os grupos nos três tempos de análise). O tratamento com *trans,trans*-farnesol exibiu uma maior eficácia em amenizar a intensidade dos tremores nos tempos de 10 e 20 min, apresentando um comportamento semelhante ao grupo tratado com a atropina. Por outro lado, no tempo de 30 min o *trans,trans*-farnesol amenizou a intensidade dos tremores, porém com uma eficácia inferior a atropina.

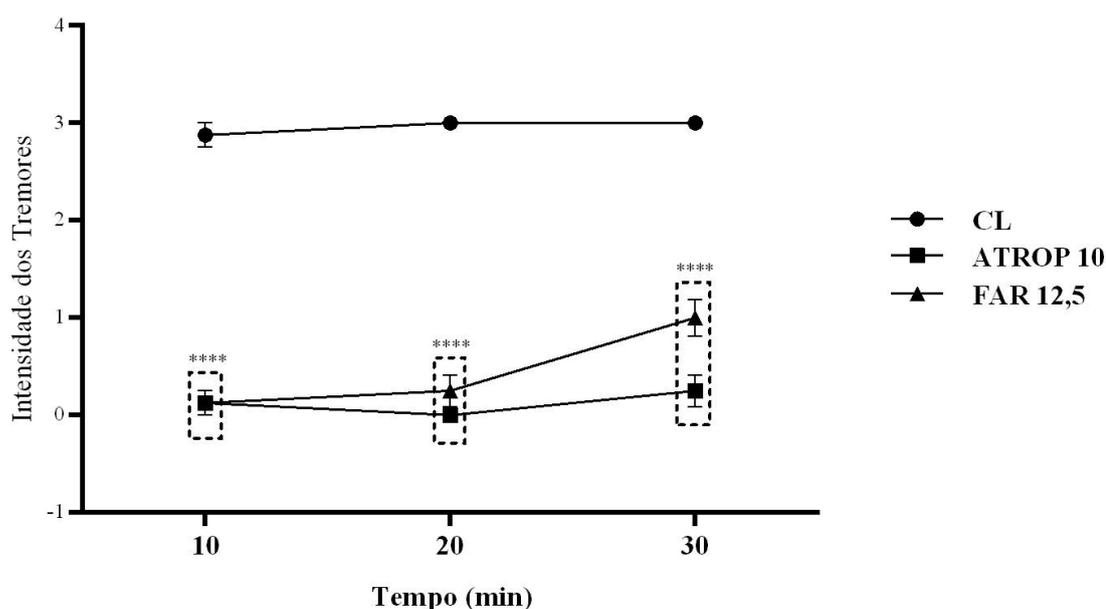


Figura 33. Efeito do *trans,trans*-farnesol no modelo de tremores induzidos por oxotremorina.

Os valores são expressos em média \pm E.P.M. (erro padrão da média). Todos os grupos tiveram um $n = 8$ animais. Os dados foram analisados pelo teste paramétrico ANOVA (análise de variância) de duas vias seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Bonferroni*. O nível de significância adotado para rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 (5 %). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. **** = $p \leq 0,0001$, CL = Controle (salina - solução fisiológica 0,9%; 0,1 mL/10 g, v.o.), ATROP 10 = Atropina 10 mg/kg (i.p.), FAR 12,5 = *trans,trans*-farnesol 12,5 mg/kg (v.o.).

Tabela 27 – Análise descritiva e valor de prova (p) do efeito do *trans,trans*-farnesol no modelo de tremores induzidos por oxotremorina.

(Coluna Estatística p. 268; *Analyze* p. 269).

| Grupos (n=8) | Tempo (min)/Intensidade dos tremores | | | | | |
|-----------------|--------------------------------------|---------|-------------------|---------|-------------------|---------|
| | 10 | | 20 | | 30 | |
| | $\bar{X} \pm S_x$ | P | $\bar{X} \pm S_x$ | p | $\bar{X} \pm S_x$ | P |
| CL | 2,875 ± 0,13 | – | 3,0 ± 70,00 | – | 3,000 ± 0,00 | – |
| ATROP 10 | 0,125 ± 0,13 | <0,0001 | 0,0 ± 0,00 | <0,0001 | 0,250 ± 0,16 | <0,0001 |
| FAR 12,5 | 0,125 ± 0,13 | <0,0001 | 0,250 ± 0,16 | <0,0001 | 1,000 ± 0,19 | <0,0001 |

Os valores são expressos em média ± E.P.M. (erro padrão da média). Todos os grupos tiveram um n = 8 animais. Os dados foram analisados pelo teste paramétrico ANOVA (análise de variância) de duas vias seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Bonferroni*. O nível de significância adotado para rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 (5%). Valores de p < 0,05 foram considerados significativos quando comparados ao grupo controle salina. \bar{X} = Média aritmética, S_x = Erro padrão da média, CL = Controle (salina - solução fisiológica 0,9%; 0,1 mL/10 g, v.o.), ATROP 10 = Atropina 10 mg/kg (i.p.), FAR 12,5 = *trans,trans*-farnesol 12,5 mg/kg (v.o.).

Os tremores induzidos pela administração de oxotremorina são bloqueados pela atropina (COWARD; DOGGETT; SAYERS, 1977) e mediados, principalmente, pela estimulação central do sistema colinérgico (BEBBINGTON; BRIMBELCOMBE; SHAKESHAF, 1996). Esta droga é muito utilizada na investigação funções envolvidas na neurotransmissão muscarínica (OLIVEIRA, 2010). Os efeitos protetores contra as convulsões induzidas pela pilocarpina, somados a uma redução na intensidade dos tremores induzidos pela oxotremorina nos animais tratados com *trans,trans*-farnesol, sugerem uma modulação do sistema colinérgico muscarínico por esta substância, possivelmente por atuar promovendo a ativação de receptores muscarínicos do tipo M1.

5.3.3.2. Participação do sistema monoaminérgico – Dosagem dos níveis de monoaminas

As monoaminas – serotonina, dopamina, noradrenalina, histamina e melatonina – são os principais neurotransmissores e neuromoduladores do sistema nervoso central (STRAC et al., 2016). Estudos têm evidenciado que o sistema de neurotransmissão monoaminérgica desempenha um importante papel na fisiopatologia da epilepsia (KOBAYASHI; MORI, 1977; KURIAN et al., 2011) e no controle das crises epiléticas (BAGDY et al., 2007; BHOWMIK et al., 2012; BOZZI; BORRELLI, 2013; BRIGO; IGWE, 2016; GIORGI et al., 2004; GUIARD; DI GIOVANNI, 2015; TCHEKALAROVA et al., 2015).

A participação do sistema monoaminérgico como possível mecanismo responsável pela neuroproteção promovida pelo *trans,trans*-farnesol foi investigada através de

ensaios neuroquímicos com o uso do método de CLAE, o qual permitiu com que fossem realizada a dosagem dos níveis de monoaminas no corpo estriado dos camundongos. A região estriada tem sido descrita como sendo a principal área cerebral envolvida na propagação da atividade convulsiva induzida por pilocarpina (CIFELLI; GRACE, 2012; LENT, 2010; KINGSLEY, 2001).

A figura 34 mostra os resultados referentes ao efeito do *trans,trans*-farnesol (12,5 mg/kg) sob os níveis de monoaminas (norepinefrina – NE, dopamina – DA e serotonina – 5-HT) em camundongos submetidos ao estresse induzido por pilocarpina (350 mg/kg). Ao comparar o grupo controle com o grupo tratado com salina e estressado com pilocarpina (SL + PILO 350) observa-se que o estresse pela pilocarpina aumentou em 86,96% os níveis de NE ($p = 0,0079$) e reduziu em 65,96% os níveis de 5-HT ($p < 0,0001$). Quanto aos níveis de DA não houve diferença significativa entre o grupo controle e o grupo SL + PILO 350 ($p = 0,68$).

O tratamento com *trans,trans*-farnesol foi eficaz em reverter as alterações promovidas pela pilocarpina nos níveis de NE e 5-HT (redução de 43,90%, $p = 0,0118$ e aumento de 65,65%, $p = 0,0233$, respectivamente, figura 34). Referente aos níveis de DA observou-se uma diferença significativa ao comparar os animais tratados com *trans,trans*-farnesol tanto com o grupo controle como com o grupo SL + PILO 350 (aumento de 175,99% vs. CL, $p < 0,0001$ e aumento de 309,03% vs. SL + PILO 350, $p < 0,0001$, figura 34).

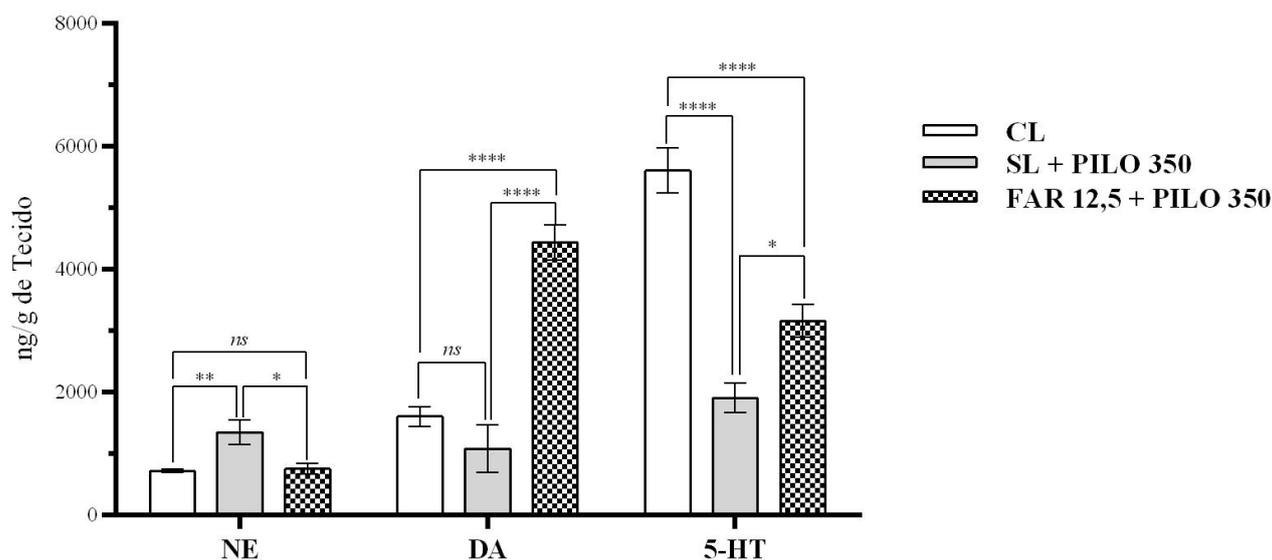


Figura 34. Efeito do *trans,trans*-farnesol sobre os níveis de monoaminas em camundongos submetidos a convulsão induzida por pilocarpina.

Os valores são expressos em média \pm E.P.M. (erro padrão da média). Todos os grupos tiveram um $n = 6$ animais. Os dados foram analisados pelo teste paramétrico ANOVA (análise de variância) de uma via seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Tukey*. O nível de significância adotado para rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 (5%). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * = $p < 0,05$, **** = $p \leq 0,0001$, ns = Não significativo, CL = Controle (salina - solução fisiológica 0,9%; 0,1 mL/10 g, v.o.), SL + PILO 350 = Salina + Pilocarpina 350 mg/kg (i.p.), FAR 12,5 + PILO 350 = *trans,trans*-farnesol 12,5 mg/kg (v.o.) + Pilocarpina 350 mg/kg (i.p.), NA = Noradrenalina, DA = Dopamina, 5-HT = Serotonina.

Tabela 28 - Análise descritiva e valor de prova (p) do efeito do *trans,trans*-farnesol sobre os níveis de monoaminas em camundongos submetidos a convulsão induzida por pilocarpina.

(Coluna Estatística p. 270, 272 e 274; *Analyze* p. 271, 273 e 275).

| Grupos (n=6) | Níveis de monoaminas (ng/g de tecido) | | | | | |
|----------------------------|--|--------|-------------------|---------|-------------------|---------|
| | NE | | DA | | 5-HT | |
| | $\bar{X} \pm S_x$ | p | $\bar{X} \pm S_x$ | P | $\bar{X} \pm S_x$ | P |
| CL | 723,7 \pm 30,17 | 0,0079 | 1608 \pm 165,00 | 0,4359 | 5612 \pm 368,30 | <0,0001 |
| SL + PILO 350 | 1353 \pm 195,70 | – | 1085 \pm 386,40 | – | 1910 \pm 242,20 | – |
| FAR 12,5 + PILO 350 | 759,6 \pm 90,28 | 0,0118 | 4438 \pm 283,20 | <0,0001 | 3164 \pm 262,90 | 0,0233 |

Os valores são expressos em média \pm E.P.M. (erro padrão da média). Todos os grupos tiveram um $n = 6$ animais. Os dados foram analisados pelo teste paramétrico ANOVA (análise de variância) de uma via seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Tukey*. O nível de significância adotado para rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 (5%). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos quando comparados ao grupo SL + PILO 350. NE = Norepinefrina/Noradrenalina, DA = Dopamina, 5-HT = Serotonina, \bar{X} = Média aritmética, S_x = Erro padrão da média, CL = Controle (salina - solução fisiológica 0,9%; 0,1 mL/10 g, v.o.), FAR 12,5 + PILO 350 = *trans,trans*-farnesol 12,5 mg/kg (v.o.) + Pilocarpina 350 mg/kg (i.p.).

Estudos experimentais e clínicos têm demonstrado que mudanças significativas no níveis de monoaminas em áreas cerebrais podem estar envolvidas na epilepsia do lobo temporal (CAVALHEIRO et al., 1994; FREITAS et al., 2003; FREITAS et al., 2006; NAFFAH-MAZZACORATTI et al., 1996; SZYNDLER et al., 2010).

Já foi demonstrado que o modelo agudo de epilepsia induzida por pilocarpina promove, no corpo estriado de roedores, uma redução nos níveis extracelulares de monoaminas (FREITAS; VIANA; FONTELES, 2003; NASCIMENTO et al., 2005; TARIQ et al., 2008), dentre elas a serotonina (FREITAS; VIANA; FONTELES, 2003). O que corrobora com os nossos resultados, visto que os animais que receberam o tratamento com salina e que foram submetidos ao estresse por pilocarpina apresentaram uma redução nos níveis de serotonina no corpo estriado, sendo esta redução revertida pelo tratamento com *trans,trans*-farnesol (12,5 mg/kg, v.o.).

Desde o final da década de 50 que tem sido discutida a participação do sistema serotoninérgico nos processos convulsivos e epiléticos (GUIARD; GIOVANNI, 2015). Modelos genéticos e químicos de epilepsia também demonstraram que a serotonina é um importante mediador do processo convulsivo, visto que em animais que apresentavam um inibição da síntese ou liberação de 5-HT tinham uma potencialização das crises epiléticas (STRAC et al., 2016). Clinckers e colaboradores (2004) demonstraram que 5-HT apresenta efeito anticonvulsivante nas crises induzidas por pilocarpina, sendo que esse efeito é mediado pela estimulação hipocampal de receptores serotoninérgico do tipo 5-HT_{1A} (autoreceptor inibitório da serotonina). Já tem sido relatado que fármacos que inibem seletivamente a recaptação da 5-HT são anticonvulsivantes eficazes em modelos de convulsões genéticas induzidas em camundongos e em alguns tipos de epilepsia em humanos, o que sustenta a hipótese de que níveis aumentados de 5-HT podem impedir os estímulos responsáveis pela atividade epilética (STRAC et al., 2016).

Além de reduzir os níveis de 5-HT, observou-se que o tratamento com *trans,trans*-farnesol foi eficaz em reduzir os níveis aumentados de NA quando comparamos com os animais estressados com pilocarpina. Esta redução nos níveis de NA pode ser decorrente do redução nos níveis plasmáticos de cortisol promovidos pelo *trans,trans*-farnesol (SHAHNOURI; TABARI; ARAGHI, 2016), o qual consequentemente levaria a uma menor estimulação do sistema adrenérgico reduzindo, assim, a indução na síntese e liberação de NA. Quanto aos efeitos da NA nos processos de ictogênese e epileptogênese, observa-se que na literatura têm-se estudos com evidências conflitantes; enquanto estudos defendem que a NA apresentam efeito anticonvulsivante (AHERN et al., 2006; JOBE; BROWNING, 2005;

KAMINSKI et al., 2005; SZOT et al., 1999, 2004; WEINSHENKER et al., 2001) outros afirmam que esta substância atua como agente pró-convulsivo (FITZGERALD et al., 2010). Numa revisão realizada por Strac e colaboradores (2016), os autores chegaram a conclusão de que as hipóteses anticonvulsivantes e pró-convulsivantes para NA estão diretamente relacionadas com a sua concentração, ou seja, a depender da concentração de NA o efeito observado pode ser anticonvulsivante ou pró-convulsivante. Dailey & Naritoku (1996), ao avaliar o efeito anticonvulsivante e pró-convulsivante de antidepressivos tricíclicos estimulantes (inibidores da recaptção de NA), observaram que os fármacos que apresentam este mecanismo de ação podem atuar como anticonvulsivantes em doses baixas e como pró-convulsivantes em doses elevadas.

No que se refere aos níveis de DA, os nossos dados demonstram não haver diferenças significativas ao comparar os animais que receberam somente salina com os animais estressados por pilocarpina (SL + PILO 350). No entanto outros estudos têm demonstrado que convulsões induzidas por pilocarpina promovem redução nos níveis estriais de DA (CRUZ et al., 2013; FREITAS et al., 2003; GERBER et al., 2001; MIYAKAWA et al., 2001; NASCIMENTO et al., 2005; TARIQ et al., 2008).

No presente trabalho, os resultados obtidos revelaram níveis de DA estriais aumentados em camundongos tratados com *trans,trans*-farnesol que foram submetidos ao estresse por pilocarpina, apresentando diferenças estatisticamente significativas quando comparado tanto aos animais tratados somente com salina quanto com os animais que receberam salina e pilocarpina 350 (SL + PILO 350). Já foi demonstrado que DA apresenta eficácia em proteger ratos das convulsões induzidas por pilocarpina, e que este efeito é decorrente da interação da DA com receptores dopaminérgicos hipocâmpais do tipo D₂. Por outro lado, foi observado que, tanto em ratos quanto em camundongos, a ativação de receptores do tipo D₁ pela DA promove efeitos pró-convulsivantes (AL-TAJIR et al., 1990; CLINCKERS et al., 2004; STRAC et al., 2016; TURSKI et al., 1990).

A determinação dos níveis cerebrais de monoaminas são considerados excelentes marcadores da eficiência de drogas anticonvulsivantes (CLINCKERS et al., 2005). No nosso estudo investigou-se pela primeira vez o efeito do *trans,trans*-farnesol sobre os níveis extracelulares de monoaminas no corpo estriado de camundongos. Os resultados encontrados sugerem a participação deste sistema de neurotransmissão como um dos possíveis mecanismos responsáveis pela neuroproteção promovida pelo *trans,trans*-farnesol frente ao modelo de convulsão induzida por pilocarpina.

5.3.3.3. Participação do sistema antioxidante – Concentração de nitrito e substâncias reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARs)

Sabe-se que o estresse oxidativo está envolvido no processo fisiopatológico da neurodegeneração presente na epilepsia (MEHVARI et al., 2016). Estudos experimentais têm relacionado a epilepsia ao estresse oxidativo, porém não está bem definido ainda se o estresse oxidativo é uma causa ou consequência desta doença. O que tem sido amplamente reportado é que o aumento da produção de radicais livres pode desencadear processos convulsivos mais prolongados, resultando em disfunção mitocondrial na região hipocampal com consequente morte neuronal; a soma destes eventos é responsável, em parte, pelo subsequente processo de epileptogênese (ARMENTA et al., 2014). Além disso, o estresse oxidativo contribui com excitotoxicidade glutamatérgica, a qual promove alterações na expressão de genes pró-inflamatórios e neurodegeneração, devido a apoptose de células neuronais, o que compromete a plasticidade neuronal e pode causar depressão e agravar o quadro epiléptico (KANDRATAVICIUS et al., 2012; NUNES et al., 2013; RÉUS et al., 2015; SANTELLO, VOLTERRA, 2012).

A figura 35 mostra os resultados referentes ao efeito do *trans,trans*-farnesol (12,5 mg/kg) sobre a produção de nitrito e TBARs no hipocampo de camundongos submetidos ao estresse induzido por pilocarpina (350 mg/kg). Ao comparar o grupo controle com o grupo tratado com salina e estressado com pilocarpina (SL + PILO 350) observa-se que houve diferença significativa tanto na concentração do conteúdo de nitrito quanto para os níveis de TBARS, sendo observado que os animais tratados com SL + PILO 350 exibiram um aumento de 29,59% na produção de nitrito e 25,13% na produção de TBARS quando comparados ao grupo tratado apenas com salina ($p = 0,041$ e $p = 0,0185$, respectivamente, figura 35).

O tratamento com *trans,trans*-farnesol foi eficaz em reduzir a produção de nitrito e TBARS nos animais estressados com pilocarpina. Quando comparado com o grupo SL + PILO 350 observou-se que os animais tratados com *trans,trans*-farnesol exibiram uma redução de 22,46% nos níveis de nitrito e 17,31% nos níveis de TBARs ($p = 0,0449$ e $p = 0,0447$, respectivamente, figura 35).

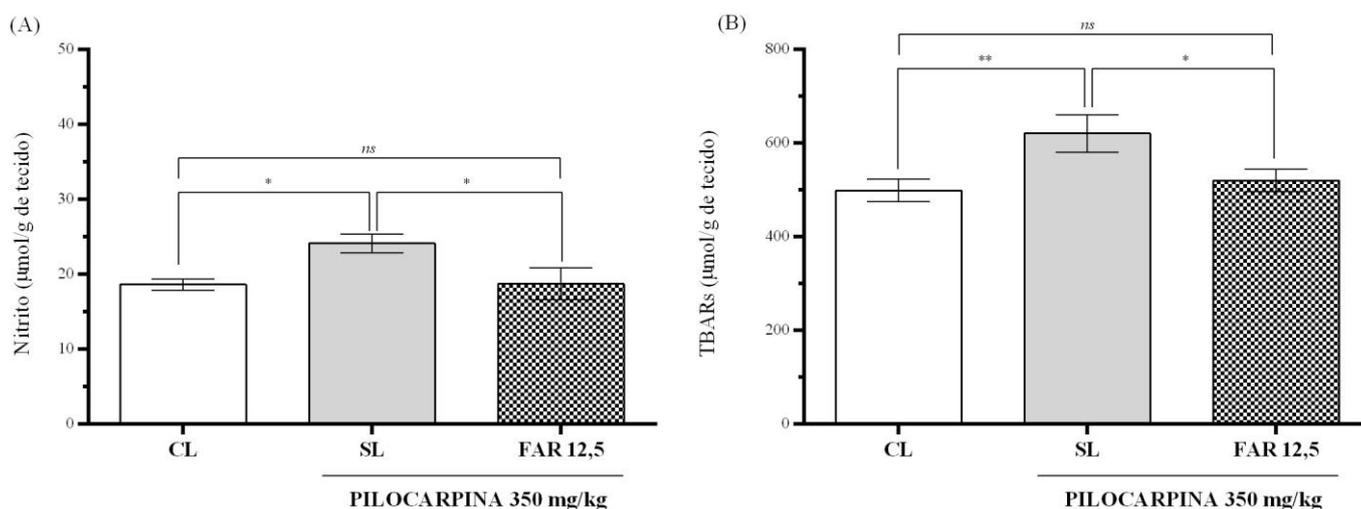


Figura 35. Efeito do *trans,trans*-farnesol sobre os marcadores de estresse oxidativo decorrente das convulsões induzidas por pilocarpina. (A) Determinação dos níveis de nitrito; (B) Determinação dos níveis de ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Os valores são expressos em média \pm S.E.M (standard error of the mean). Todos os grupos tiveram um $n = 8$ animais. Os dados foram analisados pelo teste paramétrico ANOVA de uma via seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Tukey*. O nível de significância adotado para rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 (5%). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. * = $p \leq 0,05$, ** = $p \leq 0,01$, CL = Controle (salina - solução fisiológica 0,9%; 0,1 mL/10 g, v.o.), SL = Salina (solução fisiológica 0,9%; 0,1 mL/10 g, v.o.), FAR 12,5 = *trans,trans*-farnesol 12,5 mg/kg (v.o.).

Tabela 29 – Análise descritiva e valor de prova (p) do efeito do *trans,trans*-farnesol sobre os marcadores de estresse oxidativo decorrente das convulsões induzidas por pilocarpina.

(Coluna Estatística p. 276 e 278; *Analyze* p. 277 e 279).

| Grupos (n=8) | Marcadores do estresse oxidativo (µmol/g de tecido) | | | |
|---------------------|---|--------|-------------------|--------|
| | TBARS | | Nitrito | |
| | $\bar{X} \pm S_x$ | p | $\bar{X} \pm S_x$ | p |
| CL | 498,6 \pm 23,47 | 0,0185 | 18,59 \pm 0,76 | 0,0410 |
| SL + PILO 350 | 623,9 \pm 39,65 | – | 24,09 \pm 1,25 | – |
| FAR 12,5 + PILO 350 | 515,9 \pm 22,68 | 0,0447 | 18,68 \pm 2,12 | 0,0449 |

Os valores são expressos em média \pm E.P.M. (erro padrão da média). Todos os grupos tiveram um $n = 8$ animais. Os dados foram analisados pelo teste paramétrico ANOVA (análise de variância) de uma via seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Tukey*. O nível de significância adotado para rejeição da hipótese de nulidade foi de 0,05 (5%). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos quando comparados ao grupo SL + PILO 350. TBARS = Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, \bar{X} = Média aritmética, S_x = Erro padrão da média, CL = Controle (salina - solução fisiológica 0,9%; 0,1 mL/10 g, v.o.), FAR 12,5 + PILO 350 = *trans,trans*-farnesol 12,5 mg/kg (v.o.) + Pilocarpina 350 mg/kg (i.p.).

A produção de radicais livres é um efeito comum em modelos de convulsão induzida por pilocarpina (NEJM et al., 2015). Durante as crises induzidas por pilocarpina o

metabolismo de óxido nítrico sofrem alterações que levam à um aumento na produção de seus metabólitos (GOMES et al., 2011c). No nosso estudo, foi observado que à indução da ictogênese promoveu um estresse oxidativo (TBARs e nitrito/nitrato) no hipocampo. O tratamento com *trans,trans*-farnesol foi eficaz em reverter a elevação nos níveis dos marcadores oxidativos promovidos pela pilocarpina, corroborando com outros estudos que investigaram o efeito antioxidante desta substância, o que sugere o envolvimento do sistema antioxidante como um dos possíveis mecanismos responsáveis pelo efeito neuroprotetor do *trans,trans*-farnesol no modelo de convulsão induzida por pilocarpina.

Na literatura há estudos que demonstram o potencial antioxidante para os isômeros do farnesol (JAHANGIR et al., 2005; JAHANGIR et al., 2006; JAHANGIR; SULTANA, 2008; KHAN; SULTANA, 2011; LATEEF et al., 2013; QAMAR et al., 2012; QAMAR; SULTANA, 2008; SANTHANASABAPATHY; SUDHANDIRAN, 2015; VINHOLES et al., 2014). Santhanasabapathy & Sudhandiran (2015) ao investigarem o efeito do *trans*-farnesol na neurodegeneração induzida por lipopolissacarídeos (LPS), através da modulação da cascata apoptótica intrínseca no córtex e hipocampo, observaram que o *trans*-farnesol (nas doses de 25, 50, 100, 150 e 200 mg/kg, v.o.) apresenta efeito neuroprotetor mostrando-se eficaz em atenuar as alterações degenerativas no córtex e hipocampo dos cérebros de camundongos. Os autores referem que este efeito é resultante da regulação da cascata apoptótica intrínseca, o qual protege os neurônios de danos oxidativos. Lateef e colaboradores (2013) afirmam que o efeito antioxidante do farnesol (IN) é resultante da redução nas atividades enzimáticas da xantina oxidase e peroxidação lipídica (enzimas responsáveis pela produção de radicais livres) após o tratamento com esta substância. Khan & Sultana (2011), ao investigar o efeito protetor do farnesol (IU) contra o estresse oxidativo induzidos por 1,2-dimetil-hidrazina (DMH), observou que o tratamento com o farnesol nas doses de 50 e 100 mg/kg (v.o.) promove uma melhora significativamente nos danos oxidativos induzidos por DMH devido ao aumento das atividades enzimáticas do superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione-S-transferase e quinona reductase; sugerindo que o efeito antioxidante do farnesol é resultante da indução da atividade enzimática das enzimas que fazem parte do sistema antioxidante.

CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

Com a realização da RS conclui-se que os isômeros do farnesol possuem diferentes propriedades farmacológicas e toxicológicas, permitindo seu uso como droga ativa ou coadjuvante. Observa-se que há uma predominância de estudos que investigaram os efeitos antimicrobianos e mecanismos de ação do farnesol frente a diferentes microrganismos (bactérias, fungos e protozoários). Dos artigos incluídos neste RS, uma minoria informou o tipo de isômero farnesol que foi utilizado o que se torna uma limitação importante para o desenvolvimento de futuros ensaios experimentais. Além disso, sabe-se que o tipo de isômero geométrico, fonte de isolamento e método de preparo do composto influenciam diretamente a atividade farmacológica e/ou toxicológica. Ressalta-se que foi observada presença de viés nos estudos pré-clínicos com animais não-humanos e clínicos, principalmente no que se refere a alocação dos grupos e cegamento. Não realizada a classificação dos riscos de viés nos estudos pré-clínicos *in vitro* porque não existe escala validade com esta finalidade.

A síntese crítico-analítica permitiu concluir que existe uma predominância de patentes com produtos que utilizam o farnesol na sua composição devido as propriedades antimicrobianas deste composto, o qual mostrou ser mais eficaz frente as cepas de bactérias Gram-positivas.

Com a realização do estudo de bioprospecção foi possível observar que os dados encontrados corroboram com os achados bibliográficos, demonstrando o potencial farmacológico do *trans,trans*-farnesol como agente neuroprotetor.

Os resultados obtidos no teste de toxicidade oral aguda revelaram que o *trans,trans*-farnesol, possivelmente, é isento de efeitos tóxico, uma vez que não foi observada nenhuma alteração nos parâmetros comportamentais investigas e que a análise macroscópica dos órgãos (cérebro, coração, pulmões, fígado, baço e rins) não foram identificadas lesões. Além disso a DL₅₀ foi estimada numa dose ≥ 5.000 mg/kg.

No estudo dos parâmetros comportamentais, o tratamento com *trans,trans*-farnesol não promoveu efeito ansiolítico no teste do labirinto em cruz elevado. Nos testes do campo aberto e do nado forçado observou-se que na menor dose investigada esta substância promove efeito típico de substâncias sedativas e/ou depressores e na maior dose investigada apresenta um efeito típico de substâncias antidepressivas, sendo que este último efeito foi mais evidente no teste do nado forçado. Apesar de apresentar efeito do tipo depressor na menor dose, o tratamento com *trans,trans*-farnesol não compromete o sistema motor dos animais, visto que no teste do *Rota-rod* as doses investigadas não provoveram alterações no comportamento dos animais.

Na investigação do efeito neuroprotetor em animais submetidos à convulsão induzida por pilocarpina observou-se que o *trans,trans*-farnesol não se mostrou promissor como agente anticonvulsivante; entretanto, apresenta um significativo efeito neuroprotetor, possivelmente por atuar nos sistemas de neurotransmissão colinérgica e monoaminérgica e devido o seu efeito antioxidante.

Levando-se em conta os resultados obtidos neste estudo fica evidente a importância de maiores aprofundamentos na compreensão dos mecanismos de ação pelo qual o *trans,trans*-farnesol promove seus efeitos neuroprotetores, visto que esta substância demonstrou ser capaz de inibir os efeitos deletérios do desbalanceamento dos fatores envolvidos no desenvolvimento da neurotoxicidade promovida pela ictogênese, conferindo-lhe uma destacada relevância dentre as potenciais substâncias a serem desenvolvidas para possivelmente atuar como neuroprotetores na terapêutica de crises convulsivas.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ABDEL-RHMAN, S. H.; EL-MAHDY, A. M.; EL-MOWAFY M. Effect of Tyrosol and Farnesol on Virulence and Antibiotic Resistance of Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biomed Res Int*. 2015;456-63.
- ABDEL-RHMAN, S. H.; EL-MAHDY, A. M.; EL-MOWAFY, M. Effect of Tyrosol and Farnesol on Virulence and Antibiotic Resistance of Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *BioMed Research International*, v. 2015, p. 456-63, 2015.
- ABDUL-RIDHA, A.; LANE, J. R.; MISTRY, S. N.; LÓPEZ, L.; SEXTON, P. M.; SCAMMELLS, P. J.; CHRISTOPOULOS A. CANALS, M. Mechanistic insights into allosteric structurefunction relationships at the M1 muscarinic acetylcholine receptor. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n.48, p. 33701-11, 2014.
- ADANY, I.; YAZLOVITSKAYA, E. M.; HAUG, J. S.; VOZIYANA, P. A.; MELNYKOVYCH, G. Differences in sensitivity to farnesol toxicity between neoplastically- and non-neoplastically-derived cells in culture. **Cancer Letters**, v. 79, p. 175-9, 1994.
- AGGARWAL, B. B.; SETHI, G.; AHN, K. S.; SANDUR, S. K.; PANDEY, M. K.; KUNNUMAKKARA, A. B.; SUNG, B.; ICHIKAWA, H. Targeting signal-transducer-and-activator-of-transcription-3 for prevention and therapy of cancer: modern target but ancient solution. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1091, p. 151–69, 2006.
- AHERN, T. H.; JAVORS, M. A.; EAGLES, D. A.; MARTILLOTTI, J.; MITCHELL, H. A.; LILES, L. C.; WEINSHENKER, D. The effects of chronic norepinephrine transporter inactivation on seizure susceptibility in mice. **Neuropsychopharmacology**, v. 31, p. 730–8, 2006.
- AHN, K. S.; SETHI, G.; SUNG, B.; GOEL, A.; RALHAN, R.; AGGARWAL, B. B. Guggulsterone, a farnesoid X receptor antagonist, inhibits constitutive and inducible STAT3 activation through induction of a protein tyrosine phosphatase SHP-1. **Cancer Research**, v. 68, p. 4406–15, 2008.
- AKIYAMA, H.; OONO, T.; HUH, W. K.; YAMASAKI, O.; OGAWA, S.; KATSUYAMA, M.; ICHIKAWA, H.; IWATSUKI, K. Actions of Farnesol and Xiloto against *Staphylococcus aureus*. **Chemotherapy**, v. 8558, p. 122–8, 2002.
- AKIYAMA, T.; OTSUBO, H. Antiepileptic drugs in North America. **Brain Nerve**, v. 62, n. 5, p. 519-26, 2010.
- ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**, 1ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, 357p.
- ALMEIDA, R. N.; AGRA, M. F.; MAIOR, F. N. S.; SOUSA, T. P. Essential Oils and Their Constituents: Anticonvulsant Activity. **Molecules**, v. 16, p. 2726-42, 2011.
- ALMEIDA, R. N.; MOTTA, S. C.; LEITE, J. R. Óleos essenciais com propriedades anticonvulsivantes. **Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromat.**, v. 2, p. 2-6, 2003.
- AL-TAJIR, G.; CHANDLER, C. J.; STARR, B. S.; STARR, M. S. Opposite effects of stimulation of D1 and D2 dopamine receptors on the expression of motor seizures in mouse and rat. **Neuropharmacology**, v. 29, n. 7, p. 657-61, 1990.

AL-TAJIR, G.; STARR, B. S.; STARR, M. S. Proconvulsant Effect of SKF 38393 Mediated by Nigral D1 Receptors. **European Journal of Pharmacology**, v. 162, p. 245-51, 1990.

ANDERSEN, P.; MORRIS, R.; AMARAL, D.; BLISS, T.; O'KEEFE, J. **Historical Perspective: Proposed Functions, Biological Characteristics, and Neurobiological Models of the Hippocampus**. In ANDERSEN, P.; MORRIS, R.; AMARAL, D.; BLISS, T.; O'KEEFE, J. editors. *The hippocampus book*. Oxford University Press; 2006. p. 9-31.

ANDRÉ, V.; MARESCAUX, C.; NEHLIG, A.; FRITSCHY, J. M. Alterations of hippocampal GABAergic system contribute to development of spontaneous recurrent seizures in the rat lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. **Hippocampus**, v. 11, n. 4, p.452-68. 2001.

APPLEGATE, C. D.; TECOTT, L. H. Global increases in seizure susceptibility in mice lacking 5-HT_{2C} receptors: a behavioral analysis. *Experimental Neurology*, v. 154, p. 522–30, 1998.

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Animal Behaviour**, v. 21, n. 2, p. 205-235, 1973.

ARMENTA, M. M.; NAVA-RUÍZ, C.; JUÁREZ-REBOLLAR, D.; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, E.; GÓMEZ, P. Y. Oxidative Stress Associated with Neuronal Apoptosis in Experimental Models of Epilepsy. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1-12, 2014.

ARMENTA, M. M.; NAVA-RUÍZ, C.; JUÁREZ-REBOLLAR, D.; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, E.; GÓMEZ P. Y. Oxidative Stress Associated with Neuronal Apoptosis in Experimental Models of Epilepsy. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1-12, 2014.

ARORA, R. B.; SHARMA, P. L.; KAPILA K. Antiarrhythmic and anticonvulsant activity of jatamansone. **Indian Journal of Medical Research**, v. 46, p. 782-91, 1958.

ASADA, H.; KAWAMURA, Y.; MARUYAMA, K.; KUME, H.; DING, R.; JI, F. Y.; KANBARA, N.; KUZUME, H.; SANBO, M.; YAGI, T.; OBATA, K. Mice lacking the 65 kDa isoform of glutamic acid decarboxylase (GAD65) maintain normal levels of GAD67 and GABA in their brains but are susceptible to seizures. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 229, n. 3, p. 891–895, 1996.

ASSEM-HILGER, E.; LANZENBERGER, R.; SAVLI, M.; WADSAK, W.; MITTERHAUSER, M.; MIEN, L. K.; STÖGMANN, E.; BAUMGARTNER, C.; KLETTER, K.; ASENBAUM, S. Central serotonin 1A receptor binding in temporal lobe epilepsy: a [carbonyl-(11)C]WAY-100635 PET study. **Epilepsy & Behavior**, v. 19, p. 467–73, 2010.

ATANASOVA-SHOPOVA, S.; RUSINOV, K.S.; BOICHEVA, I. Central neurotropic effects of lavender essential oil. **Bulgarska Akademiya na Naukite**, v. 15, p. 149-56, 1973.

ATTAL, N. Chronic neuropathic pain: mechanisms and treatment. **Clinical Journal of Pain**, v. 16, p. 118-30, 2000.

AUDENAERT, D.; SCHWARTZ, E.; CLAEYS, K. G.; CLAES, L.; DEPREZ, L.; SULS, A.; VAN DYCK, T.; LAGAE, L.; VAN BROECKHOVEN, C.; MACDONALD, R. L.; DE JONGHE, P. A novel GABRG2 mutation associated with febrile seizures. **Neurology**, v. 67, n. 4, p. 687–90, 2006.

AUVIN, S.; DUPUIS, N. Outcome of status epilepticus. What do we learn from animal data? **Epileptic Disorders**, v. 16, n. s1, p. S37-S43, 2014.

AU-YEUNG, K. K. W.; LIU, P. L.; CHAN, C.; WU, W. Y.; LEE, S. S. T.; KO, J. K. S. Herbal isoprenols induce apoptosis in human colon cancer cells through transcriptional activation of PPARgamma. **Cancer Investigation**, v. 26, p. 708–17, 2008.

AUZMENDI, J.; GONZALEZ, N.; GIRARDI, E. The NMDAR subunit NR2B expression is modified in hippocampus after repetitive seizures. **Neurochemical Research**, v. 34, p. 819–826, 2009.

AZANCHI, T.; SHAFAROODI, H.; ASGARPANAH, J. Anticonvulsant Activity of *Citrus aurantium* Blossom Essential Oil (Neroli): Involvement of the GABAergic System. **Natural Product Communications**, v. 9, n. 11, 2014.

BAGDY, G.; KECSKEMETI, V.; RIBA, P.; JAKUS, R. Serotonin and epilepsy. **Journal of Neurochemistry**, v. 100, p. 857–73, 2007.

BAHI, A.; MANSOURI, S.; MEMARI, E.; AMERI, M.; NURULAIN, S. M.; OJHA, S. β -caryophyllene, a Cb2 receptor agonist produces multiple behavioral changes relevant to anxiety and depression in mice. **Physiology Behavior**, n. 135, p. 119-24, 2014.

BANERJEE, R.; VITVITSKY, V.; GARG, S. K. The undertow of sulfur metabolism on glutamatergic neurotransmission. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 33, p. 413–9, 2008.

BARKER-HALISKI, M.; WHITE, H. S. Glutamatergic Mechanisms Associated with Seizures and Epilepsy. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 5, n. 8, 2015.

BARONE, P.; PALMA, V.; DEBARTOLOMEIS, A.; TEDESCHI, E.; MUSCETTOLA, G.; CAMPANELLA, G. Dopamine D1 e D2 receptors mediate opposite functions in seizures induced by lithium-pilocarpine. **European Journal of Pharmacology**, v. 195, p. 157-62, 1991.

BARRETO, B. C. S.; MASSABKI, P. S. Efeitos adversos no sistema nervoso central dos fármacos antiepilépticos em isodos. **Revista Brasileira de Clínica Médica**, v. 8, n. 4, p. 344-9, 2010.

BARTOLINI, E.; BELL, G. S.; SANDER, J. W. Multicultural challenges in epilepsy. **Epilepsy & Behavior**, v. 20, p. 428-34, 2011.

BASKIND, R.; BIRBECK, G. Epilepsy Care in Zambia: A Study of Traditional Healers. **Epilepsia**, v. 46, n. 7, p. 1121–6, 2005.

BAULAC, S.; HUBERFELD, G.; GOURFINKEL-NA, I.; MITROPOULOU, G.; BERANGER, A.; PRUD'HOMME, J. F.; BAULAC, M.; BRICE, A.; BRUZZONE, R.; LEGUERN, E. First genetic evidence of GABAA receptor dysfunction in epilepsy: a mutation in the γ 2-subunit gene. **Nature Genetics**, v. 28, n. 1, p. 46–8, 2001.

BAZZANO, F. C. O. **Aspectos éticos da pesquisa científica**, p. 149-180. In: SILVA, J.V. et al. *Bioética: meio ambiente, saúde e pesquisa*. 1ª Ed. São Paulo: Iátria, 2006.

BEAR, D. M. Temporal lobe epilepsy – a syndrome of sensory-limbic hyperconnection. **Cortex**, v. 15, p. 357–84, 1979.

BEAR, D. M.; FEDIO, P. Quantitative analysis of interictal behavior in temporal lobe epilepsy. **Archives of Neurology**, v. 34, p. 454–67, 1977.

BEBARTA, V.; LUYTEN, D.; HEARD, K. Emergency medicine animal research: Does use of randomization and blinding affect the results? **Academic Emergency Medicine**, v. 10, p. 684–7, 2003.

BEBBINGTON, A.; BRIMBELCOMBE, R. W.; SHAKESHAFT, D. The central and peripheral activity of acetylenic amines related to oxotremorine. **British Journal of Pharmacology**, v. 26, p. 56-67, 1966.

BEBBINGTON, A.; BRIMBELCOMBE, R.W.; SHAKESHAFT, D. The central and peripheral activity of acetylenic amines related to oxotremorine. **British Journal of Pharmacology**, v. 26, p. 56–67, 1996.

BERNEDO PAREDES, V. E.; BUCHHOLZ, H. G.; GARTENSCHLAGER, M.; BREIMHORST, M.; SCHRECKENBERGER, M.; WERHAHN, K. J. Reduced D2/D3 receptor binding of extrastriatal and striatal regions in temporal lobe epilepsy. **PloS one**, v. 10, 2015.

BHATTACHARYYA, S.; AGRAWAL, A.; KNABE, C.; DUCHEYNE, P. Sol-gel silica controlled release thin films for the inhibition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Biomaterials**, v. 35, p. 509–17, 2014.

BHOWMIK, M.; KHANAM, R.; VOHORA, D. Histamine H3 receptor antagonists in relation to epilepsy and neurodegeneration: a systemic consideration of recent progress and perspectives. **British Journal of Pharmacology**, v. 167, p. 1398–414, 2012.

BISSETT, D. L. Método para regularizar a condição do tecido ceratinoso em mamíferos. **PI 0009892-2 A2**, 2000.

BLISS, T. V. P.; COLLINGRIDGE, G. L. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. **Nature**, v. 361, p. 31-39, 1993.

BOEHM II, S. L.; SCHAFER, G. L.; PHILLIPS, T. J.; BROWMAN, K. E.; CRABBE, J. C. Sensitivity to ethanol-induced motor incoordination in 5-HT (1B) receptor null mutant mice is task-dependent: implications for behavioral assessment of genetically altered mice. **Behavioral Neuroscience**, v. 114, n. 2, p. 401–9, 2000.

BONNER, T. I.; BUCKLEY, N. J.; YOUNG, A. C.; BRANN, M. R. Identification of a family of muscarinic acetylcholine receptor genes. **Science**, v. 237, p. 527-532, 1987.

BORGES, K. B.; BAUTISTA, H. B.; GUILERA, S. Diabetes-utilização de plantas medicinais como forma opcional de tratamento. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 5, n. 2, p. 12-20, 2008.

BOZZI, Y.; BORRELLI, E. The role of dopamine signaling in epileptogenesis. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 7, 2013.

BOZZI, Y.; DUNLEAVY, M.; HENSHALL, D. C. Cell signaling underlying epileptic behavior. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 5, 2011.

BRASIL, **Decreto nº 24.645 de 10 julho de 1934.**

BRASIL, **Lei Federal Nº 11.794 de 2008** sobre Princípios Éticos da Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA.

BRASIL, **Lei n.º. 6638 de 8 de maio de 1979.**

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 1.319, de 25 novembro de 2013.** Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Epilepsia. 2013. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2013/prt1319_25_11_2013.html>. Acesso em: 30 de setembro de 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. **Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistemática e metanálise de ensaios clínicos randomizados/** Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Ciência e Tecnologia. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2012, 92 p.

BRIGGS, S. W.; GALANOPOULOU, A. S. Altered GABA Signaling in Early Life Epilepsies. **Neural Plasticity**, v. 2011, p. 1-16, 2011.

BRIGO, F.; IGWE, S. C. Melatonin as add-on treatment for epilepsy. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 3, 2016.

BRILHANTE, R. S. N.; DE LIMA, R. A. C.; CAETANO, E. P.; LEITE, J. J. G.; CASTELO-BRANCO, D. S. C. M.; RIBEIRO, J. F.; BANDEIRA, T. D. E. J.; CORDEIRO, R. D. E. A.; MONTEIRO, A. J.; SIDRIM, J. J.; ROCHA, M. F. Effect of farnesol on growth, ergosterol biosynthesis, and cell permeability in *Coccidioides posadasii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, p. 2167–70, 2013.

BRILHANTE, R. S. N.; DE LIMA, R. A. C.; DE FARIAS MARQUES, F. J.; SILVA, N. F.; CAETANO, É. P.; DE CASTELO-BRANCO, D. S. C. M.; BANDEIRA, T. J.; MOREIRA, J. L.; CORDEIRO, R. A.; MONTEIRO, A. J.; PIRES DE CAMARGO, Z.; SIDRIM, J. J.; ROCHA, M. F. *Histoplasma capsulatum* in planktonic and biofilm forms: In vitro susceptibility to amphotericin B, itraconazole and farnesol. **Journal of Medical Microbiology**, v. 64, p. 394–9, 2015.

BROOKS-KAYAL, A. R.; SHUMATE, M. D.; JIN, H.; RIKHTER, T. Y.; COULTER, D. A. Selective changes in single cell GABA (A) receptor subunit expression and function in temporal lobe epilepsy. **Nature Medicine**, v. 4, n. 10, p. 1166-72, 1998.

BROWNE, R.; HOLMES, G. L. **Manual de Epilepsia**. Spanish Ed. New York: LWW, 2011. 366p.

BRUM, L. F. S.; ELISABETSKY, E.; SOUZA, D. Effects of linalool on [3H] MK801 and [3H] muscimol binding in mouse cortical membranes. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 422-5, 2001.

BRUNEAU, E. G.; AKAABOUNE, M. Running to stand still: ionotropic receptor dynamics at central and peripheral synapses. **Molecular Neurobiology**, v. 34, p. 137-51, 2006.

BUCHLI, L. Radicais livres e antioxidantes. **Cosmetics & Toiletries**;v. 14, p. 54-7, 2002.

BUETTNER, R.; MORA, L. B.; JOVE, R. Activated STAT signaling in human tumors provides novel molecular targets for therapeutic intervention. **Clinical Cancer Research**, v. 8, p. 945–54, 2002.

BUTTERFIELD, D.; ALLAN, P.; CHAVA, B. The Glutamatergic System and Alzheimer's Disease. **CNS Drugs**, v. 17, n. 9, p. 641-52, 2003.

CALABRESI, P.; CENTONZE, D.; BERNARDI G. Electrophysiology of dopamine in normal and denervated striatal neurons. **Trends in Neurosciences**; v. 23, p. S57-S63, 2000.

CARACI, F.; NICOLETTI, F.; COPANI, A. Metabotropic glutamate receptors: the potential for therapeutic applications in Alzheimer's disease. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 38, p. 1-7, 2018.

CARDOSO, T. A. O. **Considerações sobre a biossegurança em arquitetura de biotérios**. Biol. Centr. Panam. Febre Aftosa, p. 64-7:3-17, 1998 – 2001.

CARLINI, E. A.; BURGOS, V. *Screening* farmacológico de ansiolíticos: metodologia laboratorial e comparação entre o diazepam e o clorobenzapam. **Revista da Associação Brasileira de Psiquiatria**, v. 1, p. 25-31, 1979.

CASTELO-BRANCO, D. S. C. M.; RIELLO, G. B.; VASCONCELOS, D. C.; GUEDES, G. M. M.; SERPA, R.; BANDEIRA, T. J. P. G.; MONTEIRO, A. J.; CORDEIRO, R. A.; ROCHA, M. F.; SIDRIM, J. J. Farnesol increases the susceptibility of *Burkholderia pseudomallei* biofilm to antimicrobials used to treat melioidosis. **Journal of Applied Microbiology**, v. 120, p. 600–6, 2016.

CAVALHEIRO, E. A.; LEITE, J. P.; BORTOLOTTI, Z. A.; TURSKI, W. A.; IKONOMIDOU, C.; TURSKI, L. Long-term effects of pilocarpine in rats: structural damage of the brain triggers kindling and spontaneous recurrent seizures. **Epilepsia**, v. 32, p. 778-82, 1991.

CAVANNA, A. E.; CAVANNA, S.; CAVANNA, A. Epileptic seizures and spirit possession in Haitian culture: report of four cases and review of the literature. **Epilepsy & Behavior**, v. 19, p. 89-91, 2010.

CENTONZE, D.; GUBELLINI, P.; PICCONI, B.; CALABRESI, P.; GIACOMINI, P.; BERNARDI, G. Unilateral dopamine denervation blocks corticostriatal LTP. **Journal of Neurophysiology**, v. 82, p. 3575-9, 1999.

CERCA, N.; GOMES, F.; PEREIRA, S.; TEIXEIRA, P.; OLIVEIRA, R. Confocal laser scanning microscopy analysis of *S. epidermidis* biofilms exposed to farnesol, vancomycin and rifampicin. **BMC Research Notes**, v. 5, 2012.

CHANG, B.; XU, J. Deep brain stimulation for refractory temporal lobe epilepsy: a systematic review and meta-analysis with an emphasis on alleviation of seizure frequency outcome. **Child's Nervous System**, v. 34, n. 2, p. 321-27, 2018.

CHAUDHARY, S. C.; ALAM, M. S.; SIDDIQUI, M. S.; ATHAR, M. Chemopreventive effect of farnesol on DMBA/TPA-induced skin tumorigenesis: Involvement of inflammation, Ras-ERK pathway and apoptosis. **Life Science**, v. 85, p. 196–205, 2000.

CHAVES, E. M. C. **Ação ansiolítica e anticonvulsivante da 6-[(E)- esteril-piran-2-ona] de *Aniba panurensis* em camundongos: possível mecanismo de ação**. 2012. 181f. Tese (Doutorado em Farmacologia). Universidade Federal do Ceará, 2012.

CHE, F. Y.; WEI, Y. Y.; HENG, X. Y.; FU, Q. X.; JIANG, J. Z. Association between serotonin transporter gene polymorphisms and non-lesional temporal lobe epilepsy in a Chinese Han population. **Neural Regeneration Research**, v. 5, p. 1270–3, 2010.

CHEN, G.; ENSOR, C. R.; BOHNER, B. A facilitation action of reserpine on the central nervous system. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 86, p. 507–10, 1954.

CHIOU, L. C.; LING, J. Y.; CHANG, C. C. Chinese herb constituent beta-eudesmol alleviated the electroshock seizures in mice and electrographic seizures in rat hippocampal slices. **Neuroscience Letters**, v. 231, n. 3, p.171-4, 1997.

CHIU, C.; REID, C. A.; TAN, H. O.; DAVIES, P. J.; SINGLE, F. N.; KOUKOULAS, I.; BERKOVIC, S. F.; TAN, S. S.; SPRENGEL, R.; JONES, M. V.; PETROU, S. Developmental impact of a familial GABAA receptor epilepsy mutation. **Annals of Neurology**, v. 64, n. 3, p. 284–93, 2008.

CHUANG, Y. C. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in seizure-induced neuronal cell death. **Acta Neurol Taiwan**, v. 19, n. 1, p. 3-15, 2010.

CIFELLI, P.; GRACE, A. A. Pilocarpine-induced temporal lobe epilepsy in the rat is associated with increased dopamine neuron activity. **The International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 15, n. 7, p. 957-64, 2012.

CLINCKERS, R.; SMOLDERS, I.; MEURS, A.; EBINGER, G.; MiCHOTTE, Y. Anticonvulsant action of hippocampal dopamine and serotonin is independently mediated by D and 5-HT receptors. **Journal of Neurochemistry**, v. 89, n. 4, p. 834-43, 2004.

COELHO DE SOUZA, G. P.; ELISABETSKY, E.; NUNES, D. S.; RABELO, S. K. L.; SILVA, M. N. Anticonvulsant properties of γ -decanolactone in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 58, p. 175-81, 1997.

COMPAN, V.; ZHOU, M.; GRAILHE, R.; GAZZARA, R. A.; MARTIN, R.; GINGRICH, J.; DUMUIS, A.; BRUNNER, D.; BOCKAERT, J.; HEN, R. Attenuated response to stress and novelty and hypersensitivity to seizures in 5-HT₄ receptor knock-out mice. **Journal of Neuroscience**, v. 24, p. 412–19, 2004.

CORDEIRO, R. A.; NOGUEIRA, G. C.; BRILHANTE, R. S. N.; TEIXEIRA, C. E. C.; MOURÃO, C. I.; CASTELO-BRANCO, D. S. C. M.; PAIVA, M. A.; RIBEIRO, J. F.; MONTEIRO, A. J.; SIDRIM, J. J.; ROCHA, M. F. Farnesol inhibits in vitro growth of the *Cryptococcus neoformans* species complex with no significant changes in virulence-related exoenzymes. **Veterinary Microbiology**, v. 159, p. 375–80, 2012.

COSSETTE, P.; LIU, L.; BRISEBOIS, K.; DONG, H.; LORTIE, A.; VANASSE, M.; SAINT-HILAIRE, J. M.; CARMANT, L.; VERNER, A.; LU, W. Y.; WANG, Y. T.; ROULEAU, G. A. Mutation of GABRA1 in an autosomal dominant form of juvenile myoclonic epilepsy. **Nature Genetics**, v. 31, n. 2, p. 184–9, 2002.

COSTA, A. R.; CORRÊA, P. C.; PARTATA, A. K. Epilepsia e os fármacos mais utilizados no seu tratamento. **Revista Científica do ITPAC**, v. 5, n. 3, p. 1-6, 2012.

COSTA-LOTUFO, L. V.; LUCENA, D. F. D.; ANDRADE-NETO, M.; BEZERRA, J. N. S.; LEAL, L. K. A. M.; SOUSA, F. C. F. D.; VIANA, G. S. D. B. Analgesic, antiinflammatory

and central depressor effects of the hydroalcoholic extract and fractions from *Aeolanthus suaveolens*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 6, p. 821-824, 2004.

COSTA-LOTUFO, L.V.; FONTELES, M.M.F.; LIMA, I.S.P.; OLIVEIRA, A.A.; NASCIMENTO, V.S.; BRUIN, V.M.S.; VIANA, G.S.B. – Attenuating Effects of Melatonin on Pilocarpine-induced Seizures in Rats. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v. 1, n. 31, p. 521-9, 2002.

COWARD, D. M.; DOGGETT, N. S.; SAYERS, A. C. The pharmacology of Ncarbamoyl-2-(2,6-dichlorophenyl) acetamidine hydrochloride (LON954) a new tremorogenic agent. **Drug Research**, v. 27, p. 2326–32, 1977.

CRUZ, G. M.; FELIPE, C. F.; SCORZA, F. A.; DA COSTA, M. A.; TAVARES, A. F.; MENEZES, M. L.; DE ANDRADE, G. M.; LEAL, L. K.; BRITO, G. A.; DA GRAÇA NAFFAH-MAZZACORATTI, M.; CAVALHEIRO, E. A.; DE BARROS VIANA, G. S. Piperine decreases pilocarpine-induced convulsions by GABAergic mechanisms. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 104, p. 144-53, 2013.

CRYAN, J. F.; HOLMES, A. The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 4, p. 775-790, 2005.

CURIA, G., LONGO, D., BIAGINI, G., JONES, R.S., AVOLI, M. The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. **Journal of Neuroscience Methods**, v.172, n.2, p. 143-57, 2008.

CURIA, G.; LUCCHI, C.; VINET, J.; GUALTIERI, F.; MARINELLI, C.; TORSELLO, A.; COSTANTINO, L. Pathophysigenesis of Mesial Temporal Lobe Epilepsy: Is Prevention of Damage Antiepileptogenic? **Current Medicinal Chemistry**, v. 21, p. 663–688, 2014.

DA-CRUZ, G. M. P. **ESTUDO DOS MECANISMOS NEUROPROTETORES DA PIPERINA NAS CONVULSÕES INDUZIDAS PELA PILOCARPINA EM CAMUNDONGOS**. Tese (doutorado em Neurologia/Neurociência). Universidade Federal de São Paulo, 2012.

DAILEY, J. W.; NARITOKU, D. K. Antidepressants and seizures: clinical anecdotes overshadow neuroscience. **Biochemical Pharmacology**, v. 52, p. 1323–9, 1996.

DALLMEIER, K.; CARLINI, E. A. Anesthetic, hypothermic, myorelaxant and anticonvulsant effects of synthetic eugenol derivatives and natural analogues. **Pharmacology**, v. 22, p. 113-27, 1981.

DANOBER, L.; DERANSART, C.; DEPAULIS, A.; VERGNES, M.; MARESCAUX, C. Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. **Progress in Neurobiology**, v. 55, n. 1, p. 27–57, 1998.

DAVIS, M.; RAINNIE, D.; CASSELL, M. The role of the amygdala in fear and anxiety. **Annual Review of Neuroscience**, v. 15, p. 353-375, 1992.

De LORENZO, R.J.; RAZA, M.; PAL, S.; RAFIQ, A. Long-term alteration of calcium homeostatic mechanisms in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. **Brain Research**, v. 903, p. 1-12, 2001.

DE SIQUEIRA, R. J.; RIBEIRO-FILHO, H. V.; FREIRE, R. S.; COSKER, F.; FREIRE, W. B.; VASCONCELOS-SILVA, A. A.; SOARES, M. A.; LAHLOU, S.; MAGALHAES, P. J. (-

) α -Bisabolol inhibits preferentially electromechanical coupling on rat isolated arteries. **Vascul Pharmacol**, v. 63, n. 1, p. 37-45, 2014.

DE SIQUEIRA, R. J.; RIBEIRO-FILHO, H. V.; FREIRE, R. S.; COSKER, F.; FREIRE, W. B.; VASCONCELOS-SILVA, A. A.; SOARES, M. A.; LAHLOU, S.; MAGALHAES, P. J. (α -Bisabolol inhibits preferentially electromechanical coupling on rat isolated arteries. **Vascular Pharmacology**, v. 63, p. 37-45, 2014.

DE SOUSA, D. P.; GONÇALVES, J. C. R.; QUINTANS-JUNIOR, L.; CRUZ J. S.; ARAUJO, D. A. M.; DE ALMEIDA R. N. Study of anticonvulsant effect of citronellol, a monoterpene alcohol, in rodents. **Neuroscience Letters**, v. 401, p. 231-5, 2006.

DE SOUSA, D. P.; NOBREGA, F. F. F.; DE ALMEIDA, R. N. Influence of the chirality of (*R*)-(-) and (*S*)-(+)-carvone in the central nervous system: A comparative study. **Chirality**, v. 19, p. 264-8, 2007.

DE SOUSA, D. P.; NOBREGA, F. F. F.; DE MORAIS, L. C. S. L.; DE ALMEIDA, R. N. Evaluation of the anticonvulsant activity of terpinen-4-ol. **Z. Naturforsch. C**, v. 64, p. 1-5, 2009.

DE SOUSA, D. P.; NÓBREGA, F. F. F.; SANTOS, C. C. M. P.; DE ALMEIDA, R. N. Anticonvulsant Activity of the Linalool Enantiomers and Racemate: Investigation of the Chiral Influence. **Natural Product Communications**, v. 5, p. 1847-51, 2010.

DÉCANIS, N.; SAVIGNAC, K.; ROUABHIA, M. Farnesol promotes epithelial cell defense against *Candida albicans* through Toll-like receptor 2 expression, interleukin-6 and human β -defensin 2 production. **Cytokine**, v. 45, p. 132-40, 2009.

DE-LA-TORRE-UGARTE-GUANILO, M. C.; TAKAHASHI, R. F.; BERTOLOZZI, M. R. Revisão sistemática: noções gerais. **Revista da Escola de Enfermagem USP**, v. 45, n. 5, p. 1260-6, 2011.

DE-OLIVEIRA, C. C.; DE-OLIVEIRA, C. V.; GRIGOLETTO, J.; RIBEIRO, L. R.; FUNCK, V. R.; GRAUNCKE, A. C. B.; DE-SOUZA, T. L.; SOUTO, N. S.; FURIAN, A. F.; MENEZES, I. R. A.; OLIVEIRA, M. S. Anticonvulsant activity of beta-caryophyllene against pentylenetetrazol-induced seizures. **Epilepsy & Behavior**, v. 56, p. 26-31, 2016.

DERENGOWSKI, L. S.; DE-SOUZA-SILVA, C.; BRAZ, S. V.; MELLO-DE-SOUSA, T. M.; BÁO, S. N.; KYAW, C. M.; SILVA, I. P. Antimicrobial effect of farnesol, a *Candida albicans* quorum sensing molecule, on *Paracoccidioides brasiliensis* growth and morphogenesis. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 8, p. 1-9, 2009.

DI MAIO, R.; MASTROBERARDINO, P. G.; HU, X.; MONTERO, L. M.; GREENAMYRE, J. T. Thiol oxidation and altered NR2B/NMDA receptor functions in in vitro and in vivo pilocarpine models: implications for epileptogenesis. **Neurobiology Disease**, 2012.

DIBBENS, L. M.; FENG, H. J.; RICHARDS, M. C.; HARKIN, L. A.; HODGSON, B. L.; SCOTT, D.; JENKINS, M.; PETROU, S.; SUTHERLAND, G. R.; SCHEFFER, I. E.; BERKOVIC, S. F.; MACDONALD, R. L.; MULLEY, J. C. GABRD encoding a protein for extra- or peri-synaptic GABAA receptors is susceptibility locus for generalized epilepsies. **Human Molecular Genetics**, v. 13, n. 13, p. 1315-9, 2004.

DIBBENS, L. M.; HARKIN, L. A.; RICHARDS, M.; HODGSON, B. L.; CLARKE, A. L.; PETROU, S.; SCHEFFER, I. E.; BERKOVIC, S. F.; MULLEY, J. C. The role of neuronal GABAA receptor subunit mutations in idiopathic generalized epilepsies. **Neuroscience Letters**, v. 453, n. 3, p. 162–165, 2009.

DIEGUES, A. C. S. **O mito moderno da natureza intocada**. 2.ed. São Paulo: Hucitec, p.169, 1996.

DING, J.; WANG, J. J.; HUANG, C.; WANG, L.; DENG, S.; XU, T. L.; GE, W. H.; LI, W. G.; LI, F. Curcumol from *Rhizoma Curcumae* suppresses epileptic seizure by facilitation of GABA(A) receptors. **Neuropharmacology**, v. 81, p. 244-55, 2014.

DING, L.; FENG, H. J.; MACDONALD, R. L.; BOTZOLAKIS, E. J.; HU, N.; GALLAGHER, M. J. GABAA receptor $\alpha 1$ subunit mutation A322D associated with autosomal dominant juvenile myoclonic epilepsy reduces the expression and alters the composition of wild type GABAA receptors. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 34, p. 26390–405, 2010.

DOI, K.; NAKAYAMA, H.; NAKAJIMA, T.; SAKAI, N. Composiciones oftálmicas que contienen terpenoides para lentes de contacto. **ES2247711**, 2006.

DORANDEU, F.; BARBIER, L.; DHOTE, F.; TESTYLIER, G.; CARPENTIER P. Ketamine combinations for the field treatment of soman-induced self-sustaining status epilepticus. Review of current data and perspectives. **Chemico-Biological Interactions**, v. 203, p. 154–9, 2013.

DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 421-31, 1990.

DUNCAN, R. E.; ARCHER, M. C. Farnesol decreases serum triglycerides in rats: Identification of mechanisms including up-regulation of PPAR α and down-regulation of fatty acid synthase in hepatocytes. **Lipids**, v. 43, p. 619–27, 2008.

DUNHAM, N. W.; MIYA, T. S. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **Journal of the American Pharmacists Association**, v. 46, p. 208-209, 1957.

EADIE, M. J.; BLADIN, B. F. **A disease once called sacred: a history of the medical understanding of epilepsy**. Eastleigh: John Libbey, 2001.

EGLIN, R. M. Muscarinic receptor subtypes in neuronal and non-neuronal cholinergic function. **Autonomic and Autacoid Pharmacology**, v. 26, p. 219-233, 2006.

ELGER, C. E.; SCHMIDT, D. Modern management of epilepsy: a practical approach. **Epilepsy & Behavior**, v. 12, p. 501-39, 2008.

ELGOYHEN, A. B.; KATZ, E.; ROTHLIN, C. V.; VERBITSKY, M. Mixed nicotinicmuscarinic properties of the $\alpha 9$ nicotinic cholinergic receptor. **Neuropharmacology**, v. 39, p. 2515-24, 2000.

ENGEL, J. Biomarkers in epilepsy: introduction. **Biomarkers in Medicine**, v. 5, p. 537–44, 2011.

ENGEL, J. J. R.; PEDLEY, T. A. **What is epilepsy?** In: *Epilepsy: A comprehensive textbook*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 2005.

ENGEL, J.; MCDERMOTT, M. P.; WIEBE, S.; LANGFITT, J. T.; STERN, J. M.; DEWAR, S.; SPERLING, M. R.; GARDINER, I.; ERBA, G.; FRIED, I.; JACOBS, M.; VINTERS, H. V.; MINTZER, S.; KIEBURTZ, K. Early Randomized Surgical Epilepsy Trial (ERSET) Study Group: Early surgical therapy for drug-resistant temporal lobe epilepsy: a randomized trial. **JAMA**, v. 307, n. 9, p. 922-30, 2012.

ERAKOVIC, V.; ZUPAN, G.; VARLJEN, J.; LAGINJA, J.; SIMONIC, A. – Lithium plus Pilocarpine Induced Status Epilepticus – Biochemical Changes. **Neuroscience Research**, v. 36, p. 157-66, 2000.

FARRANT, M.; KAILA, K. The cellular, molecular and ionic basis of GABA_A receptor signalling. **Progress in Brain Research**, v. 160, p. 59–87, 2007.

FAVALE, E.; AUDENINO, D.; COCITO, L.; ALBANO, C. The anticonvulsant effect of citalopram as an indirect evidence of serotonergic impairment in human epileptogenesis. **Seizure**, v. 12, p. 316–18, 2003.

FERDINANDY, P.; CSONKA, C.; CSONT, T.; SZILVÁSSY, Z.; DUX, L. Rapid pacing-induced preconditioning is recaptured by farnesol treatment in hearts of cholesterol fed rats: Role of polyprenyl derivatives and nitric oxide. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 186, p. 27–34, 1998.

FERNANDES, C.; FILE, S. E. The Influence of Open Arm Ledges and Maze Experience in the Elevated Plus-Maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 54, n. 1, p. 31-40, 1996.

FERNANDES, M. J. S. Epilepsia do lobo temporal: mecanismos e perspectivas. **Estudos avançados**, v. 27, n. 77, p. 85-98, 2013.

FERNANDES, R. A.; MONTEIRO, D. R.; ARIAS, L. S.; FERNANDES, G. L.; DELBEM, A. C. B.; BARBOSA, D. B. Biofilm formation by *Candida albicans* and *Streptococcus mutans* in the presence of farnesol: a quantitative evaluation. **Biofouling**, v. 32, p. 329–38, 2016.

FERRIERO, D. M. Protecting neurons. **Epilepsia**, v. 46, n. Suppl.7, p. 45–51, 2005.

FESTING, M. F.; ALTMAN, D. G. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. **Ilar Journal**, v. 43, p. 244–58, 2002.

FEUCHT, M.; FUCHS, K.; PICHLBAUER, E.; HORNIK, K.; SCHARFETTER, J.; GOESSLER, R.; FÜREDER, T.; CVETKOVIC, N.; SIEGHART, W.; KASPER, S.; ASCHAUER, H. Possible association between childhood absence epilepsy and the gene encoding GABRB3. **Biological Psychiatry**, v. 46, n. 7, p. 997–1002, 1999.

FILIPPO D'ANTUONO, L.; FERIOLI, F.; MANCO, M. A. The impact of sesquiterpene lactones and phenolics on sensory attributes: An investigation of a curly endive and escarole germplasm collection. **Food Chemistry**, v. 199, p. 238-45, 2016.

FISHER, R. S.; CROSS, J. H.; D'SOUZA, C.; FRENCH, J. A.; HAUT, S. R.; HIGURASHI, N.; HIRSCH, E.; JANSEN, F. E.; LAGAE, L.; MOSHÉ, S. L.; PELTOLA, J.; ROULET PEREZ, E.; SCHEFFER, I. E.; SCHULZE-BONHAGE, A.; SOMERVILLE, E.; SPERLING,

M.; YACUBIAN, E. M.; ZUBERI, S. M. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. **Epilepsia**, v. 58, n. 4, p. 531-542, 2017b.

FISHER, R. S.; CROSS, J. H.; FRENCH, J. A.; HIGURASHI, N.; HIRSCH, E.; JANSEN, F. E.; LAGAE, L.; MOSHE, S. L.; PELTOLA, J.; PEREZ, E. R.; SCHEFFER, I. E.; ZUBERI, S. M. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. **Epilepsia**, v. 58, n. 4, p. 522-50, 2017a.

FISHER, R.S., ACEVEDO, C.; ARZIMANOGLU, A.; BOGACZ, A.; CROSS, J. H.; ELGER, C. E.; ENGEL, J. J. R.; FORSGREN, L.; FRENCH, J. A.; GLYNN, M.; HESDORFFER, D. C.; LEE, B. I.; MATHERN, G. W.; MOSHÉ, S. L.; PERUCCA, E.; SCHEFFER, I. E.; TOMSON, T.; WATANABE, M.; WIEBE, S. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. **Epilepsia**, v. 55, n. 4, p. 475-82, 2014.

FITZGERALD, P. J. Is elevated norepinephrine an etiological factor in some cases of epilepsy? **Seizure**, v. 19, 2010.

FRANCO, T. M. A.; RICO, E. P.; BOGO, M. R.; BONA, C. D. Efeitos da Carbamazepina, Fenitoína e Ácido Valpróico sobre a hidrólise de ATP, ADP, AMP e Acetilcolina em membranas cerebrais de zebrafish (*Danio rerio*). **IX Salão de Iniciação Científica**. PUC - RS, 2008.

FREI, M. G.; ZAVERI, H. P.; ARTHURS, S.; BERGEY, G. K.; JOUNY, C. C.; LEHNERTZ, K.; GOTMAN, J.; OSORIO, I.; NETOFF, T. I.; FREEMAN, W. J.; JEFFERYS, J.; WORRELL, G.; QUYEN MLE, V.; SCHIFF, S. J.; MORMANN, F. Controversies in epilepsy: debates held during the Fourth International Workshop on Seizure Prediction. **Epilepsy & Behavior**, v. 19, n. 1, p. 4–16, 2010.

FREITAS, R. M. Sistemas de Neurotransmissão Envolvidos no Modelo de Epilepsia: Uma Revisão de Literatura. **Revista Neurociências**, v. 19, n. 1, p. 128-38, 2011.

FREITAS, R. M.; VIANA, G. S. B.; FONTELES, M. M. F. Striatal monoamines levels during status epilepticus. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 30, n. 3, p. 76-9, 2003.

FRIEDMAN, A.; BEHRENS, C. J.; HEINEMANN, U. Cholinergic dysfunction in temporal lobe epilepsy. **Epilepsia**, v. 48, n. 5, p. 126-30, 2007.

FRITSCHY, J.M.; KIENER, T.; BOUILLERET, V.; LOUP, F. – GABAergic Neurons and GABA_A-receptors in Temporal Lobe Epilepsy. **Neurochemistry International**, v. 34, p. 435-45, 1999.

FRYE, R. E.; SREENIVASULA, S.; ADAMS, J. B. Traditional and non-traditional treatments for autism spectrum disorder with seizures: an on-line survey. **BMC Pediatrics**, v. 11, n. 37, 2015.

FUKUZAKI, K.; KAMENOSOMO, T.; NAGATA, R. Effects of ropinirole on various parkinsonian models in mice, rats, and cynomolgus monkeys. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, v. 65, p. 503-8, 2000.

GALANOPOULOU, A. S. GABA_A receptors in normal development and seizures: friends or foes? **Current Neuropharmacology**, v. 6, n. 1, p. 1–20, 2008.

GALANOPOULOU, A. S.; BUCKMASTER, P. S.; STALEY, K. J.; MOSHE, S. L.; PERUCCA, E.; ENGEL-JÚNIOR, J.; LOSCHER, W.; NOEBELS, J. L.; PITKANEM, A.; STABLES, J.; WITH, S.; O'BRIEN, T. J.; SIMONATO, M. Identification of new epilepsy treatments: Issues in preclinical methodology. **Epilepsia**, v. 53, n. 3, p. 571–82, 2012.

GALDINO, P. M.; NASCIMENTO, M. V. M.; FLORENTINO, I. F.; LINO, R. C.; FAJEMIROYE, J. O.; CHAIBUB, B. A.; DE PAULA, J. R.; DE LIMA, T. C. M.; COSTA, E. A. The anxiolytic-like effect of an essential oil derived from *Spiranthera odoratissima* A. St. Hil. leaves and its major component, β -caryophyllene, in male mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 38, p. 276-84, 2012.

GALINDO, L. A.; PULTRINI, A. D.; COSTA, M. Biological effects of *Ocimum gratissimum* L. are due to synergic action among multiple compounds present in essential oil. **Journal of Natural Medicines**, v. 64, n. 4, p. 436-41, 2010.

GANGAROSSA, G.; DI BENEDETTO, M.; O'SULLIVAN, G. J.; DUNLEAVY, M.; ALCACER, C.; BONITO-OLIVA, A.; HENSHALL, D. C.; WADDINGTON, J. L.; VALJENT, E.; FISONE, G. Convulsant doses of a dopamine D1 receptor agonist result in Erk-dependent increases in Zif268 and Arc/Arg3.1 expression in mouse dentate gyrus. **PLoS one**, v. 6:, 2011.

GARCIA, C. S. Depression in temporal lobe epilepsy: a review of prevalence, clinical features, and management considerations. **Epilepsy Treatment Research**, 2012.

GARLET, Q. I.; PIRES, L. D. C.; MILANESI, L. H.; MARAFIGA, J. R.; BALDISSEROTTO, B.; MELLO, C. F.; HEINZMANN, B. M. (+)-Dehydrofukinone modulates membrane potential and delays seizure onset by GABA_A receptor-mediated mechanism in mice. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 332, n. 1, p. 52-63, 2017.

GERARD, T. Composition biocide et/ou biostatique et ses applications. **FR2697133**, 1994.

GERBER, D. J.; SOTNIKOVA, T. D.; GAINETDINOV, R. R.; HUANG, S. Y.; CARON, M. G.; TONEGAWA, S. Hyperactivity, elevated dopaminergic transmission, and response to amphetamine in M1 muscarinic acetylcholine receptor-deficient mice. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, v. 98, n. 26, p. 15312-7, 2001.

GERONZI, U.; LOTTI, F.; GROSSO, S. Oxidative stress in epilepsy. **Expert Review of Neurotherapeutics**, v. 18, n. 5, p. 427-34, 2018.

GHADIRIA, T.; FARHOUDI, M.; SHARIFZADEH, M.; GORJIA, A. Alterations of GABAergic System which Perturb GABA Mediated Inhibition in Temporal Lobe Epilepsy. **Journal of Experimental & Clinical NeuroSciences**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2016.

GHANTOUS, A.; GALI-MUHTASIB, H.; VUORELA, H.; SALIBA, N.A.; DARWICHE, N. What made sesquiterpene lactones reach cancer clinical trials? **Drug Discovery Today**, v. 15, p. 668–78, 2010.

GIL, A. C. **Métodos e técnicas de Pesquisa Social**. 5ª Ed.: Atlas S.A., São Paulo, 2006.

GIORGI F. S.; PIZZANELLI, C.; BIAGIONI, F.; MURRI, L.; FORNAI, F. The role of norepinephrine in epilepsy: from the bench to the bedside. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 28, p. 507–24, 2004.

GOEL, R. K.; KAUR, D.; PAHWA, P. Assessment of anxiolytic effect of nerolidol in mice. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 48, n. 4, p. 450-2, 2016.

GOLDBERG, E. M.; COULTER, D. A. Mechanisms of epileptogenesis: a convergence on neural circuit dysfunction. **Nature Reviews**, v. 14, p. 337-49. 2013.

GOMES, F. I. A.; TEIXEIRA, P.; AZEREDO, J.; OLIVEIRA, R. Effect of farnesol on planktonic and biofilm cells of *Staphylococcus epidermidis*. **Current Microbiology**, v. 59, p. 118–22, 2009.

GOMES, F.; LEITE, B.; TEIXEIRA, P.; CERCA, N.; AZEREDO, J.; OLIVEIRA, R. Farnesol as antibiotics adjuvant in *Staphylococcus epidermidis* control in vitro. **American Journal of the Medical Sciences**, v. 341, p. 191–5, 2011a.

GOMES, F.; TEIXEIRA, P.; CERCA, N.; AZEREDO, J.; OLIVEIRA, R. Effect of farnesol on structure and composition of *Staphylococcus epidermidis* biofilm matrix. **Current Microbiology**, v. 63, p.354–9, 2011b.

GOMES, T. K. C.; CASTRO, T. K.; OLIVEIRA, S. L.; ATAIDE, T. R.; TRINDADE-FILHO, E. M. O Papel da Dieta Cetogênica no Estresse Oxidativo Presente na Epilepsia Experimental. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, v. 17, n.2, p. 54-64, 2011c.

GONÇALVES, O.; PEREIRA, R.; GONÇALVES, F.; MENDO, S.; COIMBRA, M. A.; ROCHA, S. M. Evaluation of the mutagenicity of sesquiterpenic compounds and their influence on the susceptibility towards antibiotics of two clinically relevant bacterial strains. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 723, p. 18–25, 2011.

GOODMAN & GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 12 ed. Rio de Janeiro, Guanaraba Koogan, 2012.

GOTO, T.; KIM, Y. I.; FUNAKOSHI, K.; TERAMINAMI, A.; UEMURA, T.; HIRAI, S.; LEE, J. Y.; MAKISHIMA, M.; NAKATA, R.; INOUE, H.; SENJU, H.; MATSUNAGA, M.; HORIO, F.; TAKAHASHI, N.; KAWADA, T. Farnesol, an isoprenoid, improves metabolic abnormalities in mice via both PPAR -dependent and -independent pathways. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 301, p. E1022–E1032, 2011.

GREEN, L. C.; WAGNER, D. A.; GLOGOWSKI, J.; SKIPPER, P. L.; WISHNOK, J. S.; TANNENBAUM, S. R. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. **Analytical Biochemistry**, v. 126, n. 1, p. 131-8, 1982.

GRONE, B. P.; BARABAN, S. C. Animal models in epilepsy research: legacies and new directions. **Nature Neuroscience**, v. 18, n. 3, p. 339-43, 2015.

GUEDES, F. A.; ORFA, Y. G. A.; LEITE, J. P. Plasticidade neuronal associada à epilepsia do lobo temporal mesial: insights a partir de estudos em humanos e em modelos de animais. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, v. 12, n. 1, p.10-7, 2006.

GUIARD B. P.; DI GIOVANNI G. Central serotonin-2A (5-HT2A) receptor dysfunction in depression and epilepsy: the missing link? **Frontiers in Pharmacology**, v. 6, n. 46, 2015.

HALBE, H. W. Conceitos e aspectos bioquímicos dos estrógenos. **Rev Clinica e Terapêutica**, v. 31, p. 68-76, 2005.

HALL, C. S. Emotional behavior in the rat. 1. defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **Journal of Comparative Psychology**, v. 18, p. 382-403, 1934.

HAMILTON, S. E.; LOOSE, M. D.; QI, M.; LEVEY, A. I.; HILLE, B.; MCKNIGHT, G. S.; IDZERDA, R. L.; NATHANSON, N. M. Disruption of the m1 receptor gene ablates muscarinic receptor-dependent M current regulation and seizure activity in mice. **Proceeding of the National Academy of Sciences**, v. 94, p. 13311-16, 1997.

HANLEY, K.; KÖMÜVES, L. G.; NG, D. C.; SCHOONJANS, K.; HE, S. S.; LAU, P.; BIKLE, D. D.; WILLIAMS, M. L.; ELIAS, P. M.; AUWERX, J.; FEINGOLD, K. R. Farnesol stimulates differentiation in epidermal keratinocytes via PPAR α . **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, p. 11484–91, 2000.

HANSEN, N.; MANAHAN-VAUGHAN, D. Dopamine D1/D5 receptors mediate informational saliency that promotes persistent hippocampal long-term plasticity. **Cerebral Cortex**, v. 24, p. 845-58, 2014.

HARDEN, C. L. Depression and anxiety in epilepsy patients. **Epilepsy & Behavior**, v. 3, 2002.

HARKIN, L. A.; BOWSER, D. N.; DIBBENS, L. M.; SINGH, R.; PHILLIPS, F.; WALLACE, ROBYN H.; RICHARDS, M. C.; WILLIAMS, D. A.; MULLEY, J. C.; BERKOVIC, S. F.; SCHEFFER, I. E.; PETROU, S. Truncation of the GABAA-receptor γ 2 subunit in a family with generalized epilepsy with febrile seizures plus. **American Journal of Human Genetics**, v. 70, n. 2, p. 530–6, 2002.

HAUG, J. S.; GOLDNER, C. M.; YAZLOVITSKAYA, E. M.; VOZIYAN, P. A.; MELNYKOVYCH, G. Directed cell killing (apoptosis) in human lymphoblastoid cells incubated in the presence of farnesol: effect of phosphatidylcholine. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1223, p. 133-40, 1994.

HENRIQUES, M.; MARTINS, M.; AZEREDO, J.; OLIVEIRA, R. Effect of farnesol on *Candida dubliniensis* morphogenesis. **Letters in Applied Microbiology**, v. 44, p. 199–205, 2007.

HIGGINS, J. P.; ALTMAN, D. G.; GOTZSCHE, P. C.; JUNI, P.; MOHER, D.; OXMAN, A. D.; SAVOVIC, J.; SCHULZ, K. F.; WEEKS, L.; STERNE, J. A. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. **BMJ**, v. 343, 2011.

HINTERSTEINER, J.; HAIDER, M.; LUGER, D.; SCHWARZER, C.; REZNICEK, G.; JÄGER, W.; KHOM, S.; MIHOVILOVIC, M. D.; HERING, S. Esters of valerianic acid as potential prodrugs. **European Journal of Pharmacology**, v. 735, n. 1, p. 123-31, 2014.

HIPPOCRATE. **De la maladie sacrée**, livre 6. In: Littré E, editor. Oeuvres complètes d' Hippocrate. Paris: Baillière; 1849b. p. 354.

HIPPOCRATE. **Sixième livre des épidémies**, livre 5. In: Littré E, editor. Oeuvres complètes d' Hippocrate. Paris: Baillière; 1849a. p. 324.

HIROSE, S. A new paradigm of channelopathy in epilepsy syndromes: intracellular trafficking abnormality of channel molecules. **Epilepsy Research**, v. 70, p. S206–17, 2006.

HISAJIMA, T.; MARUYAMA, N.; TANABE, Y.; ISHIBASHI, H.; YAMADA, T.; MAKIMURA, K.; NISHIYAMA, Y.; FUNAKOSHI, K.; OSHIMA, H.; ABE, S. Protective effects of farnesol against oral candidiasis in mice. **Microbiology Immunology**, v. 52, p. 237–333, 2008.

HOLLEY, R. A.; PATEL, D. Improvement of shelflife and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiology**, v. 22, p. 273–92, 2005.

HOMAYOUN, M.; SEGHATOLESLAM, M.; POURZAKI, M.; SHAFIEIAN, R.; HOSSEINI, M.; BIDESKAN, A. E. Anticonvulsant and neuroprotective effects of *Rosa damascena* hydro-alcoholic extract on rat hippocampus. **Avicenna J Phytomed**, v. 5, n. 3, p. 260-70, 2015.

HOOIJMANS, C. R.; ROVERS, M. M.; VRIES, R. B. M.; LEENAARS, M.; RITSKES-HOITINGA, M.; LANGENDAM, M. W. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. **BMC Medical Research Methodology**, v. 14, p. 1-9, 2014.

HOREV, B.; KLEIN, M. I.; HWANG, G.; LI, Y.; KIM, D.; KOO, H.; BENOIT, D. S. W. pH-activated Nanoparticles for Controlled Topical Delivery of Farnesol to Disrupt Oral Biofilm Virulence. **ACS Nano**, v. 9, p. 2390–404, 2015.

HULME, E. C. Muscarinic acetylcholine receptors: typical G-coupled receptors. **Symposia of the Society for Experimental Biology**, v. 44, p. 39-54, 1990.

IHLE, J. N. STATs: signal transducers and activators of transcription. **Cell**, v. 84, p. 331–4, 1996.

ILAE. International League Against Epilepsy. **Definition and Classification**. 2016. Disponível em: http://www.ilae.org/Visitors/Centre/Definition_Class.cfm. Acesso em: 13 de setembro 2017.

ILAE. International League Against Epilepsy. **Epilepsy diagnosis**. 2015. Disponível em: <https://www.epilepsydiagnosis.org/>. Acesso em: 17 de abril de 2015.

ISMAIL, H.; WRIGHT, J.; RHODES, P.; SMALL, N. Religious beliefs about causes and treatment of epilepsy. **British Journal of General Practice**, v. 55, n. 510, p. 26-31, 2005.

JABRA-RIZK, M. A.; MEILLER, T. F.; JAMES, C. E.; SHIRTLIFF, M. E. Effect of farnesol on *Staphylococcus aureus* biofilm formation and antimicrobial susceptibility. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, p. 1463-69, 2006.

JABRA-RIZK, M. A.; SHIRTLIFF, M.; JAMES, C.; MEILLER, T. Effect of farnesol on *Candida dubliniensis* biofilm formation and fluconazole resistance. **FEMS Yeast Research**, v. 6, p. 1063–73, 2006.

JAHANGIR, T.; KHAN, T. H.; PRASAD, L.; SULTANA, S. Alleviation of free radical mediated oxidative and genotoxic effects of cadmium by farnesol in Swiss albino mice. **Redox Report**, v. 10, p. 303–10, 2005.

JAHANGIR, T.; KHAN, T. H.; PRASAD, L.; SULTANA, S. Farnesol prevents Fe-NTA-mediated renal oxidative stress and early tumour promotion markers in rats. **Human & Experimental Toxicology**, v. 25, p. 235–42, 2006.

JAHANGIR, T.; SULTANA, S. Benzo(a)pyrene-induced genotoxicity: Attenuation by farnesol in a mouse model. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 23, p. 888–94, 2008.

JAKUS, R.; BAGDY, G. **The Role of 5-HT_{2C} Receptor in Epilepsy. In: 5-HT_{2C} Receptors in the Pathophysiology of CNS Disease.** In: Di Giovanni, E. E.; Di Matteo, V. 5-HT_{2C} Receptors in the Pathophysiology of CNS Disease, eds G. (Wien: Springer-Verlag), 2011.

JIRSA, V. K.; STACEY, W. C.; QUILICHINI, P. P., IVANOV, A. I., BERNARD, C. On the nature of seizure dynamics. **Brain**, v. 137, n. 8, p. 2210–30, 2014.

JO, D. G.; PARK, J. S.; YOUN, Y. K.; CHOI, Y. R.; YUN, U. J. Composition containing compound down-regulating bace1 protein expression for preventing or treating degenerative brain disease. **KR1020150008802**, 2015.

JOBE, P. C.; BROWNING, R. A. The serotonergic and noradrenergic effects of antidepressant drugs are anticonvulsant, not proconvulsant. **Epilepsy & Behavior**, v. 7, p. 602–19, 2005.

JOO, J. H.; UEDA, E.; BORTNER, C. D.; YANG, X. P.; LIAO, G.; JETTEN, A. M. Farnesol activates the intrinsic pathway of apoptosis and the ATF4-ATF3-CHOP cascade of ER stress in human T lymphoblastic leukemia Molt4 cells. **Biochemical Pharmacology**, v. 97, p. 256–68, 2015.

JOPE, R.S.; MORRISETT, R.A.; SNEAD, O.C. Characterization of lithium potentiation of pilorcapine- induced status epilepticus in rats. **Experimental Neurology**, v. 91, p.471-480, 1986.

JOURNE, F.; LAURENT, G.; CHABOTEAUX, C.; NONCLERCQ, D.; DURBECQ, V.; LARSIMONT, D.; BODY, J. J. Farnesol, a mevalonate pathway intermediate, stimulates MCF-7 breast cancer cell growth through farnesoid-X-receptor-mediated estrogen receptor activation. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 107, p. 49–61, 2008.

JUNIOR, V. F. V.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura. **Química nova**, v. 28, n. 3, p. 519-28, 2005.

KAMINSKI, R. M.; SHIPPENBERG, T. S.; WITKIN, J. M.; ROCHA, B. A. Genetic deletion of the norepinephrine transporter decreases vulnerability to seizures. **Neuroscience Letters**, v. 382, p. 51–5, 2005.

KANDRATAVICIUS, L.; RUGGIERO, R. N.; HALLAKI, J. E.; GARCIA-CAIRASCO, N.; LEITE, JOÃO P. Fisiopatologia dos transtornos de humor na epilepsia do lobo temporal. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 34, n. 2, p. 233-59, 2012.

KANEKO, M.; TOGASHI, N.; HAMASHIMA, H.; HIROHARA, M.; INOUE, Y. Effect of farnesol on mevalonate pathway of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Antibiotics**, v. 64, p. 547–49, 2011.

KANG, J. Q.; SHEN, W.; MACDONALD, R. L. The GABRG2 mutation, Q351X, associated with generalized epilepsy with febrile seizures plus, has both loss of function and dominantnegative suppression. **Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 9, p. 2845–56, 2009.

KANNER, A. M.; BALABANOV, A. Depression and epilepsy: how closely related are they? **Neurology**, v. 58, n. 8 Suppl. 5, p. S27–S39, 2002.

KASH, S. F.; JOHNSON, R. S.; TECOTT, L. H.; NOEBELS, J. L.; MAYFIELD, R. D.; HANAHAN, D.; BAEKKESKOV, S. Epilepsy in mice deficient in the 65-kDa isoform of glutamic acid decarboxylase. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 94, n. 25, p. 14060–5, 1997.

KATO, M. A new paradigm for West syndrome based on molecular and cell biology. **Epilepsy Research**, v. 70, n. 1, p. S87–S95, 2006.

KATO, M.; DAS, S.; PETRAS, K.; KITAMURA, K.; MOROHASHI, K.; ABUELO, D. N.; BARR, M.; BONNEAU, D.; BRADY, A. F.; CARPENTER, N. J.; CIPERO, K. L.; FRISONE, F.; FUKUDA, T.; GUERRINI, R.; IIDA, E.; ITOH, M.; LEWANDA, A. F.; NANBA, Y.; OKA, A.; PROUD, V. K.; SAUGIER-VEBER, P.; SCHELLEY, S. L.; SELICORNI, A.; SHANER, R.; SILENGO, M.; STEWART, F.; SUGIYAMA, N.; TOYAMA, J.; TOUTAIN, A.; VARGAS, A. L.; YANAZAWA, M.; ZACKAI, E. H.; DOBYNS, W. B. Mutations of ARX are associated with striking pleiotropy and consistent genotype-phenotype correlation. **Human Mutation**, v. 23, n. 2, p. 147–59, 2004.

KATO, M.; KOYAMA, N.; OHTA, M.; MIURA, K.; HAYASAKA, K. Frameshift mutations of the ARX gene in familial Ohtahara syndrome. **Epilepsia**, v. 51, n. 9, p. 1679–84, 2010.

KATRAGKOU, A.; MCCARTHY, M.; ALEXANDER, E. L.; ANTACHOPOULOS, C.; MELETIADIS, J.; JABRA-RIZK, M. A.; PETRAITIS, V.; ROILIDES, E.; WALSH, T. J. In vitro interactions between farnesol and fluconazole, amphotericin b or micafungin against *Candida albicans* biofilms. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, p. 470–8, 2015.

KATSUYAMA, M.; ICHIKAWA, H.; OGAWA, S.; IKEZAWA, Z. A novel method to control the balance of skin microflora. Part 1. Attack on biofilm of *Staphylococcus aureus* without antibiotics. **Journal of Dermatological Science**, v. 38, p. 197–205, 2005.

KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. **Farmacologia básica e clínica**. 12^a ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.

KAUR, D.; PAHWA, P.; GOEL, R. K. Protective Effect of Nerolidol Against Pentylentetrazol-Induced Kindling, Oxidative Stress and Associated Behavioral Comorbidities in Mice. **Neurochemical Research**, v. 41, n. 11, 2016.

KHAN, G. M.; SMOLDERS, I.; EBINGER, G.; MICHOTTE Y. Anticonvulsant effect and neurotransmitter modulation if focal and systemic 2-chloroadenosine against the development of pilocarpine-induced seizures. **Neuropharmacology**, v. 39, p.2418–2432, 2000.

KHAN, R.; SULTANA, S. Farnesol attenuates 1,2-dimethylhydrazine induced oxidative stress, inflammation and apoptotic responses in the colon of Wistar rats. **Chemical Biological Interactions**, v. 192, p. 193–200, 2011.

KHOM, S.; HINTERSTEINER, J.; LUGER, D.; HAIDER, M.; POTOTSCHNIG, G.; MIHOVILOVIC, M. D.; SCHWARZER, C.; HERING, S. Analysis of β -subunit-dependent GABAA receptor modulation and behavioral effects of valerianic acid derivatives. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 357, n. 3, 2016.

KIM, H. K.; NUNES, P. V.; OLIVEIRA, K. C.; YOUNG, L. T.; LAFER, B. Neuropathological relationship between major depression and dementia: A hypothetical

model and review. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 67, p. 51-7, 2016.

KINGSLEY, R.E. **Manual de Neurociência**. 2^a ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2001.

KISHIMOTO, S. T. **Relações entre atividade física e aspectos psicológicos em pacientes com epilepsia**. 2015. 129f. Dissertação (Mestrado em Educação física) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.

KLAASSEN, A.; GLYKYS, J.; MAGUIRE, J.; LABARCA, C.; MODY, I.; BOULTER, J. Seizures and enhanced cortical GABAergic inhibition in two mouse models of human autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 50, p. 19152–7, 2006.

KOBAYASHI, K.; MORI, A. Brain monoamines in seizure mechanism (review). **Folia Psychiatrica et Neurologica Japonica**, v. 31, p. 483–9, 1977.

KOENIG, D. W. Artigo de cuidado pessoal e método para inibir fixação de levedura à pele. **PI 0310045-6 A2**, 2003.

KONG, Q.; TAKAHASHI, K.; SCHULTE, D.; STOUFER, N.; LIN, Y.; LIN, C. L. Increased glial glutamate transporter EAAT2 expression reduces epileptogenic processes following pilocarpine-induced status epilepticus. **Neurobiology of Diseases**, v.47, n.2, 145-54, 2012.

KOVÁCS, R.; BOZÓ, A.; GESZTELYI, R.; DOMÁN, M.; KARDOS, G.; NAGY, F.; TÓTH, Z.; MAJOROS, L. Effect of caspofungin and micafungin in combination with farnesol against *Candida parapsilosis* biofilms. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 47, p. 304–10, 2016.

KRUSE, A. C.; KOBILKA, B. K.; GAUTAM, D.; SEXTON, P. M.; CHRISTOPOULOS, A.; WESS, J. Muscarinic acetylcholine receptors: novel opportunities for drug development. **Nature Reviews Drug discovery**, v. 13, n. 7, p. 549- 60, 2014.

KURIAN, M. A.; GISSEN, P.; SMITH, M.; HEALES, S. J.; CLAYTON, P. T. The monoamine neurotransmitter disorders: na expanding range of neurological syndromes. **Lancet Neurology**, v. 10, p. 721–33, 2011.

KURODA, M.; NAGASAKI, S.; OHTA, T. Sesquiterpene farnesol inhibits recycling of the C55 lipid carrier of the murein monomer precursor contributing to increased susceptibility to beta-lactams in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, p. 425–32, 2007.

KURZ, J. E.; MOORE, B. J.; HENDERSON, S. C.; CAMPBELL, J. N.; CHURN, S. B. A cellular mechanism for dendritic spine loss in the pilocarpine model of status epilepticus. **Epilepsia**, v 49, n. 10, p. 1696-710, 2008.

LA CRUZ, M. N. S. D.; SANTOS JÚNIOR, H. M. D.; REZENDE, C. M.; ALVES, R. J. V.; CANCELLO, E. M.; ROCHA, M. M. D. Terpenos em cupins do gênero *Nasutitermes* (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae). **Química Nova**, v. 37, p. 95-103, 2014.

LAB MERAM. PHARMACEUTICAL COMPOSITION AND MENTAL ILLNESS TREATMENT PACK. **GB1279686**, 1972.

LABAT, R. **Traité akkadien de diagnostics et pronostics médicaux**. Paris/ Leiden: Académie Internationale d'Histoire des Sciences/Brill; 1951.

LAGACE, T. A.; RIDGWAY, N. D. Induction of apoptosis by lipophilic activators of CTP:phosphocholine cytidyltransferase α (CCT α). **Biochemical Journal**, v. 392, p. 449–56, 2005.

LALLEMENT, G.; CARPENTIER, P.; COLLET, A.; PERNOT-MARINO, I.; BAUBICHON, D.; BLANCHET, G. Effects of soman-induced seizures on different extracellular amino acid levels and on glutamate uptake in rat hippocampus. **Brain Research**, v. 563, p. 234–40, 1991.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LANDMAN, M. T. R. L.; CASTRO, M. S. A.; LIMA, T. C. M. **Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais**. SBPC, Campinas-SP, 2008.

LAPCZYNSKI, A.; BHATIA, S. P.; LETIZIA, C. S.; API, A. M. Fragrance material review on farnesol. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 11, p. 149–56, 2008.

LATEEF, A.; REHMAN, M. U.; TAHIR, M.; KHAN, R.; KHAN, A. Q.; QAMAR, W.; SULTANA, S. Farnesol protects against intratracheally instilled cigarette smoke extract-induced histological alterations and oxidative stress in prostate of wistar rats. **Toxicology International**, v. 20, p. 35–42, 2013.

LEE, J. H.; KIM, C.; KIM, S. H.; SETHI, G.; AHN, K. S. Farnesol inhibits tumor growth and enhances the anticancer effects of bortezomib in multiple myeloma xenograft mouse model through the modulation of STAT3 signaling pathway. **Cancer Letters**, v. 360, p. 280–93, 2015.

LEE, K. H.; HALL, I. H.; MAR, E. C.; STARNES, C. O.; EL GEBALY, S. A.; WADDELL, T. G.; HADGRAFT, R. I.; RUFFNER, C. G.; WEIDNER, I. Sesquiterpene antitumor agents: inhibitors of cellular metabolism. **Science**, v. 196, 533–6, 1977.

LEE, K. H.; HUANG, E. S.; PIANTADOSI, C.; PAGANO, J. S.; GEISSMAN, T. A. Cytotoxicity of sesquiterpene lactones. **Cancer Research**, v. 31, p. 1649–54, 1971.

LENT, R. **Cem Bilhões de Neurônios: conceitos fundamentais de neurociências**. 2ª ed. Editora Atheneu, Rio de Janeiro, 2010.

LEWERENZ, J.; MAHER, P. Chronic Glutamate Toxicity in Neurodegenerative Diseases—What is the Evidence? **Frontiers in Neuroscience**, 2015.

LIAO, C. F.; THEMEN, A. P. N.; JOHO, R.; BARBERIS, C.; BIRNBAUMER, M.; BIRNBAUMER, L. Molecular cloning and expression of a fifth muscarinic acetylcholine receptor. **Journal of Biological Chemistry**, v. 264, p. 7328–37, 1989.

LINHARES, M. I. **Efeito do metilfenidato em ratos jovens submetidos ao modelo de epilepsia com pilocarpina**. Tese (Doutorado Farmacologia). Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, 2017, 164p.

LIPNICK, R. L.; COTRUVO, J. A.; HILL, R. N.; BRUCE, R. D.; STITZEL, K. A.; WALKER, A. P.; CHU, I.; GODDARD, M.; SEGAL, L.; SPRINGER, J. A.; MYERS, R. C. Comparison of the Up-and Down, Conventional LD50, and Fixed Dose Acute Toxicity Procedures. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, p. 223–31, 1995.

LISTER, G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 46, p. 321-340, 1990.

LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, n. 2, p. 180-5, 1987.

LIU, C.; WEN, X. W.; GE, Y.; CHEN, N.; HU, W.-H.; ZHANG, T.; ZHANG, J.-G.; MENG, F.-G. Responsive neurostimulation for the treatment of medically intractable epilepsy. **Brain Research Bulletin**, v. 97, p. 39-47, 2013.

LIU, H.; SONG, Z.; LIAO, D.; ZHANG, T.; LIU, F.; ZHUANG, K.; LUO, K.; YANG, L. Neuroprotective Effects of Trans-Caryophyllene Against Kainic Acid Induced Seizure Activity and Oxidative Stress in Mice. **Neurochemical Research**, v. 40, n. 1, p. 118-23, 2014.

LIU, P.; LUO, L.; GUO, J.; LIU, H.; WANG, B.; DENG, B.; LONGO, C. A.; CHENG, Y. Farnesol induces apoptosis and oxidative stress in the fungal pathogen *Penicillium expansum*. **Mycologia**, v. 102, p. 311-8, 2010.

LOPES, M. W.; SOARES, F. M.; DE MELLO, N.; NUNES, J. C.; CAJADO, A. G.; DE BRITO, D.; DE CORDOVA, F. M.; DA CUNHA, R. M.; WALZ, R.; LEAL, R. B. Time-dependent modulation of AMPA receptor phosphorylation and mRNA expression of NMDA receptors and glial glutamate transporters in the rat hippocampus and cerebral cortex in a pilocarpine model of epilepsy. **Experimental Brain Research**, v. 226, p. 153-63, 2013.

LORINCZ, M.; OLAH, M.; BARACSKAY, P.; SZILAGYI, N.; JUHASZ, G. Propagation of spike and wave activity to the medial prefrontal cortex and dorsal raphe nucleus of WAG/Rij rats. **Physiology & Behavior**, v. 90, p. 318-24, 2007.

LÖSCHER, W. **Strategies for antiepileptogenesis: Antiepileptic drugs versus novel approaches evaluated in post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy**. In: NOEBELS, J. L.; AVOLI, M.; ROGAWSKI, M. A.; OLSEN, R. W.; DELGADO-ESCUETA, A.V.; editors. *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies* [Internet]. 4th edition. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US), 2012.

LÖSCHER, W.; BRANDT, C. Prevention or modification of epileptogenesis after brain insults: experimental approaches and translational research. **Pharmacological Reviews**, v. 62, n. 4, p. 668-700, 2010.

LUFT, U. C.; BYCHKOV, R.; GOLLASCH, M.; GROSS, V.; ROULLET, J. B.; MCCARRON, D. A.; RIED, C.; HOFMANN, F.; YAGIL, Y.; YAGIL, C.; HALLER, H.; LUFT, F. C. Farnesol blocks the L-type Ca²⁺ channel by targeting the alpha 1C subunit. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 19, p. 959-66, 1999.

LUFT, U. C.; BYCHKOV, R.; GOLLASCH, M.; GROSS, V.; ROULLET, J.; MCCARRON, D. A.; RIED, C.; HOFMANN, M.; YAGIL, Y.; YAGIL, C.; HALLER, H.; LUFT, F. C. Farnesol Blocks the L-Type Ca²⁺ Channel by Targeting the alpha1C Subunit. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 19, p. 959-66, 1999.

LUKAS, G.; BRINDLE, S. D.; GREENGARD, P. The route of absorption of intraperitoneally administered compounds. **The journal of Pharmacology and experimental therapeutics**, v. 178, n. 3, p. 562-566, 1971.

LÜTTJOHANN, A.; FABENE, P. F.; VAN-LUIJTELAAR, G. A revised Racine's scale for PTZ-induced seizures in rats. **Physiology & Behavior**, v. 98, p. 579–86, 2009.

MA, L.; WANG, S.; TAI, F.; YUAN, G.; WU, R.; LIU, X.; WEI, B.; YANG, X. Effects of bilobalide on anxiety, spatial learning, memory and levels of hippocampal glucocorticoid receptors in male Kunming mice. **Phytomedicine**, v. 20, n. 1, p. 89-96, 2012.

MACHIDA, K.; TANAKA, T.; FUJITA, K.; TANIGUCHI, M. Farnesol-induced generation of reactive oxygen species via indirect inhibition of the mitochondrial electron transport chain in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Bacteriology**, v. 180, p. 4460–5, 1998.

MAGIORKINIS, E.; SIDIROPOULOU, K.; DIAMANTIS, A. Hallmarks in the history of epilepsy: epilepsy in antiquity. **Epilepsy & Behavior**, v. 17, p. 103-8, 2010.

MALONE, M. H. **Pharmacological approaches to natural product and evoluating**. In: Wasner H, Walff LP. Natural products and plant drugs with pharmacological biological or terapeutical activity. Berlin: Spring Verlag, p. 23-56, 1977.

MANAYI, A.; NABAVI, S. M.; DAGLIA, M.; JAFARI, S. Natural terpenoids as a promising source for modulation of GABAergic system and treatment of neurological diseases. **Pharmacological Reports**, v. 38, n. 4, p. 671-9, 2016.

MANCINI, M. C.; SAMPAIO, R. F. Quando o objeto de estudo é a literatura: estudos de revisão. **Revista Brasileira de Fisioterioterapia**, v. 10, n. 4, 2006.

MANI, R.; POLLARD, J.; DICHTER, M. A. Human clinical trials in antiepileptogenesis. **Neuroscience Letters**, v. 497, n. 3, p. 251–6, 2011.

MANN, E. O.; MODY, I. Themultifaceted role of inhibition in epilepsy: seizure-genesis through excessive GABAergic inhibition in autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. **Current Opinion in Neurology**, v. 21, n. 2, p. 155–160, 2008.

MARCUZZI, A.; PONTILLO, A.; DE LEO, L. D.; TOMMASINI, A.; DECORTI, G.; NÃO, T.; VENTURA, A. Natural isoprenoids are able to reduce inflammation in a mouse model of mevalonate kinase deficiency. **Pediatric Research**, v. 64, p. 177–82, 2008.

MARGINEANU, D. G. Epileptic hypersynchrony revisited. **NeuroReport**, v. 21, n. 15, p. 963–7, 2010.

MARIANI, E.; POLIDORI, M. C.; CHERUBINI, A.; MECOCCI, P. Oxidative stress in brain aging, neurodegenerative and vascular diseases: an overview. **Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 827, n. 1, p. 65-75, 2005.

MARINHO, M. M. F.; SOUSA, F. C. F.; BRUIN, V. M. S.; VALE, M. R.; VIANA, G. S. B. Effects of lithium, alone or associated with pilocarpine, on muscarinic and dopaminergic receptors and on phosphoinositide metabolism in rat hippocampus and striatum. **Neurochemistry International**, v. 33, p. 299-306, 1998.

MARSH, E.; FULP, C.; GOMEZ, E.; NASRALLAH, I.; MINARCIK, J.; SUDI, J.; CHRISTIAN, S. L.; MANCINI G.; LABOSKY, P.; DOBYNS, W.; BROOKS-KAYAL, A.; GOLDEN, J. A. Targeted loss of Arx results in a developmental epilepsy mouse model and recapitulates the human phenotype in heterozygous females. **Brain**, v. 132, n. 6, p. 1563–76, 2009.

- MAXWELL, S. R. J. Prospects for the use antioxidant therapies. **Drugs**, v. 49, p. 345-61, 1995.
- MCDONOUGH, J. H. J.; SHIH, T. M. Neuropharmacological mechanisms of nerve agent-induced seizure and neuropathology. **Neuroscience & Biobehavior Reviews**, v. 21, p. 559–79, 1997.
- MEDINA, E. U.; PAILAQUILÉN, R. M. B. A revisão sistemática e a sua relação com a prática baseada na evidência em saúde. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 18, n. 4, p. 1- 8, 2010.
- MEHVARI, J.; MOTLAGH, F. G.; NAJAFI, M.; GHAZVINI, M. R. A.; NAEINI, A. A.; ZARE, M. Effects of Vitamin E on seizure frequency, electroencephalogram findings, and oxidative stress status of refractory epileptic patients, v. 5, p. 1-36, 2016.
- MELNYKOVYCH, G.; HAUG, J. S.; GOLDNER, C. M. Growth Inhibition of Leukemia Cell L₁/Ne Cem-C1 by Farnesol: Effects of Phosphatidylcholine and Diacylglycerol. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 186, p. 543-8, 1992.
- MELO, L. E. A. M.; DEL BEL, E. A.; GOMES, E. L. T.; OLIVEIRA, J. A. C.; WAKAMATSU, H.; CAIRASCO, N. G. Neuroethological and morphological (Neo-Timm staining) correlates of limbic recruitment during the development of audiogenic kindling in seizures susceptible Wistar rats. **Epilepsy Research**, v. 26, p. 177-192, 1996.
- MITTAL, P.; KAUSHIK, D.; KAUSHIK, P.; GUPTA, V.; GHAIYE, P.; KRISHAN, P. Therapeutic Efficacy of Phytochemicals as Anti-Epileptic - A Review. **Pharmacologyonline**, v.1, p. 246-71, 2011.
- MIYAKAWA, T.; YAMADA, M.; DUTTAROV, A.; WESS, J. Hyperactivity and intact hippocampus-dependent learning in mice lacking the M1 muscarinic acetylcholine receptor. **The Journal of Neuroscience**, v. 21, n. 14, p. 5239-50, 2001.
- MOGEN, A. B.; CHEN, F.; AHN, S. J.; BURNE, R. A.; WANG, D.; RICE, K. C. Pluronics-Formulated farnesol promotes efficient killing and demonstrates novel interactions with *Streptococcus mutans* biofilms. **PLoS One**, v. 10, p. 1–18, 2015.
- MOHER, D.; LIBERATI, A.; TETZLAFF, J.; ALTMAN, D. G. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. **Annals of Internal Medicine**, v. 151, p. 264-69, 2009.
- MONTANHA, F. P.; AZEVEDO, M. G. P. Drug administration: advantages and disadvantages of different ways. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, n. 20, 2013.
- MULA, M. Recent and future antiepileptic drugs and their impact on cognition: what can we expect? **Expert Review Neurotherapeutics**, v. 12, n. 6, p. 667–71, 2012.
- NASCIMENTO, V. S.; OLIVEIRA, A. A.; FREITAS, R. M.; SOUSA, F. C.; VASCONCELOS, S. M.; VIANA, G. S.; FONTELES, M. M. Pilocarpine-induced status epilepticus: monoamine level, muscarinic and dopaminergic receptor alterations in striatum of rats. **Neuroscience Letters**, v. 383, p. 165-70, 2005.
- NAVARATHNA, D. H.; HORNBY, J. M.; KRISHNAN, N.; PARKHURST, A.; DUHAMEL, G. E.; NICKERSON, K. W. Effect of farnesol on a mouse model of systemic

candidiasis, determined by use of a DPP3 knockout mutant of *Candida albicans*. **Infection and Immunity**, v. 75, 1609-18, 2007.

NAVARATHNA, D. H.; NICKERSON, K. W.; DUHAMEL, G. E.; JERRELS, T. R.; PETRO, T. M. Exogenous farnesol interferes with the normal progression of cytokine expression during candidiasis in a mouse model. **Infection and Immunity**, v. 75, p. 4006-11, 2007.

NAYLOR, D. E.; LIU, H.; NIQUET, J.; WASTERLAIN, C. G. Rapid surface accumulation of NMDA receptors increases glutamatergic excitation during status epilepticus. **Neurobiology of Disease**, v. 54, p. 225-38, 2013.

NEHRING, R. B.; HORIKAWA, H. P.; EL FAR, O.; KNEUSSEL, M.; BRANDSTÄTTER, J. H.; STAMM, S.; WISCHMEYER, E.; BETZ, H.; KARSCHIN, A. The metabotropic GABAB receptor directly interacts with the activating transcription factor 4, **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 45, p. 35185-91, 2000.

NEJM, M.B.; HAIDAR, A. A.; MARQUES, M. J.; HIRATA, A. E.; NOGUEIRA, F. N.; CAVALHEIRO, E. A.; SCORZA, F. A.; CYSNEIROS, R. M. Fish oil provides protection against the oxidative stress in pilocarpine model of epilepsy. **Metabolic Brain Disease**, p. 903-9, 2015.

NG, K. T.; GIBBS, M. E.; CROWE, S. F.; SEDMAN, G. L.; HUA, G. L.; ZHAO, W.; ODOWD, B.; RICKARD, N.; GIBBS, C. L.; SYKOVA, E.; SVOBODA, J.; JENDELOVA, P. Molecular mechanisms of memory formation. **Molecular Neurobiology**, v. 5, p. 333-50, 1991.

NÓBREGA, F. F. F. **Monoterpeno 4-terpineol – uma molécula com atividade anticonvulsivante: estudos comportamentais e eletrofisiológicos**. 2012. 159f. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Universidade Estadual do Ceará, João Pessoa, 2012.

NOKHODCHI, A.; SHARABIANI, K.; RASHIDI, M. R.; GHAFOURIAN, T. The effect of terpene concentrations on the skin penetration of diclofenac sodium. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 335, p. 97-105, 2007.

NUNES, S. O. V.; VARGAS, H. O.; PRADO, E.; BARBOSA, D. S.; DE MELO, L. P.; MOYLAN, S.; DODD, S.; BERK, M. The shared role of oxidative stress and inflammation in major depressive disorder and nicotine dependence. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 37, n. 8, p. 1336-45, 2013.

NWAIWU, J. I.; AKAH, P. A. Anticonvulsant activity of the volatile oil from the fruit of *Tetrapleura tatraptera*. **Journa of Ethnopharmacology**, v. 18, p. 103-7, 1986.

OBEID, T.; ABULABAN, A.; AL-GHATANI, F.; AL-MALKI, A. R.; AL-GHAMDI, A. Possession by 'Jinn' as a cause of epilepsy (Saraa): a study from Saudi Arabia. **Seizure**, v. 21, p. 245-9, 2012.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development, Guideline 423: **Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method**, 2001.

OLADIMEJI, F. A.; ORAFIDIYA, L. O.; OKEKE, I. N. Physical properties and antimicrobial activities of leaf essential oils of *Lippia multiflora* Moldenke. **International Journal of Aromatherapy**, v. 14, p. 162-68, 2004.

OLIVEIRA, A. A. **Novos aspectos da ação de drogas antiepilépticas: efeitos antioxidantes e modulação dos sistemas colinérgico e dopaminérgico**. Tese (Doutorado em Farmacologia). Universidade Federal do Ceará – UFC, 2010, 242 p.

OLIVEIRA, M. A.; BARRETO, A. A. O.; QUITANS-JUNIOR, L. J.; GUIMARÃES, A. G. Aplicação de terpenos como agentes analgésicos: Uma prospecção tecnológica. **Simpósio Internacional de Inovação Tecnológica**, Aracaju-SE, v. 2, n. 1, p.033-9, 2014.

OLIVEIRA-JÚNIOR, W. M.; BENEDITO, R. B.; PEREIRA, W. B.; DE ARRUDA TORRES, P.; RAMOS, C. A. F.; COSTA, J. P.; DA ROCHA TOMÉ, A.; DE SOUSA, D. P.; DE FREITAS, R. M.; DINIZ, M. F. F. M.; DE ALMEIDA, R. N. Farnesol: antinociceptive effect and histopathological analysis of the striatum and hippocampus of mice. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 27, p. 419–26, 2013.

OLNEY, J. W.; COLLINS, R. C.; SLOVITER, R. S. Excitotoxic mechanisms of epileptic brain damage. **Advances in Neurology**, v. 44, p. 857-77, 1986.

OLSEN, R. W. Absinthe and γ -aminobutyric acid receptors. **PNAS**, v. 97, p. 4417-4418, 2000.

OLSEN, R. W.; LI, G. D. GABAA receptors as molecular targets of general anesthetics: identification of binding sites provides clues to allosteric modulation. **Canadian Journal of Anesthesia**, p. 1–10, 2010.

ORELLANA-PAUCAR, A. M.; AFRIKANOVA, T.; THOMAS, J.; AIBULDINOV, Y. K.; DEHAEN, W.; DE WITTE, P. A.; ESGUERRA, C. V. Insights from zebrafish and mouse models on the activity and safety of ar-turmerone as a potential drug candidate for the treatment of epilepsy. **PLoS One**, v. 8, n. 12, 2013.

Organização Mundial de Saúde (OMS). **Epilepsy**. 2018. Disponível em: <<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>>. Acesso em: 22 de setembro de 2018.

OYRER, J.; MALJEVIC, S.; SCHEFFER, I. E.; BERKOVIC, S. F.; PETROU, S.; REID, C. A. Ion channels in genetic epilepsy: from genes and mechanisms to disease-targeted therapies. **Pharmacological Reviews**, v. 70, n. 1, p. 142–73, 2018.

PADGETT, C. L.; SLESINGER, P. A. GABAB receptor coupling to G-proteins and ion channels. **Advances in Pharmacology**, v. 57, p. 123–47, 2010.

PADUCH, R.; KANDEFER-SZERSZEŃ, M.; TRYTEK, M.; FIEDUREK, J. Terpenes: substances useful in human healthcare. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 55, n. 5, p. 315–27, 2007.

PAILLÉ, V.; PICCONI, B.; BAGETTA, V.; GHIGLIERI, V.; SGOBIO, C.; DI FILIPPO, M.; VISCOMI, M. T.; GIAMPÀ, C.; FUSCO, F. R.; GARDONI, F.; BERNARDI, G.; GREENGARD, P.; DI LUCA, M.; CALABRESI, P. Distinct levels of dopamine denervation differentially alter striatal synaptic plasticity and NMDA receptor subunit composition. **Journal of Neuroscience**, v. 30, p. 14182-93, 2010.

PANUS, C. P.; JOBST, E. E.; TINSLEY, L. S. **Farmacologia para Fisioterapeutas**. Porto Alegre: Artmed, 2011.

PARK, J. S.; KWON, J. K.; KIM, H. R.; KIM, H. J.; KIM, B. S.; JUNG, J. Y. Farnesol induces apoptosis of DU145 prostate cancer cells through the PI3K/Akt and MAPK pathways. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 33, p. 1169–76, 2014.

PARSONS, L. H.; KERR, T. M.; TECOTT, L. H. 5-HT(1A) receptor mutant mice exhibit enhanced tonic, stress-induced and fluoxetine-induced serotonergic neurotransmission. **Journal of Neurochemistry**, v. 77, p. 607–17, 2001.

PASSOS, C. S.; ARBO, M. D.; RATES, S. M. K.; VON POSER, G. Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n.1, p.140-149, 2009.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; S. E.; BRILEY, M. Validation of open" closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 14, n. 3, p.149-67, 1985.

PEREIRA, A. L.; PITA, J. R. **Egas Moniz: em livre exame**. MinervaCoimbra; 2000.

PEROSA, S. R.; PORCIONATTO, M. A.; CUKIERT, A.; MARTINS, J. R. M.; AMADO, D.; NADER, H. B.; CAVALHEIRO, E. A.; LEITE, J. P.; NAFFAH-MAZZACORATTI, M. G. Extracellular matrix components are altered in the hippocampus, córtex and cerebrospinal fluid of patients with mesial temporal lobe epilepsy. **Epilepsia**, v. 43, n. 5, 159-61, 2002.

PERSINGER, M. A.; BUREAU, Y. R. J.; KOSTAKOS, M.; PEREDERY, O.; FALTER, H. Behaviours of Rats with Insidious Multifocal Brain Damage Induced by Seizures Following Single Peripheral Injections of Lithium and Pilocarpine. **Physiology & Behavior**, v. 53, p. 849-66, 1993.

PERSINGER, M.A.; LEUNG, L.S.; STEWART, L.S. Diurnal variation in pilocarpine-induced generalized tonicclonic seizure activity. **Epilepsy Research**, v.44, p.207-212, 2001.

PIRKNER, E. H. Epilepsy in the light of history. **Ann Med Hist**, v. 1, p. 453–80, 1929.

PITKÄNEN, A.; LUKASIUK, K. Mechanisms of epileptogenesis and potential treatment targets. **Lancet Neurology**, v. 10, n. 2, p. 173–86, 2011.

PITKÄNEN, A.; LUKASIUK, K. Molecular and cellular basis of epileptogenesis in symptomatic epilepsy. **Epilepsy & Behavior**, v. 14, v. 1, p. 16-25, 2009.

PORSOLT, R. D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v. 266, p. 730-2, 1977.

PRENDIVILLE, S.; GALE, K. Anticonvulsant effect of fluoxetine on focally evoked limbic motor seizures in rats. **Epilepsia**, v. 34, p. 381–4, 1993.

PRICE, M. G.; YOO, J. W.; BURGESS, D. L.; DENG, F.; HRACHVY, R. A.; FORST-JR, J. D.; NOBELS, J. L. A triplet repeat expansion genetic mouse model of infantile spasms syndrome, Arx(GCG)₁₀₊₇, with interneuronopathy, spasms in infancy, persistent seizures, and adult cognitive and behavioral impairment. **Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 27, p. 8752–63, 2009.

PUTTACHARY, S.; SHARMA, S.; STARK, S.; THIPPESWAMY, T. Seizure-induced oxidative stress in temporal lobe epilepsy. **BioMed Research International**, 2015.

QAMAR, W.; KHAN, A. Q.; KHAN, R.; LATEEF, A.; TAHIR, M.; REHMAN, U. M.; ALI, F.; SULTANA, S. Benzo(a)pyrene-induced pulmonary inflammation, edema, surfactant dysfunction, and injuries in rats: Alleviation by farnesol. **Experimental Lung Research**, v. 38, p. 19–27, 2012.

QAMAR, W.; SULTANA, S. Farnesol ameliorates massive inflammation, oxidative stress and lung injury induced by intratracheal instillation of cigarette smoke extract in rats: an initial step in lung chemoprevention. **Chemical Biological Interactions**, v. 176, p. 79–87, 2008.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; ALMEIDA, R. N.; FALCÃO, A. C.; AGRA, M. F.; SOUSA, M. F. V.; BARBOSA-FILHO, J. M. Avaliação da Atividade Anticonvulsivante de Plantas do Nordeste Brasileiro. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 21, n. 3, p. 179–84, 2002.

QUINTANS-JUNIOR, L. J.; GUIMARÃES, A. G.; ARAUJO, B. E. S.; OLIVEIRA, G. F.; SANTANA, M. T.; MOREIRA, F. V.; SANTOS, M. R. V.; CAVALCANTI, S. C. H.; DE LUCCA, W. J. R.; BOTELHO, M. A.; RIBEIRO, L. A. A.; NOBREGA, F. F. F.; ALMEIDA, R. N. Carvacrol, (-)-borneol and citral reduce convulsant activity in rodents. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, p. 6566–72, 2010.

RAMAGE, G.; SAVILLE, S. P.; WICKES, B. L.; LÓPEZ-RIBOT, J. L. Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation by farnesol, a quorum-sensing molecule. **Applied Environ Microbiology**, v. 68, p. 5459–63, 2002.

RAO, C. V.; NEWMARK, H. L.; REDDY, B. S. Chemopreventive effect of farnesol and lanosterol on colon carcinogenesis. **Cancer Detection and Prevention**, v. 26, p. 419–25, 2002.

REN, Z.; SCHAEFER, T. S. ErbB-2 activates Stat3 alpha in a Src- and JAK2-dependent manner. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, p. 38486–93, 2002.

RÉUS, G. Z.; FRIES, G. R.; STERTZ, L.; BADAWY, M.; PASSOS, I. C.; BARICHELLO, T.; KAPCZINSKI, F.; QUEVEDO, J. The role of inflammation and microglial activation in the pathophysiology of psychiatric disorders. **Neuroscience**, v. 300, n. 6, p. 141–54, 2015.

REZAEI, M.; SADEGHIAN, A.; ROOHI, N.; SHOJAEI, A.; MIRNAJAFI-ZADEH, J. Epilepsy and dopaminergic system. **Physiology Pharmacology**, v. 21, p. 1–14, 2017.

RHODES, P. J.; SMALL, N.; ISMAIL, H.; WRIGHT, J. P. The use of biomedicine, complementary and alternative medicine, and ethnomedicine for the treatment of epilepsy among people of South Asian origin in the UK. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 8, n. 7, p. 1–14, 2008.

ROBINSON, L. R.; BISSETT, D. L.; DECKNER, G. E.; HÁ, R. B. K. Composição de cuidado com a pele. **PI 0009893-0 A2**, 2000.

ROCHA, L.; ALONSO-VANEGAS, M.; OROZCO-SUÁREZ, S.; ALCANTARA-GONZÁLEZ, D.; CRUZBLANCA, H.; CASTRO, E. Do certain signal transduction mechanisms explain the comorbidity of epilepsy and mood disorders? **Epilepsy & Behavior**, v. 38, p. 25–31, 2014.

ROCHA, L.; ALONSO-VANEGAS, M.; VILLEDA-HERNÁNDEZ, J.; MÚJICA, M.; CISNEROS-FRANCO, J. M.; LÓPEZ-GÓMEZ, M.; ZAVALA-TECUAPETLA, C.; FRÍAS-

SORIA, C. L.; SEGOVIA-VILA, J.; BORSODI, A. Dopamine abnormalities in the neocortex of patients with temporal lobe epilepsy. **Neurobiology Disease**, v. 45, p. 499-507, 2012.

RODGERS, C. C.; GROBEN, V. J. **Wong: Fundamentos de Enfermagem Pediátrica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Mosby, 2015.

RODGERS, R. J.; DALVI, A. Anxiety, defence and the elevated plus maze. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v.21, n. 6, p.801–10, 1997.

RODRIGUES GOULART, H.; KIMURA, E. A.; PERES, V. J.; COUTO, A. S.; AQUINO DUARTE, F. A.; KATZIN, A. M. Terpenes arrest parasite development and inhibit biosynthesis of isoprenoids in *Plasmodium falciparum*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, p. 2502-9, 2004.

ROSSIGNOL, T.; LOGUE, M. E.; REYNOLDS, K.; GRENON, M.; LOWNDES, N. F.; BUTLER, G. Transcriptional response of *Candida parapsilosis* following exposure to farnesol. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, p. 2304–12, 2007.

ROUGEREAU, A.; ROUGEREAU-PERSON, O. Novel Medicines Based on Sesquiterpene Mixtures. **US20040072915**, 2004.

ROULLET, J. B. O.; CRABBE-JUNIOR, J. C.; METTEN P. Compositions and methods for treatment of neurological symptoms associated with alcohol-withdrawal and for convulsive seizure. **US20080286209**, 2008.

ROULLET, J. B.; LE QUAN SANG, K. H.; LUFT, U.; WATANABE, M.; OTSUKA, K.; MCCARRON, D. A.; DEVYNCK, M. A. Inhibition of Ca²⁺ uptake into A7r5 vascular smooth muscle cells by farnesol: lack of effect on membrane fluidity and Ca²⁺-ATPase activities. **Journal of Hypertension**, v. 15, p. 1723–8, 1997.

ROULLET, J. B.; LUFT, U. C.; XUE, H.; CHAPMAN, J.; BYCHKOV, R.; ROULLET, C.M.; LUFT, F. C.; HALLER, H.; MCCARRON, D. A. Farnesol inhibits L-type Ca²⁺ channels in vascular smooth muscle cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, p. 32240-6, 1997.

ROULLET, J. B.; XUE, H.; CHAPMAN, J.; MCDUGAL, P.; ROULLET, C. M.; MCCARRON, D. A. Farnesyl analogues inhibit vasoconstriction in animal and human arteries. **Journal of Clinical Investigation**, v. 97, p. 2384–90, 1996.

RUSTAY, N. R.; WAHLSTEN, D.; CRABBE, J. C. Influence of task parameters on rotarod performance and sensitivity to ethanol in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 141, p. 237–249, 2003.

SAIDI, S.; LUITAUD, C.; ROUABHIA, M. In vitro synergistic effect of farnesol and human gingival cells against *Candida albicans*. **Yeast**, v. 23, p. 673-87, 2006.

SAMPAIO, R. F.; MANCINI, M. C. Systematic review studies: a guide for careful synthesis of the scientific evidence. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 11, n. 1, p. 77-82, 2007.

SANDER, J. W. The epidemiology of epilepsy revisited. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 16, 2003.

SANTELLO, M.; VOLTERRA, A. TNF α in synaptic function: switching gears. **Trends in Neurosciences**, v.35, n.10, p. 638–47, 2012.

SANTHANASABAPATHY, R.; SUDHANDIRAN, G. Farnesol attenuates lipopolysaccharide-induced neurodegeneration in Swiss Albino mice by regulating intrinsic apoptotic cascade. **Brain Research**, v. 1620, p. 42-56, 2015.

SARNYAI, Z.; SIBILLE, E. L.; PAVLIDES, C.; FENSTER, R. J.; MCEWEN, B. S.; TOTH, M. Impaired hippocampal-dependent learning and functional abnormalities in the hippocampus in mice lacking serotonin(1A) receptors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, 2000.

SAVOLAINEN, K. M.; HIRVONEN, M. R. Second messengers in cholinergic-induced convulsions and neuronal injury. **Toxicology Letters**, v. 64/65, p. 437-45, 1992.

SCHARFMAN, H. E. The neurobiology of epilepsy. **Current Neurology and Neuroscience Reports**, v. 7, n. 4, p. 348-54, 2007.

SCHMIDT, D.; SCHACHTER, S. C. Drug treatment of epilepsy in adults. **Bmj**, v. 348, n. 254, p. 130-6, 2014.

SCHREINER, S. J.; SCHIAVONE, A. P.; SMITHGALL, T. E. Activation of STAT3 by the Src Family kinase Hck requires a functional SH3 domain. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, p. 45680-7, 2002.

SCHÜTZ, G. R.; SANT'ANA, A. S. S.; SANTOS, S. G. Política de periódicos nacionais em Educação Física para estudos de revisão sistemática. **Revista Brasileira de Cineantropometria do Desempenho Humano**, v. 13, n. 4, p. 313-9, 2011.

SCIMEMI, A.; SCHORGE, S.; KULLMANN, D. M.; WALKER, M. C. Epileptogenesis is associated with enhanced glutamatergic transmission in the perforant path. **Journal of Neurophysiology**, v. 95, n. 2, p. 1213-20, 2006.

SCORZA, F. A.; ARIDA, R. M.; NAFFAH-MAZZACORATTI, M. G.; SCERNI, D. A.; CLADERAZZO, L.; CAVALHEIRO, E. A. The pilocarpine model of epilepsy: what have we learned? **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, n. 3, p. 345-65. 2009.

SCURLOCK, J.; ANDERSEN, B. R. **Diagnoses in Assyrian and Babylonian medicine**. Chicago: Univ. of Illinois Press, 2005.

SEMIGHINI, C. P.; HORNBY, J. M.; DUMITRU, R.; NICKERSON, K. W.; HARRIS, S. D. Farnesol-induced apoptosis in *Aspergillus nidulans* reveals a possible mechanism for antagonistic interactions between fungi. **Molecular Microbiology**, v. 59, p. 753-64, 2006.

SENA, E.; VAN DER WORP, H. B.; HOWELLS, D.; MACLEOD, M. How can we improve the pre-clinical development of drugs for stroke? **Trends Neuroscience**, v. 30, p. 433-9, 2007.

SGADÒ, P.; DUNLEAVY, M.; GENOVESI, S.; PROVENZANO, G.; BOZZI, Y. The role of GABAergic system in neurodevelopmental disorders: a focus on autism and epilepsy. **International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology**, v. 3, n. 3, p. 223-35, 2011.

SHAHNOURI, M.; ABOUHOSSEINI TABARI, M.; ARAGHI, A. Neuropharmacological properties of farnesol in Murine model. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 17, p. 259-64, 2016.

SHIN, E. J.; JEONG, J. H.; CHUNG, Y. H.; KIM, W. K.; KO, K. H.; BACH, J. H.; HONG, J. S.; YONEDA, Y.; KIM, H. C. Role of oxidative stress in epileptic seizures. **Neurochemistry International**, v. 59, n. 2, 2011.

SHINTRE, M. S.; GAONKAR, T. A.; MODAK, S. M. Efficacy of an alcohol-based healthcare hand rub containing synergistic combination of farnesol and benzethonium chloride. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 209, p. 477–87, 2006.

SHORVON, S. The evolution of epilepsy theory and practice at the National Hospital for the Relief and Cure of Epilepsy, Queen Square between 1860 and 1910. **Epilepsy & Behavior**, v. 31, p. 228-42, 2014.

SILLANPÄÄ, M.; SCHMIDT, D. Long-term outcome of medically treated epilepsy. **Seizure**, v. 44, p. 211-6, 2017.

SILVA, A. V.; CABRAL, F. R. Ictogênese, epileptogênese e mecanismo de ação das drogas na profilaxia e tratamento da epilepsia. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, v. 14, n. 2, p. 39-45, 2008.

SILVA, J. C.; ALCANTARA, L. F. M.; SOARES, J. M. D.; GAMA E SILVA, M.; DE LAVOR, E. M.; ANDRADE, V. M.; MENEZES, P. P.; ARAÚJO, A. A. S.; LEITE, L. H. I.; MENEZES, I. R. A.; SCOTTI, L.; SCOTTI, M. T.; OLIVEIRA, R. C. M.; QUINTANS, J. S. S.; ALMEIDA, J. R. G. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Docking, characterization and investigation of β -cyclodextrin complexed with farnesol, an acyclic sesquiterpene alcohol, produces orofacial antinociceptive profile in experimental protocols. **Process Biochemistry**, v. 62, p. 193-204, 2017.

SIMÕES, C. M.O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SIMONATO, M.; LÖSCHER, W.; COLE, A. J.; DUDEK, F. E.; ENGEL, J.; KAMINSKI, R. M.; LOEB, J. A.; SCHARFMAN, H.; STALEY, K. J.; VELÍSEK, L.; KLITGAARD, H. Finding a better drug for epilepsy: preclinical screening strategies and experimental trial design. **Epilepsia**, v. 53, n. 11, p. 1860-7, 2012.

SOUZA, D. S. **Envolvimento dos canais para cálcio tipo-L na resposta cardiodepressora do farnesol em coração de rato**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas). Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão-SE, 2016.

ŠPIČÁKOVÁ, A.; SZOTÁKOVÁ, B.; DIMUNOVÁ, D.; MYSLIVEČKOVÁ, Z.; KUBÍČEK, V.; AMBROŽ, M.; LNĚNIČKOVÁ, K.; KRASULOVÁ, K.; ANZENBACHER, P.; SKÁLOVÁ, L. Nerolidol and farnesol inhibit some cytochrome P450 activities but did not affect other xenobiotic-metabolizing enzymes in rat and human hepatic subcellular fractions. **Molecules**, v. 22, p. 1–11, 2017.

STARR, M. S. **Regulation of seizure threshold by D1 versus D2 receptors**. New York: Academic Press, 1993.

STARR, M. S. The role of dopamine in epilepsy. **Synapse**, v. 22, p. 159-94, 1996.

STATNICK, M. A.; MARING-SMITH, M. L.; CLOUGH, R. W.; WANG, C.; DAILEY, J. W.; JOBE, P. C.; BROWNING R. A. Effect of 5,7-dihydroxytryptamine on audiogenic seizures in genetically epilepsy-prone rats. **Life Science**, v. 59, p. 1763–71, 1996.

STEFULJ, J.; BORDUKALO-NIKSIC, T.; HECIMOVIC, H.; DEMARIN, V.; JERNEJ, B. Epilepsy and serotonin (5HT): variations of 5HT-related genes in temporal lobe epilepsy. **Neuroscience Letters**, v. 478, p. 29–31, 2010.

STOL, M. **Epilepsy in Babylonia**. Amsterdam: Brill; 1993.

STRAC, D. S.; PIVAC, N.; SMOLDERS, I. J.; FOGEL, W. A.; DE DEURWAERDERE, P.; DI GIOVANNI, G. Monoaminergic Mechanisms in Epilepsy May Offer Innovative Therapeutic Opportunity for Monoaminergic Multi-Target Drugs. **Frontiers in Neuroscience**, v. 10, p. 1-26, 2016.

SUN, H.; ZHANG, Y.; LIANG, J.; LIU, X.; MA, X.; WU, H.; XU, K.; QIN, J.; QI, Y.; WU, X. SCN1A, SCN1B, and GABRG2 gene mutation analysis in Chinese families with generalized epilepsy with febrile seizures plus. **Journal of Human Genetics**, v. 53, n. 8, p. 769–74, 2008.

SUNG, M. J.; SUNG, K. S.; HWANG, J. T.; PARK, J. H.; KIM, M. S.; KIM, B. M. Pharmaceutical composition including trans-farnesol as active ingredient for controlling angiogenesis. **KR1020140083522**, 2014.

SWERTS, M. S. O. **Manual para elaboração de trabalhos científicos**. Alfenas: UNIFENAS, 2010.

SZOT, P.; LESTER, M.; LAUGHLIN, M. L.; PALMITER, R. D.; LILES, L. C.; WEINSHENKER, D. The anticonvulsant and proconvulsant effects of alpha2-adrenoreceptor agonists are mediated by distinct populations of alpha2A-adrenoreceptors. **Neuroscience**, v. 126, p. 795–803, 2004.

SZOT, P.; WEINSHENKER, D.; WHITE, S. S.; ROBBINS, C. A.; RUST, N. C.; SCHWARTZKROIN, P. A.; PALMITER, R. D. Norepinephrine-deficient mice have increased susceptibility to seizure-inducing stimuli. **J Neuroscience**, v. 19, p. 10985–92, 1999.

SZÜCS, G.; MURLASITS, Z.; TÖRÖK, S.; KOCSIS, G. F.; PÁLÓCZI, J.; GÖRBE, A.; CSONT, T.; CSONKA, C.; FERDINANDY, P. Cardioprotection by farnesol: Role of the mevalonate pathway. **Cardiovascular Drugs Therapy**, v. 27, p. 269–77, 2013.

TABARI, M. A.; TEHRANI, M. A. B. Evidence for the involvement of the GABAergic, but not serotonergic transmission in the anxiolytic-like effect of bisabolol in the mouse elevated plus maze. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 390, n. 10, p. 1041-6, 2017.

TANAKA, M.; OLSEN, R. W.; MEDINA, M. T.; SCHWARTZ, E.; ALONSO, M. E.; DURON, R. M.; CASTRO-ORTEGA, R.; MARTINEZ-JUAREZ, I. E.; PASCUAL-CASTROVIEJO, I.; MACHADO-SALAS, J.; SILVA, R.; BAILEY, J. N.; BAI, D.; OCHOA, A.; JARA-PRADO, A.; PINEDA, G.; MACDONALD, R. L.; DELGADO-ESCUETA, A. V. Hyperglycosylation and reduced GABA currents of mutated GABRB3 polypeptide in remitting childhood absence epilepsy. **American Journal of Human Genetics**, v. 82, n. 6, p. 1249–61, 2008.

TARIQ, M.; AHMAD, M.; MOUTAERY, K. A.; DEEB, S. A. Pentoxifylline ameliorates lithium-pilocarpine induced status epilepticus in young rats. **Epilepsy & Behavior**, v. 12, n. 3, p. 354-65, 2008.

TCHEKALAROVA, J.; LOYENS, E.; SMOLDERS, I. Effects of AT1 receptor antagonism on kainate-induced seizures and concomitant changes in hippocampal extracellular noradrenaline, serotonin, and dopamine levels in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. **Epilepsy & Behavior**, v. 46, p. 66–71, 2015.

TÉLLEZ-ZENTENO, J. F.; HERNÁNDEZ-RONQUILLO, L. A Review of the Epidemiology of Temporal Lobe Epilepsy. **Epilepsy Research and Treatment**, v. 1–5, 2012.

TEMKIN, O. **The Falling Sickness: A History of Epilepsy from the Greeks to the Beginnings of Modern Neurology**. Johns Hopkins University Press, 1994.

THOM, M. Hippocampal sclerosis: progress since Sommer. **Brain Pathology**, v. 19, n. 4, p. 565-72, 2009.

THOMAS, E. H. X.; BOZAOGLU, K.; ROSSELL, S. L.; GURVICH, C. The influence of the glutamatergic system on cognition in schizophrenia: A systematic review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 77, p. 369-87, 2017.

TORRES-HERNÁNDEZ, B. A.; DEL VALLE-MOJICA, L. M.; ORTÍZ, J. G. Valerenic acid and *Valeriana officinalis* extracts delay onset of Pentylentetrazole (PTZ)-Induced seizures in adult *Danio rerio* (Zebrafish). **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 1, 2015.

TRIMBLE, H. **Practical and analytical chemistry**. P. Blakiston, Son & Co., Philadelphia, 1885.

TRIPATHI, P. P.; DI GIOVANNANTONIO, L. G.; VIEGI, A.; WURST, W.; SIMEONE, A.; AND BOZZI, Y. Serotonin hyperinnervation abolishes seizure susceptibility in *Otx2* conditional mutant mice. **Journal of Neuroscience**, v. 28, p. 9271–6, 2008.

TSILIDIS, K. K.; PANAGIOTOU, O. A.; SENA, E. S.; ARETOULI, E.; EVANGELOU, E.; HOWELLS, D. W.; AL-SHAHI SALMAN, R.; MACLEOD, M. R.; IOANNIDIS, J. P. Evaluation of excess significance bias in animal studies of neurological diseases. **PLoS Biology**, v. 11, 2013.

TURSKI, L.; IKONOMIDOU, C.; TURSKI, W. A.; BORTOLOTTA, Z. A.; CAVALHEIRO, E. A. Review: cholinergic mechanisms and epileptogenesis. The seizures induced by pilocarpine: a novel experimental model of intractable epilepsy. **Synapse**, v. 3, n. 2, p. 154-71, 1989.

TURSKI, W. A.; CAVALHEIRO, E. A.; BORTOLOTTA, Z. A.; MELLO, L. M.; SCHWARZ, M.; TURSKI, L. Seizures produced by pilocarpine in mice: a behavioral, electroencephalographic and morphological analysis. **Brain Research**, v. 321, p. 237-53, 1984.

TURSKI, W. A.; CAVALHEIRO, E. A.; IKONOMIDOU, C.; BORTOLOTTA, Z. A.; KLOCKGETHER, T.; TURSKI, L. Dopamine control of seizure propagation: intranigral dopamine D1 agonist SKF-38393 enhances susceptibility to seizures. **Synapse**, v. 5, n. 2, p. 113-9, 1990.

TURSKI, W. A.; CAVALHEIRO, E. A.; SCHWARZ, M.; CZUCZWAR, S. J.; KLEINROK, Z.; TURSKI, L. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. **Behavioural Brain Research**, v. 9, n. 3, p. 315–35, 1983.

TYLER, K.; YORK, G. K.; STEINBERG, D. A.; OKUN, M. S.; STEINBACH, M.; SATRAN, R.; FINE, E. J.; MANTEGHI, T.; BLECK, T. P.; SWANSON, J. W.; MISHRA, S.; MEADOR, K. J.; CLIFFORD, D. B.; TOOLE, J. F.; MELSON, L. Part 2: history of 20th century neurology: decade by decade. **Annals of Neurology**, v. 53, n. 4, p. S27-45, 2003.

UNNANUNTANA, A.; BONSIGNORE, L.; SHIRTLIFF, M. E.; GREENFIELD, E. M. The Effects of Farnesol on *Staphylococcus aureus* Biofilms and Osteoblasts. **Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 91, p. 2683–92, 2009.

URAK, L.; FEUCHT, M.; FATHI, N.; HORNIK, K.; FUCHS, K. A GABRB3 promoter haplotype associated with childhood absence epilepsy impairs transcriptional activity. **Human Molecular Genetics**, v. 15, n. 16, p. 2533–41, 2006.

VASCONCELOS, C. M. L.; OLIVEIRA, I. S. N.; SANTOS, J. N. A.; SOUZA, A. A.; MENEZES-FILHO, J. E. R.; SILVA, N. J. A.; LIMA, T. C.; DE SOUSA, D. P. Negative inotropism of terpenes on guinea pig left atrium: structure-activity relationships. **Natural Product Research**, v. 6419, p. 1–4, 2017.

VELLOSA, J. C. R. Alterações metabólicas e inflamatórias em condições de estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 3, p. 305-12, 2013.

VERAS, H. N. H.; RODRIGUES, F. F. G.; BOTELHO, M. A.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M. Enhancement of aminoglycosides and β -lactams antibiotic activity by essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and the Thymol. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S2790–5, 2017.

VIANA, G. S. B.; DO VALE, T. G.; SILVA, C. M. M.; MATOS, F. J. A. Anticonvulsant activity of essential oils and active principles from chemotypes of *Lippia alba* (MILL.) N.E. Brown. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 23, p. 1314-17, 2000.

VINHOLES, J.; RUDNITSKAYA, A.; GONÇALVES, P.; MARTEL, F.; COIMBRA, M. A.; ROCHA, S. M. Hepatoprotection of sesquiterpenoids: A quantitative structure-activity relationship (QSAR) approach. **Food Chemistry**, v. 146, p. 78–84, 2014.

VOZIYAN, P. A.; GOLDNER, C. M.; MELNYKOVYCH, G. Farnesol inhibits phosphatidylcholine biosynthesis in cultured cells by decreasing cholinephosphotransferase activity. **Biochemical Journal**, v. 295, p. 757–62, 1993.

VOZIYAN, P. A.; HAUG, J. S.; MELNYKOVYCH, G. Mechanism of Farnesol Cytotoxicity: Further Evidence for the Role of PKC-Dependent Signal Transduction in Farnesol-Induced Apoptotic Cell Death. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 22, p. 479-86, 1995.

WALKER, M.; CHAN, D.; THOM, M. **Hippocampus and Human Disease**. In ANDERSEN, P.; MORRIS, R.; AMARAL, D.; BLISS, T.; O'KEEFE, J. (editors). The hippocampus book. Oxford University Press; 2006.

- WALSH, R. N.; CUMMINS, R. A. The Open-Field Test: a critical review. **Psychological Bulletin**, v. 83, p. 482-504, 1976.
- WANG, X.; WANG, Y.; ZHOU, Y.; WEI, X. Farnesol induces apoptosis-like cell death in the pathogenic fungus *Aspergillus flavus*. **Mycologia**, v. 106, p. 881–8, 2014.
- WANG, Y.; QIN, Z. H. Molecular and cellular mechanisms of excitotoxic neuronal death. **Apoptosis**, v.15, n.11, p. 1382-402, 2010.
- WASTERLAIN, C. G.; CHEN, J. W. Mechanistic and pharmacologic aspects of status epilepticus and its treatment with new antiepileptic drugs. **Epilepsia**, v. 49, p. 63–73, 2008.
- WASTERLAIN, C. G.; NAYLOR, D. E.; LIU, H.; NIQUET, J.; BALDWIN, R. Trafficking of NMDA receptors during status epilepticus: Therapeutic implications. **Epilepsia**, v. 54, p. 78–80, 2013.
- WAXMAN, S. G.; GESCHWIND, N. Hypergraphia in temporal lobe epilepsy. **Neurology**, v. 24, p. 629–36, 1974.
- WEINSHENKER, D.; SZOT, P.; MILLER, N. S.; PALMITER, R. D. Alpha(1) and beta(2) adrenoreceptor agonists inhibit pentylentetrazole-induced seizures in mice lacking norepinephrine. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 298, p. 1042–8, 2001.
- WESS, J.; BONNER, T. I.; DÖRJE, F.; BRANN, M. R. Delineation of muscarinic receptor domains conferring selectivity of coupling to guanine nucleotide-binding proteins and second messengers. **Molecular Pharmacology**, v. 38, p. 517-523, 1990.
- WHITE, H. S.; LÖSCHER, W. Searching for the ideal antiepileptogenic agent in experimental models: single treatment versus combinatorial treatment strategies. **Neurotherapeutics**, v. 11, n. 2, p. 373-84, 2014.
- WHITE, J. H.; MCILLHINNEY, R. A. J.; WISE, A.; CIRUELA, F.; CHAN, W. Y.; EMSON, P. C.; BILLINTON, A.; MARSHALL, F. H. The GABAB receptor interacts directly with the related transcription factors CREB2 and ATFx. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 25, p. 13967–72, 2000.
- WIESER, H. G.; ILAE Commission on Neurosurgery of Epilepsy. ILAE Commission Report. Mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. **Epilepsia**, v. 45, n. 6, p. 695-714, 2004.
- WILLNER, P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. **Neuropsychobiology**, v. 52, n. 2, p. 90-110, 2005.
- WISEMAN, D. A.; WERNER, S. R.; CROWELL, P. L. Cell Cycle Arrest by the Isoprenoids Perillyl Alcohol, Geraniol, and Farnesol Is Mediated by p21 Cip1 and p27 Kip1 in Human Pancreatic Adenocarcinoma Cells. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 320, p. 1163–70, 2007.
- WITKIN, J. M.; BAEZ, M.; YU, J.; BARTON, M. E.; SHANNON, H. E. Constitutive deletion of the serotonin-7 (5-HT(7)) receptor decreases electrical and chemical seizure thresholds. **Epilepsia Research**, v. 75, p. 39–45, 2007.

YAN, Q. S.; JOBE, P. C.; DAILEY, J. W. Evidence that a serotonergic mechanism is involved in the anticonvulsant effect of fluoxetine in genetically epilepsy-prone rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 252, p. 105–12, 1994.

YANG, L.; LI, S.; WANG, Y.; HUANG, Y. Effects of *Acorus gramineus* and its main component alpha-asarone on the reactivity and convulsive threshold of immature rats to electric stimulation. **Neural Regeneration Research**, v. 1, p. 78-80, 2006.

YAZLOVITSKAYA, E. M.; MELNYKOVYCH, G. Selective farnesol toxicity and translocation of protein kinase C in neoplastic HeLa-S3K and non-neoplastic CF-3 cells. **Cancer Letters**, v. 88, p. 179-83, 1995.

YU, H.; JOVE, R. The STATs of cancer – new molecular targets come of age. **Nature Reviews Cancer**, v. 4, p. 97–105, 2004.

YUSTE, R. Dendritic spines and distributed circuits. **Neuron**, v. 71, n. 5, p. 772-781, 2011.

ZHANG, S.; WON, Y. K.; ONG, C. N.; SHEN, H. M. Anti-cancer potential of sesquiterpene lactones: Bioactivity and molecular mechanisms. **Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents**, v. 5, p. 239–49, 2005.

ZHIHONG, N.; JUANCHAN, H.; WEI, W.; SHAOHONG, M.; DIGUANG, T.; HUAYING, M.; BIFANG, R.; PIN, L.; HOUZHI, L.; ZUOGAN, W. Composition capable dispelling tragomaschalia. **CN101336984**, 2009.

ZUBAREVA, O. E.; KOVALENKO, A. A.; KARYAKIN, V. B.; KALEMENEV, S. V.; LAVRENT'ÉVA, V. V.; MAGAZANIK, L. G; ZAITSEV, A. V. Changes in the Expression of Genes of the Glutamate Transporter and Subunits of the NMDA and AMPA Receptors in the Rat Amygdala in the Lithium–Pilocarpine Model of Epilepsy. **Neurochemical Journal**, v. 12, n. 3, p. 222–7, 2018.

ZUBERI, S. M.; SYMONDS, J. D. Update on diagnosis and management of childhood epilepsies. **Jornal de Pediatria**, v. 91, n. 6, p. 67-77, 2015.

PRODUÇÃO CIENTÍFICA DURANTE O MESTRADO

PRODUÇÃO CIENTÍFICA DURANTE O MESTRADO

Artigos publicados:

- DIAS, D. Q.; SALES, D. L.; ANDRADE, J. C.; DA SILVA, A. R. P.; TINTINO, S. R.; OLIVEIRA, C. D. M.; **DELMONDES, G. A.**; BARBOSA, M. O.; COUTINHO, H. D. M.; FERREIRA, F. S.; ROCHA, M. F. G.; NAVARRO, D. M. A. F.; ROCHA, K. L.; COSTA, J. G. M.; ALVES, R. R. N.; ALMEIDA, W. O. Antibacterial and antibiotic modifying activity evaluation of ruminants' body fat used as zootherapeutics in ethnoveterinary practices in Northeast Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* (IF: **3,414**), v. 233, p. 87-93, 2019.
- DIAS, D. Q.; SALES, D. L.; ANDRADE, J. C.; DA SILVA, A. R. P.; TINTINO, S. R.; OLIVEIRA-TINTINO, C. D. M.; **DELMONDES, G. A.**; ROCHA, M. F. G.; COSTA, J. G. M.; ALVES, R. R. N.; FERREIRA, F. S.; COUTINHO, H. D. M.; ALMEIDA, W. O. GC-MS analysis of the fixed oil from *Sus scrofa domesticus* Linnaeus (1758) and antimicrobial activity against bacteria with veterinary interest. *Chemistry and Physics of Lipids* (IF: **2,536**), v. 219, p. 23-27, 2019.
- **DELMONDES, G. A.**; BEZERRA, D. S.; DIAS, D. Q.; BORGES, A. S.; ARAUJO, I. M.; CUNHA, G. L.; BANDEIRA, P. F. R.; BARBOSA, R.; COUTINHO, H. D. M.; FELIPE, C. F. B.; BARBOSA-FILHO, J. M.; MENEZES, I. R. A.; KERNTOPF, M. R. TOXICOLOGICAL AND PHARMACOLOGIC EFFECTS OF FARNESOL (C₁₅H₂₆O): A DESCRIPTIVE SYSTEMATIC REVIEW. *Food and Chemical Toxicology* (IF: **3,775**), v. 129, p. 169-200, 2019.
- SOUZA, D. O.; SALES, V. S.; RODRIGUES, C. K. S.; OLIVEIRA, L. R.; LEMOS, I. C. S.; **DELMONDES, G. A.**; MONTEIRO, A. B.; NASCIMENTO, E. P.; DANTAS NÓBREGA DE FIGUEIREDO, F. R. S.; COSTA, J. G. M.; CRUZ, G. M. P.; VIANA, G. S. B.; BARBOSA, R.; MENEZES I. R. A.; FELIPE, C. F. B.; KERNTOPF, M. R. Phytochemical analysis and central effects of *Annona muricata* Linnaeus: possible involvement of the GABAergic and monoaminergic systems. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* (IF: **1,372**), v. 17, p. 1306-1317, 2018.
- SIEBRA, A. L. A.; OLIVEIRA, L. R.; MARTINS, A. O. B. P. B.; SIEBRA, D. C.; ALBUQUERQUE, R. S.; LEMOS, I. C. S.; **DELMONDES, G. A.**; TINTINO, S. R.; FIGUEIREDO, F. G.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A.; FELIPE, C. F. B.; KERNTOPF, M. R. Potentiation of antibiotic activity by *Passiflora cincinnata* Mast. front of strains *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Saudi Journal Of Biological Sciences* (IF: **3,138**), v. 25, p. 37-43, 2018.
- SALES, V. S.; MONTEIRO, A. B.; **DELMONDES, G. A.**; NASCIMENTO, E. P.; FIGUEIREDO, F. R. S. D. N.; RODRIGUES, C. K. S.; LACERDA, J. F. E.; FERNANDES, C. N.; BARBOSA, M. O.; TINTINO, S. R.; GOMEZ, M. C. V.; CORONEL, C.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; FELIPE, C. F. B.; MENEZES, I. R. A.; KERNTOPF, M. R. Antiparasitic activity and essential oil chemical analysis of the *Piper tuberculatum* Jacq fruit. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* (IF: **1,372**), v. 17, p. 268-275, 2018.

- FIGUEIREDO, F. R. S. D. N.; BITU PRIMO, A. J.; BRITO MONTEIRO, A.; RELISON TINTINO, S.; **DE ARAÚJO DELMONDES, G.**; DOS SANTOS SALES, V.; DE SOUZA RODRIGUES, C. K.; BEZERRA FELIPE, C. F.; MELO COUTINHO, H. D.; KERNTOPF, M. R. Avaliação da atividade moduladora e citotóxica do óleo essencial das folhas de *Hyptis martiusii* Benth. **Revista Ciencias De La Salud**, v. 16, p. 49-58, 2018.
- DE QUEIROZ DIAS, D.; SALES, D. L.; ANDRADE, J. C.; PEREIRA DA SILVA, A. R.; TINTINO, S. R.; DATIANE DE MORAIS OLIVEIRA-TINTINO, C.; **DE ARAÚJO DELMONDES, G.**; GADELHA ROCHA, M. F.; MARTINS DA COSTA, J. G.; ROMEU DA NÓBREGA ALVES, R.; FERREIRA, F. S.; MELO COUTINHO, H. D.; DE OLIVEIRA ALMEIDA, W. Body fat modulated activity of *Gallus gallus domesticus* Linnaeus (1758) and *Meleagris gallopavo* Linnaeus (1758) in association with antibiotics against bacteria of veterinary interest. **Microbial Pathogenesis (IF: 2,332)**, v. 124, p. 163-169, 2018.
- SALES, V. S.; NASCIMENTO, E. P.; MONTEIRO, A. B.; COSTA, M. H. N.; **DELMONDES, G. A.**; SOARES, T. R. C.; TINTINO, S. R.; DANTAS NÓBREGA DE FIGUÊIREDO, F. R. S.; RODRIGUES, C. K. S.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; FELIPE, C. F. B.; MENEZES, I. R. A.; KERNTOPF, M. R. Modulação *in vitro* da atividade antibiótica pelo óleo essencial dos frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. **Revista Cubana De Plantas Medicinales**, v. 22, p. 1, 2017.

Artigos aceitos:

- SANTOS, E. S.; OLIVEIRA, C. D. M.; MENEZES, I. R. A.; NASCIMENTO, E. P.; CORREIA, D. B.; ALENCAR, C. D. C.; SOUSA, M. F.; LIMA, C. N. F.; MONTEIRO, A. B.; SOUZA, C. P. E.; **DELMONDES, G. A.**; BEZERRA, D. S.; GARCIA, F. A. O.; BOLIGON, A. A.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; FELIPE, C. F. B.; KERNTOPF, M. R. . Anti-Inflammatory Activity of herb products from *Licania rigida* Benth. **Complementary Therapies in Medicine (IF: 1,979)**, 2019.
- MONTEIRO, A. B.; LACERDA, G. M.; TINTINO, S. R.; **DELMONDES, G. A.**; CARVALHO, T. B.; SOUSA, J. P.; SOARES, T. R. C.; CRUZ, L. P.; LEMOS, I. C. S.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M.; KERNTOPF, M. R. Modulação *in vitro* da atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico das folhas de *Annona coriacea* (Mart.). **Revista Cubana De Farmacia (Impresa)**, 2018.
- CRUZ, L. P.; FERNANDES, C.N.; GOMEZ, M. C. V.; MONTEIRO, A. B.; NASCIMENTO, E. P.; SALES, V. S.; RODRIGUES, C. K. S.; FIGUEIREDO, F. R. S. D. N.; **DE ARAÚJO DELMONDES, G.**; TINTINO, S. R.; COSTA, J. G. M.; FELIPE, C. F. B.; MENEZES I.R.A.; COUTINHO, H. D. M.; KERNTOPF, M. R. Evaluación de la actividad anti-*Trypanosoma* y anti-*Leishmania* del extracto etanólico de las hojas *Duguetia furfuracea*. **Revista Ciencias De La Salud**, 2018.

Capítulos de livros publicados:

- DE QUEIROZ DIAS, D.; SALES, D. L.; FERREIRA, F. S.; LEMOS, I. C. S.; **DE ARAÚJO DELMONDES, G.**; SILVA, R. E. R.; COSTA, J. G. M.; KERNPTOF, M.

- R.; COUTINHO, H. D. M.; ALVES, R. R. N.; ALMEIDA, W. O. **Evaluation of the Antibacterial and Modulatory Activities of Zootherapeutics.** In: ALBUQUERQUE U.; DE LUCENA R.; CRUZ DA CUNHA L.; ALVES R. (Org.). *Methods and Techniques in Ethnobiology and Ethnoecology.* 1ed. New York, NY: Springer Protocols Handbooks. Humana Press, 2018, p. 285-292.
- LEMOS, I.C.S.; **DE ARAÚJO DELMONDES, G.**; DE QUEIROZ DIAS, D.; DE MENEZES, I.R.A.; FERNANDES, G.P.; KERNTOPF M.R. **Discourse of the Collective Subject as a Method for Analysis of Data in Ethnobiological Research.** In: ALBUQUERQUE U.; DE LUCENA R.; CRUZ DA CUNHA L.; ALVES R. (Org.). *Methods and Techniques in Ethnobiology and Ethnoecology.* 1ed. New York, NY: Springer Protocols Handbooks. Humana Press, 2018, p. 55-67.

ANEXOS

ANEXO 1 – Check-list proposto pelo PRISMA para verificação itens para incluir ao realizar uma revisão sistemática ou metanálise.

| Seção/Tópico | No. | Descrição do item | Reportado na página |
|---------------------------------------|-----|--|---------------------|
| TÍTULO | | | |
| Título | 1 | Identificar o relato como RS, metanálise ou ambos. | |
| RESUMO | | | |
| Resumo estruturado | 2 | Elaborar resumo estruturado, incluindo: <i>background</i> , objetivos, fonte de dados, critérios de elegibilidade, participantes, intervenção, síntese dos métodos, resultados, limitações, conclusões, implicações dos resultados e número de registro da RS. | |
| INTRODUÇÃO | | | |
| Fundamentação | 3 | Descrever o racional da revisão no contexto atual das evidências. | |
| Objetivos | 4 | Questão estruturada no formato PICO. | |
| MÉTODOS | | | |
| Protocolo e registro | 5 | Indicar se existe um protocolo da revisão, se pode ser acessado via Web, e se disponível, informações sobre o registro de número do protocolo. | |
| Crítérios de Elegibilidade | 6 | Especificar as características dos estudos, (ex.: PICO, tempo de seguimento), características dos estudos (ex.: período considerado, língua, status da publicação) utilizados para definir os critérios, fornecendo o racional. | |
| Fonte de Informação | 7 | Descrever todas as fontes de informações pesquisadas, com período da busca, contato com autores. | |
| Busca | 8 | Apresentar pelo menos uma estratégia de busca na íntegra e garantir sua reprodutibilidade. | |
| Seleção dos estudos | 9 | Processo da seleção dos estudos: triagem, elegibilidade, estudos incluídos, excluídos... | |
| Processo de coleta de dados | 10 | Método de extração (dois revisores, independentes, ficha clínica, resolução de divergências...). | |
| Dados coletados | 11 | Lista e define todas as variáveis para cada dado pesquisado (ex.: PICO, fonte de recursos...) e qualquer pressuposições e simplificações feitas. | |
| Risco de viés nos estudos individuais | 12 | Descrever os métodos usados para avaliar o risco de viés dos estudos individuais, insere o conceito de “viés em nível de desfecho” e define como esta informação será usada nas análises. | |
| Medidas de efeito | 13 | Definição das medidas utilizadas (ex.: risco relativo, razão de chance, diferenças em médias...). | |
| Síntese dos resultados | 14 | Descrever métodos de manipulação dos dados e combinação dos resultados dos estudos, se realizado, incluindo medidas de consistência para cada metanálise (ex.: I ²). | |
| Risco de viés entre os estudos | 15 | Especificar qualquer acesso ao risco de vieses que possa afetar a revisão (ex.: viés de publicação, de relato de desfecho...). | |
| Análises adicionais | 16 | Descrever análises de sensibilidade, de subgrupos, metaregressão, indicando quais foram pré-especificadas em protocolo. | |
| RESULTADOS | | | |
| Seleção dos estudos | 17 | Nº de estudos triados, nº de submetidos à avaliação da elegibilidade, nº de | |

| | | |
|------------------------------------|----|---|
| | | incluídos na revisão, razões das exclusões, em cada estágio, idealmente com o diagrama de fluxo. |
| Características dos estudos | 18 | Para cada estudo apresentar tamanho de amostra, PICO, período de seguimento, sempre com citações. |
| Risco de viés entre os estudos | 19 | Apresentar dados sobre o risco de viés de cada estudo e se disponível, qualquer acesso em nível de desfecho (ver item 12). |
| Resultados dos estudos individuais | 20 | Para todos os desfechos considerados (benefícios e danos), apresentar as estimativas de efeito, intervalo de confiança, idealmente com gráfico de floresta (Forest plot). |
| Síntese dos resultados | 21 | Apresentar resultados para cada metanálise feita, incluindo intervalos de confiança e medidas de consistência. |
| Risco de viés nos estudos | 22 | Apresentar resultados de qualquer risco de viés (ver item 15). |
| Análises adicionais | 23 | Fornecer resultados de análises adicionais, se feitas. Ex.: sensibilidade, subgrupos, meta-regressão.(ver item 16). |

DISCUSSÃO

| | | |
|----------------------|----|--|
| Sumário da evidência | 24 | Sumarizar os principais achados, incluindo a força da evidência para cada desfecho principal; considerar sua relevância para grupos-chaves (ex.: profissionais de saúde, usuários, gestores...). |
| Limitações | 25 | Discutir as limitações nos estudos, em nível de desfechos (risco de viés) e em nível de revisão (viés de seleção, publicação...). |
| Conclusões | 26 | Fornecer uma interpretação geral dos resultados no contexto das demais evidências e implicações para pesquisas futuras. |

FONTES FINANCIADORAS

- | | |
|----|--|
| 27 | Descrever as fontes financiadoras para a revisão e outros suportes, função dos financiadores da revisão. |
|----|--|

RS – Revisão Sistemática; PICO – P = população, I = Intervenção, C = controle, O = desfecho.

FONTE: Moher et al., 2009.

ANEXO 2 – Declaração de aprovação do projeto pela Comissão de Experimentação e Uso de Animais – CEUA da Universidade Regional do Cariri – URCA.



UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COMISSÃO DE EXPERIMENTAÇÃO E USO DE ANIMAIS
Rua Cel. Antonio Luis 1161, Pimenta
Fones: (088) 3102.1291 / Fax: (088) 3102.1291
CEP 63105-000 – Crato - CE - Brasil
propg@urca.br - www.urca.br/ceua



DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que o projeto intitulado “**AVALIAÇÃO DO EFEITO NEUROPROTETOR DO FARNESOL EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À CONVULSÃO INDUZIDA POR PENTILENOTETRAZOL E PILOCARPINA**”, Processo Nº 00.128/2017 foi **APROVADO** pela Comissão de experimentação e Uso de Animais – CEUA/URCA.

Roseli Barbosa
Presidente do CEUA/URCA

CRATO-CE
2017

ANEXO 3 – Tabela de Malone (1977) adaptada para teste hipocrático.

| MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS | TEMPO DE OBSERVAÇÃO | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|---------------------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | Dia 1 | | | | | | | | | | | Dia 2 | Dia 3 | Dia 4 | Dia 5 | Dia 6 | Dia 7 | Dia 8 | Dia 9 | Dia 10 | Dia 11 | Dia 12 | Dia 13 | Dia 14 |
| | 5 min | 15 min | 30 min | 60 min | 90 min | 120 min | 150 min | 180 min | 210 min | 240 min | | | | | | | | | | | | | | |
| Coçar focinho | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Frequência respiratória | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Hiperlocomoção | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Lamber patas | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Morder cauda | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Piloereção | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Tremores finos | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Tremores grosseiros | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Analgesia | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Ataxia | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Dispneia | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Frequência respiratória | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Hipnose | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Hipolocomoção | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Perda de apreensão da pata | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Sedação | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Contorção abdominal | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Convulsões | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Cromodacriorréia | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Defecação | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Diarreia | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Hipotermia | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Letargia | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Micção | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Midríase | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Miose | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Paralisia do trem posterior | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Piloereção | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Ptose palpebral | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Salivação | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Secreção brônquica | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Sudorese | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Morte | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MASSA CORPORAL | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | | | | | | | | | | | | | | |

Legenda: A – Ausente / N - Normal / P - Presente / + - Baixa intensidade / ++ - Média intensidade / +++ - Alta intensidade / ↑ - Aumento / ↓ - Diminuição

ANEXO 4 – Comprovante de publicação do artigo intitulado “TOXICOLOGICAL AND PHARMACOLOGIC EFFECTS OF FARNESOL (C₁₅H₂₆O): A DESCRIPTIVE SYSTEMATIC REVIEW” na revista *Food and Chemical Toxicology* (IF: 3,775, Qualis na Biodiversidade: A2).

Food and Chemical Toxicology 129 (2019) 169–200

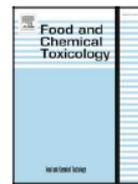


ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Food and Chemical Toxicology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodchemtox



Toxicological and pharmacologic effects of farnesol (C₁₅H₂₆O): A descriptive systematic review



Gyllyandeson de Araújo Delmondes^a, Daniel Souza Bezerra^a, Diógenes de Queiroz Dias^a, Alex de Souza Borges^a, Isaac Moura Araújo^a, Glacithane Lins da Cunha^a, Paulo Felipe Ribeiro Bandeira^a, Roseli Barbosa^a, Henrique Douglas Melo Coutinho^{a,**}, Cícero Francisco Bezerra Felipe^b, José Maria Barbosa-Filho^b, Irwin Rose Alencar de Menezes^{a,***}, Marta Regina Kerntopf^{a,*}

^a Regional University of Cariri (URCA), Crato, CE, Brazil

^b Federal University of Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB, Brazil

ANEXO 5 – Comprovante de submissão do manuscrito intitulado “FARNESOL (C₁₅H₂₆O) USE IN PHARMACEUTICAL PRODUCT FORMULATIONS: A PATENT REVIEW” na revista *Pharmacological Reports* (IF: 2,787).

The screenshot shows a web browser window with the URL https://www.evise.com/evise/faces/pages/homepage/homepage.jspx?_adf.ctrl-state=fepip706f_4. The page header includes the journal title "Pharmacological Reports" and the Elsevier logo. The user is identified as "Henrique Douglas Coutinho" with options for "My Journals", "Log Out", and "Help".

Under the "My Author Tasks" section, there is a "Start New Submission" button and a link to view submissions with a final decision.

The "My Submissions with Journal (1)" section displays the following submission details:

| | |
|---|----------------------------------|
| FARNESOL (C₁₅H₂₆O) USE IN PHARMACEUTICAL PRODUCT FORMULATIONS: A PATENT REVIEW | PHAREP_2018_547 |
| Current status: Under Review (13/Nov/2018) | Field Editor: Danuta Jantas |
| View Editor/Reviewer comments | Article Type: Review Article |
| | Initial submission : 26/Sep/2018 |

The Windows taskbar at the bottom shows the search bar with the text "Digite aqui para pesquisar" and the system tray with the date and time "11:49 19/11/2018".

APÊNDICES

APÊNDICE 1 – Coluna Estatística da Massa Inicial (dia 0) e Massa Final (14° dia) dos Animais Submetidos ao Teste de Toxicidade Aguda pela Administração Oral do Farnesol.

| Row stats | | A | | | B | | |
|-----------|----------------------|--------|-------|---|-----------|-------|---|
| | | CL | | | FAR 5.000 | | |
| | | Mean | SEM | N | Mean | SEM | N |
| 1 | Initial mass (0-day) | 31.280 | 0.595 | 3 | 28.070 | 0.860 | 3 |
| 2 | Final mass (14-da | 30.937 | 0.667 | 3 | 26.620 | 1.264 | 3 |
| 3 | | | | | | | |

APÊNDICE 2 – *Analyze* da Massa Inicial (dia 0) e Massa Final (14° dia) dos Animais Submetidos ao Teste de Toxicidade Aguda pela Administração Oral do Farnesol.

| 2way ANOVA Multiple comparisons | | A | B | C | D | E | F | G | H |
|------------------------------------|---|------------|-----------------|--------------|-------------|------------------|------------|------------|------------|
| | | Data Set-A | Data Set-B | Data Set-C | Data Set-D | Data Set-E | Data Set-F | Data Set-G | Data Set-H |
| 1 | Compare each cell mean with the other cell mean in that column. | Y | Y | Y | Y | Y | Y | Y | Y |
| 2 | | | | | | | | | |
| 3 | Number of families | 1 | | | | | | | |
| 4 | Number of comparisons per family | 2 | | | | | | | |
| 5 | Alpha | 0.05 | | | | | | | |
| 6 | | | | | | | | | |
| 7 | Bonferroni's multiple comparisons test | Mean Diff. | 95% CI of diff. | Significant? | Summary | Adjusted P Value | | | |
| 8 | | | | | | | | | |
| 9 | Initial mass (0-day) - Final mass (14-day) | | | | | | | | |
| 10 | CL | 0.3433 | -3.102 to 3.788 | No | ns | > 0.9999 | | | |
| 11 | FAR 5.000 | 1.450 | -1.995 to 4.895 | No | ns | 0.5605 | | | |
| 12 | | | | | | | | | |
| 13 | | | | | | | | | |
| 14 | Test details | Mean 1 | Mean 2 | Mean Diff. | SE of diff. | N1 | N2 | t | DF |
| 15 | | | | | | | | | |
| 16 | Initial mass (0-day) - Final mass (14-day) | | | | | | | | |
| 17 | CL | 31.28 | 30.94 | 0.3433 | 1.252 | 3 | 3 | 0.2742 | 8 |
| 18 | FAR 5.000 | 28.07 | 28.62 | 1.450 | 1.252 | 3 | 3 | 1.158 | 8 |

APÊNDICE 3 – Coluna Estatística do Número de Entradas nos Braços Abertos no Teste do Labirinto em Cruz Elevado.

| | | CL | DZP 1 | 12.5 | 25 | 50 |
|----|--------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1 | Number of values | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| 2 | | | | | | |
| 3 | Minimum | 3.000 | 10.00 | 1.000 | 1.000 | 3.000 |
| 4 | 25% Percentile | 5.250 | 10.00 | 1.000 | 1.750 | 3.000 |
| 5 | Median | 6.500 | 12.00 | 1.000 | 3.500 | 5.000 |
| 6 | 75% Percentile | 7.000 | 14.00 | 2.500 | 4.750 | 6.250 |
| 7 | Maximum | 7.000 | 14.00 | 4.000 | 7.000 | 7.000 |
| 8 | | | | | | |
| 9 | Mean | 6.000 | 12.00 | 1.667 | 3.500 | 4.833 |
| 10 | Std. Deviation | 1.549 | 1.897 | 1.211 | 2.074 | 1.722 |
| 11 | Std. Error of Mean | 0.6325 | 0.7746 | 0.4944 | 0.8466 | 0.7032 |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 4.374 | 10.01 | 0.3957 | 1.324 | 3.026 |
| 14 | Upper 95% CI | 7.626 | 13.99 | 2.938 | 5.676 | 6.641 |
| 15 | | | | | | |

APÊNDICE 4 – *Analyze* do Número de Entradas nos Braços Abertos no Teste do Labirinto em Cruz Elevado.

| 1way ANOVA Multiple comparisons | | | | | | |
|------------------------------------|----------------------------------|-----------------|--------------|-----------------|------------------|----|
| 1 | Number of families | 1 | | | | |
| 2 | Number of comparisons per family | 4 | | | | |
| 3 | Alpha | 0.05 | | | | |
| 4 | | | | | | |
| 5 | Dunn's multiple comparisons test | Mean rank diff. | Significant? | Summary | Adjusted P Value | |
| 6 | | | | | | |
| 7 | CL vs. DZP 1 | -9.083 | No | ns | 0.2865 | |
| 8 | CL vs. 12.5 | 13.08 | Yes | * | 0.0379 | |
| 9 | CL vs. 25 | 7.083 | No | ns | 0.6402 | |
| 10 | CL vs. 50 | 3.500 | No | ns | > 0.9999 | |
| 11 | | | | | | |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Test details | Mean rank 1 | Mean rank 2 | Mean rank diff. | n1 | n2 |
| 14 | | | | | | |
| 15 | CL vs. DZP 1 | 18.42 | 27.50 | -9.083 | 6 | 6 |
| 16 | CL vs. 12.5 | 18.42 | 5.333 | 13.08 | 6 | 6 |
| 17 | CL vs. 25 | 18.42 | 11.33 | 7.083 | 6 | 6 |
| 18 | CL vs. 50 | 18.42 | 14.92 | 3.500 | 6 | 6 |

APÊNDICE 5 – Coluna Estatística do Tempo de Permanência nos Braços Abertos no Teste do Labirinto em Cruz Elevado.

| | | CL | DZP 1 | 12.5 | 25 | 50 |
|-----------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | Number of values | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| 2 | | | | | | |
| 3 | Minimum | 30.00 | 65.00 | 12.00 | 15.00 | 19.00 |
| 4 | 25% Percentile | 41.25 | 75.50 | 12.00 | 17.25 | 22.00 |
| 5 | Median | 54.00 | 109.5 | 32.50 | 42.50 | 45.50 |
| 6 | 75% Percentile | 77.25 | 121.8 | 58.25 | 60.75 | 63.25 |
| 7 | Maximum | 102.0 | 124.0 | 80.00 | 66.00 | 70.00 |
| 8 | | | | | | |
| 9 | Mean | 59.00 | 101.3 | 36.67 | 40.50 | 44.00 |
| 10 | Std. Deviation | 24.84 | 24.14 | 26.06 | 20.77 | 20.38 |
| 11 | Std. Error of Mean | 10.14 | 9.854 | 10.64 | 8.480 | 8.319 |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 32.93 | 76.00 | 9.319 | 18.70 | 22.62 |
| 14 | Upper 95% CI | 85.07 | 126.7 | 64.01 | 62.30 | 65.38 |
| 15 | | | | | | |

APÊNDICE 6 – Análise do Tempo de Permanência nos Braços Abertos no Teste do Labirinto em Cruz Elevado.

| 1way ANOVA Multiple comparisons | | | | | | | | | |
|------------------------------------|-------------------------------------|------------|------------------|--------------|-------------|------------------|----|-------|----|
| 1 | Number of families | 1 | | | | | | | |
| 2 | Number of comparisons per family | 4 | | | | | | | |
| 3 | Alpha | 0.05 | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | | | |
| 5 | Dunnett's multiple comparisons test | Mean Diff. | 95% CI of diff. | Significant? | Summary | Adjusted P Value | | | |
| 6 | | | | | | | | | |
| 7 | CL vs. DZP 1 | -42.33 | -77.48 to -7.190 | Yes | * | 0.0149 | | | |
| 8 | CL vs. 12.5 | 22.33 | -12.81 to 57.48 | No | ns | 0.3052 | | | |
| 9 | CL vs. 25 | 18.50 | -16.64 to 53.64 | No | ns | 0.4646 | | | |
| 10 | CL vs. 50 | 15.00 | -20.14 to 50.14 | No | ns | 0.6373 | | | |
| 11 | | | | | | | | | |
| 12 | | | | | | | | | |
| 13 | Test details | Mean 1 | Mean 2 | Mean Diff. | SE of diff. | n1 | n2 | q | DF |
| 14 | | | | | | | | | |
| 15 | CL vs. DZP 1 | 59.00 | 101.3 | -42.33 | 13.48 | 6 | 6 | 3.140 | 25 |
| 16 | CL vs. 12.5 | 59.00 | 36.67 | 22.33 | 13.48 | 6 | 6 | 1.657 | 25 |
| 17 | CL vs. 25 | 59.00 | 40.50 | 18.50 | 13.48 | 6 | 6 | 1.372 | 25 |
| 18 | CL vs. 50 | 59.00 | 44.00 | 15.00 | 13.48 | 6 | 6 | 1.113 | 25 |

APÊNDICE 7 – Coluna Estatística do Número de Entrada nos Braços Fechados no Teste do Labirinto em Cruz Elevado.

| | | CL | DZP 1 | 12.5 | 25 | 50 |
|----|--------------------|-------|--------|--------|-------|--------|
| 1 | Number of values | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| 2 | | | | | | |
| 3 | Minimum | 5.000 | 2.000 | 5.000 | 5.000 | 8.000 |
| 4 | 25% Percentile | 7.250 | 2.750 | 5.000 | 5.750 | 8.750 |
| 5 | Median | 10.00 | 4.500 | 6.500 | 7.500 | 10.00 |
| 6 | 75% Percentile | 11.50 | 6.500 | 8.500 | 11.00 | 11.25 |
| 7 | Maximum | 13.00 | 8.000 | 10.00 | 14.00 | 12.00 |
| 8 | | | | | | |
| 9 | Mean | 9.500 | 4.667 | 6.833 | 8.333 | 10.00 |
| 10 | Std. Deviation | 2.739 | 2.160 | 1.941 | 3.266 | 1.414 |
| 11 | Std. Error of Mean | 1.118 | 0.8819 | 0.7923 | 1.333 | 0.5774 |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 6.626 | 2.400 | 4.797 | 4.906 | 8.516 |
| 14 | Upper 95% CI | 12.37 | 6.934 | 8.870 | 11.76 | 11.48 |

APÊNDICE 8 – *Analyze* do Número de Entrada nos Braços Fechados no Teste do Labirinto em Cruz Elevado.

| 1way ANOVA Multiple comparisons | | | | | | |
|------------------------------------|----------------------------------|-----------------|--------------|-----------------|------------------|----|
| 1 | Number of families | 1 | | | | |
| 2 | Number of comparisons per family | 4 | | | | |
| 3 | Alpha | 0.05 | | | | |
| 4 | | | | | | |
| 5 | Dunn's multiple comparisons test | Mean rank diff. | Significant? | Summary | Adjusted P Value | |
| 6 | | | | | | |
| 7 | CL vs. DZP 1 | 14.08 | Yes | * | 0.0208 | |
| 8 | CL vs. 12.5 | 8.250 | No | ns | 0.4059 | |
| 9 | CL vs. 25 | 4.250 | No | ns | > 0.9999 | |
| 10 | CL vs. 50 | -2.000 | No | ns | > 0.9999 | |
| 11 | | | | | | |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Test details | Mean rank 1 | Mean rank 2 | Mean rank diff. | n1 | n2 |
| 14 | | | | | | |
| 15 | CL vs. DZP 1 | 20.42 | 6.333 | 14.08 | 6 | 6 |
| 16 | CL vs. 12.5 | 20.42 | 12.17 | 8.250 | 6 | 6 |
| 17 | CL vs. 25 | 20.42 | 16.17 | 4.250 | 6 | 6 |
| 18 | CL vs. 50 | 20.42 | 22.42 | -2.000 | 6 | 6 |

APÊNDICE 9 – Coluna Estatística do Tempo de Permanência nos Braços Fechados no Teste do Labirinto em Cruz Elevado.

| | | CL | DZP 1 | 12.5 | 25 | 50 |
|-----------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | | | | | |
| 1 | Number of values | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| 2 | | | | | | |
| 3 | Minimum | 196.0 | 115.0 | 221.0 | 212.0 | 188.0 |
| 4 | 25% Percentile | 211.8 | 139.8 | 241.3 | 222.5 | 212.0 |
| 5 | Median | 238.5 | 155.0 | 265.5 | 252.0 | 239.5 |
| 6 | 75% Percentile | 246.3 | 179.8 | 284.3 | 277.3 | 250.5 |
| 7 | Maximum | 265.0 | 194.0 | 285.0 | 278.0 | 252.0 |
| 8 | | | | | | |
| 9 | Mean | 232.5 | 157.0 | 261.5 | 249.5 | 231.5 |
| 10 | Std. Deviation | 23.48 | 27.00 | 24.30 | 26.67 | 25.04 |
| 11 | Std. Error of Mean | 9.587 | 11.02 | 9.922 | 10.89 | 10.22 |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 207.9 | 128.7 | 236.0 | 221.5 | 205.2 |
| 14 | Upper 95% CI | 257.1 | 185.3 | 287.0 | 277.5 | 257.8 |
| 15 | | | | | | |

APÊNDICE 11 – Coluna Estatística do Número de Cruzamentos no Teste do Campo Aberto.

| | | CL | DZP 2 | 12,5 | 25 | 50 |
|----|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | | | | | |
| 1 | Number of values | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| 2 | | | | | | |
| 3 | Minimum | 85.00 | 46.00 | 27.00 | 40.00 | 27.00 |
| 4 | 25% Percentile | 93.50 | 51.75 | 35.00 | 42.00 | 58.00 |
| 5 | Median | 101.0 | 60.50 | 46.00 | 51.00 | 58.00 |
| 6 | 75% Percentile | 114.0 | 69.50 | 59.50 | 67.00 | 74.25 |
| 7 | Maximum | 123.0 | 78.00 | 64.00 | 90.00 | 89.00 |
| 8 | | | | | | |
| 9 | Mean | 103.5 | 61.00 | 46.38 | 56.25 | 61.38 |
| 10 | Std. Deviation | 12.74 | 10.92 | 13.35 | 17.18 | 17.95 |
| 11 | Std. Error of Mean | 4.504 | 3.859 | 4.721 | 6.073 | 6.347 |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 92.85 | 51.87 | 35.21 | 41.89 | 46.37 |
| 14 | Upper 95% CI | 114.2 | 70.13 | 57.54 | 70.61 | 76.38 |

APÊNDICE 12 – *Analyze* do Número de Cruzamentos no Teste do Campo Aberto.

| 1way ANOVA Multiple comparisons | | | | | | |
|------------------------------------|----------------------------------|-----------------|--------------|-----------------|------------------|----|
| 1 | Number of families | 1 | | | | |
| 2 | Number of comparisons per family | 4 | | | | |
| 3 | Alpha | 0.05 | | | | |
| 4 | | | | | | |
| 5 | Dunn's multiple comparisons test | Mean rank diff. | Significant? | Summary | Adjusted P Value | |
| 6 | | | | | | |
| 7 | CL vs. DZP 2 | 16.50 | Yes | * | 0.0190 | |
| 8 | CL vs. 12,5 | 25.75 | Yes | **** | < 0.0001 | |
| 9 | CL vs. 25 | 20.44 | Yes | ** | 0.0019 | |
| 10 | CL vs. 50 | 16.06 | Yes | * | 0.0239 | |
| 11 | | | | | | |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Test details | Mean rank 1 | Mean rank 2 | Mean rank diff. | n1 | n2 |
| 14 | | | | | | |
| 15 | CL vs. DZP 2 | 36.25 | 19.75 | 16.50 | 8 | 8 |
| 16 | CL vs. 12,5 | 36.25 | 10.50 | 25.75 | 8 | 8 |
| 17 | CL vs. 25 | 36.25 | 15.81 | 20.44 | 8 | 8 |
| 18 | CL vs. 50 | 36.25 | 20.19 | 16.06 | 8 | 8 |

APÊNDICE 13 – Coluna Estatística do Número de *Rearing* no Teste do Campo Aberto.

| | | CL | DZP 2 | 12,5 | 25 | 50 |
|----|--------------------|-------|---------|--------|-------|-------|
| 1 | Number of values | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| 2 | | | | | | |
| 3 | Minimum | 3.000 | 0.0 | 0.0 | 1.000 | 2.000 |
| 4 | 25% Percentile | 8.250 | 0.0 | 1.250 | 2.000 | 3.250 |
| 5 | Median | 10.50 | 0.0 | 3.500 | 5.000 | 7.500 |
| 6 | 75% Percentile | 14.50 | 0.7500 | 5.500 | 5.750 | 12.25 |
| 7 | Maximum | 22.00 | 2.000 | 13.00 | 10.00 | 17.00 |
| 8 | | | | | | |
| 9 | Mean | 11.38 | 0.3750 | 4.125 | 4.500 | 8.000 |
| 10 | Std. Deviation | 5.630 | 0.7440 | 4.051 | 2.878 | 5.345 |
| 11 | Std. Error of Mean | 1.990 | 0.2631 | 1.432 | 1.018 | 1.890 |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 6.668 | -0.2470 | 0.7382 | 2.093 | 3.531 |
| 14 | Upper 95% CI | 16.08 | 0.9970 | 7.512 | 6.907 | 12.47 |

APÊNDICE 14 – *Analyze do Número de Rearing no Teste do Campo Aberto.*

| 1way ANOVA Multiple comparisons | | | | | | |
|------------------------------------|----------------------------------|-----------------|--------------|-----------------|------------------|----|
| 1 | Number of families | 1 | | | | |
| 2 | Number of comparisons per family | 4 | | | | |
| 3 | Alpha | 0.05 | | | | |
| 4 | | | | | | |
| 5 | Dunn's multiple comparisons test | Mean rank diff. | Significant? | Summary | Adjusted P Value | |
| 6 | | | | | | |
| 7 | CL vs. DZP 2 | 25.75 | Yes | **** | < 0.0001 | |
| 8 | CL vs. 12,5 | 13.31 | No | ns | 0.0885 | |
| 9 | CL vs. 25 | 11.00 | No | ns | 0.2345 | |
| 10 | CL vs. 50 | 4.938 | No | ns | > 0.9999 | |
| 11 | | | | | | |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Test details | Mean rank 1 | Mean rank 2 | Mean rank diff. | n1 | n2 |
| 14 | | | | | | |
| 15 | CL vs. DZP 2 | 31.50 | 5.750 | 25.75 | 8 | 8 |
| 16 | CL vs. 12,5 | 31.50 | 18.19 | 13.31 | 8 | 8 |
| 17 | CL vs. 25 | 31.50 | 20.50 | 11.00 | 8 | 8 |
| 18 | CL vs. 50 | 31.50 | 26.56 | 4.938 | 8 | 8 |

APÊNDICE 15 – Coluna Estatística do Número de *Grooming* no Teste do Campo Aberto.

| | | CL | DZP 2 | 12,5 | 25 | 50 |
|-----------|--------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1 | Number of values | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| 2 | | | | | | |
| 3 | Minimum | 1.000 | 0.0 | 0.0 | 1.000 | 1.000 |
| 4 | 25% Percentile | 2.500 | 0.2500 | 1.250 | 2.000 | 1.250 |
| 5 | Median | 4.000 | 1.000 | 2.000 | 2.500 | 2.500 |
| 6 | 75% Percentile | 5.750 | 1.750 | 2.750 | 3.000 | 3.750 |
| 7 | Maximum | 10.00 | 2.000 | 3.000 | 5.000 | 5.000 |
| 8 | | | | | | |
| 9 | Mean | 4.500 | 1.000 | 1.875 | 2.625 | 2.625 |
| 10 | Std. Deviation | 2.726 | 0.7559 | 0.9910 | 1.188 | 1.408 |
| 11 | Std. Error of Mean | 0.9636 | 0.2673 | 0.3504 | 0.4199 | 0.4978 |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 2.221 | 0.3680 | 1.046 | 1.632 | 1.448 |
| 14 | Upper 95% CI | 6.779 | 1.632 | 2.704 | 3.618 | 3.802 |

APÊNDICE 16 – *Analyze do Número de Grooming no Teste do Campo Aberto.*

| 1way ANOVA Multiple comparisons | | | | | | |
|------------------------------------|----------------------------------|-----------------|--------------|-----------------|------------------|----|
| 1 | Number of families | 1 | | | | |
| 2 | Number of comparisons per family | 4 | | | | |
| 3 | Alpha | 0.05 | | | | |
| 4 | | | | | | |
| 5 | Dunn's multiple comparisons test | Mean rank diff. | Significant? | Summary | Adjusted P Value | |
| 6 | | | | | | |
| 7 | CL vs. DZP 2 | 21.25 | Yes | *** | 0.0008 | |
| 8 | CL vs. 12,5 | 12.88 | No | ns | 0.0970 | |
| 9 | CL vs. 25 | 7.313 | No | ns | 0.8022 | |
| 10 | CL vs. 50 | 7.938 | No | ns | 0.6589 | |
| 11 | | | | | | |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Test details | Mean rank 1 | Mean rank 2 | Mean rank diff. | n1 | n2 |
| 14 | | | | | | |
| 15 | CL vs. DZP 2 | 30.38 | 9.125 | 21.25 | 8 | 8 |
| 16 | CL vs. 12,5 | 30.38 | 17.50 | 12.88 | 8 | 8 |
| 17 | CL vs. 25 | 30.38 | 23.06 | 7.313 | 8 | 8 |
| 18 | CL vs. 50 | 30.38 | 22.44 | 7.938 | 8 | 8 |

APÊNDICE 17 – Coluna Estatística do Número de Quedas no Teste do *Rota-rod*.

| | | CL | DZP 5 | 12,5 | 25 | 50 |
|----|--------------------|-----|----------|------|-----|-----|
| 1 | Number of values | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| 2 | | | | | | |
| 3 | Minimum | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 4 | 25% Percentile | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 5 | Median | 0.0 | 0.5000 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 6 | 75% Percentile | 0.0 | 1.000 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 7 | Maximum | 0.0 | 2.000 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 8 | | | | | | |
| 9 | Mean | 0.0 | 0.6250 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 10 | Std. Deviation | 0.0 | 0.7440 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 11 | Std. Error of Mean | 0.0 | 0.2631 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 0.0 | 0.002973 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 14 | Upper 95% CI | 0.0 | 1.247 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |

APÊNDICE 18 – *Analyze do Número de Quedas no Teste do Rota-rod.*

| 1way ANOVA Multiple comparisons | | | | | | |
|------------------------------------|----------------------------------|-----------------|--------------|-----------------|------------------|----|
| 1 | Number of families | 1 | | | | |
| 2 | Number of comparisons per family | 4 | | | | |
| 3 | Alpha | 0.05 | | | | |
| 4 | | | | | | |
| 5 | Dunn's multiple comparisons test | Mean rank diff. | Significant? | Summary | Adjusted P Value | |
| 6 | | | | | | |
| 7 | CL vs. DZP 5 | -10.00 | Yes | ** | 0.0041 | |
| 8 | CL vs. 12,5 | 0.0 | No | ns | > 0.9999 | |
| 9 | CL vs. 25 | 0.0 | No | ns | > 0.9999 | |
| 10 | CL vs. 50 | 0.0 | No | ns | > 0.9999 | |
| 11 | | | | | | |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Test details | Mean rank 1 | Mean rank 2 | Mean rank diff. | n1 | n2 |
| 14 | | | | | | |
| 15 | CL vs. DZP 5 | 18.50 | 28.50 | -10.00 | 8 | 8 |
| 16 | CL vs. 12,5 | 18.50 | 18.50 | 0.0 | 8 | 8 |
| 17 | CL vs. 25 | 18.50 | 18.50 | 0.0 | 8 | 8 |
| 18 | CL vs. 50 | 18.50 | 18.50 | 0.0 | 8 | 8 |
| 19 | | | | | | |

APÊNDICE 19 – Coluna Estatística do Tempo de Permanência no Teste do *Rota-rod*.

| | | CL | DZP 5 | 12,5 | 25 | 50 |
|-----------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | | | | | |
| 1 | Number of values | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| 2 | | | | | | |
| 3 | Minimum | 60.00 | 50.00 | 60.00 | 60.00 | 60.00 |
| 4 | 25% Percentile | 60.00 | 55.50 | 60.00 | 60.00 | 60.00 |
| 5 | Median | 60.00 | 59.00 | 60.00 | 60.00 | 60.00 |
| 6 | 75% Percentile | 60.00 | 60.00 | 60.00 | 60.00 | 60.00 |
| 7 | Maximum | 60.00 | 60.00 | 60.00 | 60.00 | 60.00 |
| 8 | | | | | | |
| 9 | Mean | 60.00 | 57.50 | 60.00 | 60.00 | 60.00 |
| 10 | Std. Deviation | 0.0 | 3.546 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 11 | Std. Error of Mean | 0.0 | 1.254 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 60.00 | 54.54 | 60.00 | 60.00 | 60.00 |
| 14 | Upper 95% CI | 60.00 | 60.46 | 60.00 | 60.00 | 60.00 |

APÊNDICE 20 – *Analyse do Tempo de Permanência no Teste do Rota-rod.*

| 1way ANOVA Multiple comparisons | | | | | | | | | |
|------------------------------------|-------------------------------------|------------|-----------------|--------------|-------------|------------------|----|-------|----|
| 1 | Number of families | 1 | | | | | | | |
| 2 | Number of comparisons per family | 4 | | | | | | | |
| 3 | Alpha | 0.05 | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | | | |
| 5 | Dunnett's multiple comparisons test | Mean Diff. | 95% CI of diff. | Significant? | Summary | Adjusted P Value | | | |
| 6 | | | | | | | | | |
| 7 | CL vs. DZP 5 | 2.500 | 0.4719 to 4.528 | Yes | * | 0.0117 | | | |
| 8 | CL vs. 12,5 | 0.0 | -2.028 to 2.028 | No | ns | > 0.9999 | | | |
| 9 | CL vs. 25 | 0.0 | -2.028 to 2.028 | No | ns | > 0.9999 | | | |
| 10 | CL vs. 50 | 0.0 | -2.028 to 2.028 | No | ns | > 0.9999 | | | |
| 11 | | | | | | | | | |
| 12 | | | | | | | | | |
| 13 | Test details | Mean 1 | Mean 2 | Mean Diff. | SE of diff. | n1 | n2 | q | DF |
| 14 | | | | | | | | | |
| 15 | CL vs. DZP 5 | 60.00 | 57.50 | 2.500 | 0.7928 | 8 | 8 | 3.153 | 35 |
| 16 | CL vs. 12,5 | 60.00 | 60.00 | 0.0 | 0.7928 | 8 | 8 | 0.0 | 35 |
| 17 | CL vs. 25 | 60.00 | 60.00 | 0.0 | 0.7928 | 8 | 8 | 0.0 | 35 |
| 18 | CL vs. 50 | 60.00 | 60.00 | 0.0 | 0.7928 | 8 | 8 | 0.0 | 35 |

APÊNDICE 21 – Coluna Estatística do Tempo de Imobilidade no Teste do Nado Forçado.

| | |  | | | | |
|-----------|--------------------|---|---------|-------|-------|-------|
| | | CL | IMIP 30 | 12.5 | 25 | 50 |
| 1 | Number of values | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| 2 | | | | | | |
| 3 | Minimum | 48.00 | 0.0 | 72.00 | 42.00 | 4.000 |
| 4 | 25% Percentile | 54.00 | 0.0 | 78.75 | 57.00 | 16.75 |
| 5 | Median | 62.00 | 0.0 | 89.50 | 69.00 | 26.50 |
| 6 | 75% Percentile | 71.25 | 2.500 | 112.3 | 97.00 | 31.00 |
| 7 | Maximum | 78.00 | 10.00 | 131.0 | 109.0 | 34.00 |
| 8 | | | | | | |
| 9 | Mean | 62.50 | 1.667 | 94.83 | 74.00 | 23.67 |
| 10 | Std. Deviation | 10.52 | 4.082 | 21.05 | 23.89 | 10.60 |
| 11 | Std. Error of Mean | 4.295 | 1.667 | 8.592 | 9.754 | 4.326 |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 51.46 | -2.618 | 72.75 | 48.93 | 12.55 |
| 14 | Upper 95% CI | 73.54 | 5.951 | 116.9 | 99.07 | 34.79 |

APÊNDICE 22 – *Analyze* do Tempo de Imobilidade no Teste do Nado Forçado.

| 1way ANOVA Multiple comparisons | | | | | | | | | |
|------------------------------------|-------------------------------------|------------|------------------|--------------|-------------|------------------|----|-------|----|
| 1 | Number of families | 1 | | | | | | | |
| 2 | Number of comparisons per family | 4 | | | | | | | |
| 3 | Alpha | 0.05 | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | | | |
| 5 | Dunnett's multiple comparisons test | Mean Diff. | 95% CI of diff. | Significant? | Summary | Adjusted P Value | | | |
| 6 | | | | | | | | | |
| 7 | CL vs. IMIP 30 | 60.83 | 37.00 to 84.67 | Yes | **** | < 0.0001 | | | |
| 8 | CL vs. 12.5 | -32.33 | -56.17 to -8.502 | Yes | ** | 0.0058 | | | |
| 9 | CL vs. 25 | -11.50 | -35.33 to 12.33 | No | ns | 0.5386 | | | |
| 10 | CL vs. 50 | 38.83 | 15.00 to 62.67 | Yes | *** | 0.0010 | | | |
| 11 | | | | | | | | | |
| 12 | | | | | | | | | |
| 13 | Test details | Mean 1 | Mean 2 | Mean Diff. | SE of diff. | n1 | n2 | q | DF |
| 14 | | | | | | | | | |
| 15 | CL vs. IMIP 30 | 62.50 | 1.667 | 60.83 | 9.141 | 6 | 6 | 6.655 | 25 |
| 16 | CL vs. 12.5 | 62.50 | 94.83 | -32.33 | 9.141 | 6 | 6 | 3.537 | 25 |
| 17 | CL vs. 25 | 62.50 | 74.00 | -11.50 | 9.141 | 6 | 6 | 1.258 | 25 |
| 18 | CL vs. 50 | 62.50 | 23.67 | 38.83 | 9.141 | 6 | 6 | 4.248 | 25 |

APÊNDICE 23 – Coluna Estatística do Latência da Primeira Convulsão no Modelo das Convulsões Induzidas por Pilocarpina.

| | | CL | DZP 2 | 12.5 | 25 | 50 |
|----|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | Number of values | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| 2 | | | | | | |
| 3 | Minimum | 538.0 | 1860 | 674.0 | 760.0 | 957.0 |
| 4 | 25% Percentile | 573.3 | 3600 | 741.3 | 818.5 | 1172 |
| 5 | Median | 709.0 | 3600 | 943.5 | 986.5 | 1437 |
| 6 | 75% Percentile | 1198 | 3600 | 1303 | 1175 | 1784 |
| 7 | Maximum | 1372 | 3600 | 1520 | 1371 | 1897 |
| 8 | | | | | | |
| 9 | Mean | 841.6 | 3383 | 1013 | 1009 | 1458 |
| 10 | Std. Deviation | 326.6 | 615.2 | 307.2 | 220.3 | 338.0 |
| 11 | Std. Error of Mean | 115.5 | 217.5 | 108.6 | 77.87 | 119.5 |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 568.6 | 2868 | 755.6 | 825.1 | 1176 |
| 14 | Upper 95% CI | 1115 | 3897 | 1269 | 1193 | 1741 |
| 15 | | | | | | |
| 16 | | | | | | |

APÊNDICE 25 – Coluna Estatística do Latência de Morte no Modelo das Convulsões Induzidas por Pilocarpina.

| | | CL | DZP 2 | 12.5 | 25 | 50 |
|----|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | Number of values | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| 2 | | | | | | |
| 3 | Minimum | 682.0 | 3600 | 1820 | 1349 | 2145 |
| 4 | 25% Percentile | 851.5 | 3600 | 3600 | 2004 | 2458 |
| 5 | Median | 1187 | 3600 | 3600 | 3600 | 3600 |
| 6 | 75% Percentile | 1907 | 3600 | 3600 | 3600 | 3600 |
| 7 | Maximum | 2995 | 3600 | 3600 | 3600 | 3600 |
| 8 | | | | | | |
| 9 | Mean | 1440 | 3600 | 3378 | 2956 | 3202 |
| 10 | Std. Deviation | 771.6 | 0.0 | 629.3 | 935.5 | 650.2 |
| 11 | Std. Error of Mean | 272.8 | 0.0 | 222.5 | 330.8 | 229.9 |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 795.1 | 3600 | 2851 | 2174 | 2658 |
| 14 | Upper 95% CI | 2085 | 3600 | 3904 | 3738 | 3745 |
| 15 | | | | | | |

APÊNDICE 26 – *Análise* do Latência Morte no Modelo das Convulsões Induzidas por
Pilocarpina.

| 1way ANOVA Multiple comparisons | | | | | | | | | |
|------------------------------------|-------------------------------------|------------|-----------------|--------------|-------------|------------------|----|-------|----|
| 1 | Number of families | 1 | | | | | | | |
| 2 | Number of comparisons per family | 4 | | | | | | | |
| 3 | Alpha | 0.05 | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | | | |
| 5 | Dunnett's multiple comparisons test | Mean Diff. | 95% CI of diff. | Significant? | Summary | Adjusted P Value | | | |
| 6 | | | | | | | | | |
| 7 | CL vs. DZP 2 | -2160 | -3025 to -1294 | Yes | **** | < 0.0001 | | | |
| 8 | CL vs. 12.5 | -1937 | -2803 to -1072 | Yes | **** | < 0.0001 | | | |
| 9 | CL vs. 25 | -1516 | -2381 to -650.2 | Yes | *** | 0.0003 | | | |
| 10 | CL vs. 50 | -1762 | -2627 to -896.2 | Yes | **** | < 0.0001 | | | |
| 11 | | | | | | | | | |
| 12 | | | | | | | | | |
| 13 | Test details | Mean 1 | Mean 2 | Mean Diff. | SE of diff. | n1 | n2 | q | DF |
| 14 | | | | | | | | | |
| 15 | CL vs. DZP 2 | 1440 | 3600 | -2160 | 338.3 | 8 | 8 | 6.384 | 35 |
| 16 | CL vs. 12.5 | 1440 | 3378 | -1937 | 338.3 | 8 | 8 | 5.726 | 35 |
| 17 | CL vs. 25 | 1440 | 2956 | -1516 | 338.3 | 8 | 8 | 4.480 | 35 |
| 18 | CL vs. 50 | 1440 | 3202 | -1762 | 338.3 | 8 | 8 | 5.207 | 35 |

APÊNDICE 27 – Coluna Estatística da Intensidade das Crises no Modelo das Convulsões Induzidas por Pilocarpina.

| | | CL | DZP 2 | 12.5 | 25 | 50 |
|----|--------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1 | Number of values | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| 2 | | | | | | |
| 3 | Minimum | 4.000 | 1.000 | 4.000 | 4.000 | 4.000 |
| 4 | 25% Percentile | 5.000 | 1.000 | 4.000 | 4.000 | 4.000 |
| 5 | Median | 5.000 | 1.000 | 5.000 | 5.000 | 4.000 |
| 6 | 75% Percentile | 5.000 | 3.000 | 5.750 | 6.000 | 5.000 |
| 7 | Maximum | 5.000 | 4.000 | 6.000 | 6.000 | 5.000 |
| 8 | | | | | | |
| 9 | Mean | 4.875 | 1.875 | 4.875 | 5.000 | 4.375 |
| 10 | Std. Deviation | 0.3536 | 1.246 | 0.8345 | 0.9258 | 0.5175 |
| 11 | Std. Error of Mean | 0.1250 | 0.4407 | 0.2950 | 0.3273 | 0.1830 |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 4.579 | 0.8330 | 4.177 | 4.226 | 3.942 |
| 14 | Upper 95% CI | 5.171 | 2.917 | 5.573 | 5.774 | 4.808 |
| 15 | | | | | | |
| 16 | Mean ranks | 26.25 | 5.250 | 25.25 | 26.50 | 19.25 |

APÊNDICE 28 – *Analyze da Intensidade das Crises no Modelo das Convulsões Induzidas por Pilocarpina.*

| 1way ANOVA Multiple comparisons | | | | | | |
|------------------------------------|----------------------------------|-----------------|--------------|-----------------|------------------|----|
| 1 | Number of families | 1 | | | | |
| 2 | Number of comparisons per family | 4 | | | | |
| 3 | Alpha | 0.05 | | | | |
| 4 | | | | | | |
| 5 | Dunn's multiple comparisons test | Mean rank diff. | Significant? | Summary | Adjusted P Value | |
| 6 | | | | | | |
| 7 | CL vs. DZP 2 | 21.00 | Yes | *** | 0.0007 | |
| 8 | CL vs. 12.5 | 1.000 | No | ns | > 0.9999 | |
| 9 | CL vs. 25 | -0.2500 | No | ns | > 0.9999 | |
| 10 | CL vs. 50 | 7.000 | No | ns | 0.8371 | |
| 11 | | | | | | |
| 12 | | | | | | |
| 13 | Test details | Mean rank 1 | Mean rank 2 | Mean rank diff. | n1 | n2 |
| 14 | | | | | | |
| 15 | CL vs. DZP 2 | 26.25 | 5.250 | 21.00 | 8 | 8 |
| 16 | CL vs. 12.5 | 26.25 | 25.25 | 1.000 | 8 | 8 |
| 17 | CL vs. 25 | 26.25 | 26.50 | -0.2500 | 8 | 8 |
| 18 | CL vs. 50 | 26.25 | 19.25 | 7.000 | 8 | 8 |

APÊNDICE 31 – Coluna Estatística da Dosagem dos Níveis de Norepinefrina nos Animais Submetidos à Convulsão Induzida por Pilocarpina.

| | | CL | SL + PILO 350 | FAR 12.5 + PILO 350 |
|----|--------------------|-------|---------------|---------------------|
| 1 | Number of values | 6 | 6 | 6 |
| 2 | | | | |
| 3 | Minimum | | | |
| 4 | 25% Percentile | | | |
| 5 | Median | | | |
| 6 | 75% Percentile | | | |
| 7 | Maximum | | | |
| 8 | | | | |
| 9 | Mean | 723.7 | 1353 | 759.6 |
| 10 | Std. Deviation | 73.90 | 479.3 | 221.1 |
| 11 | Std. Error of Mean | 30.17 | 195.7 | 90.28 |
| 12 | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 646.2 | 849.6 | 527.5 |
| 14 | Upper 95% CI | 801.3 | 1856 | 991.7 |
| 15 | | | | |

APÊNDICE 33 – Coluna Estatística da Dosagem dos Níveis de Dopamina nos Animais Submetidos à Convulsão Induzida por Pilocarpina.

| | | CL | SL + PILO 350 | FAR 12.5 + PILO 350 |
|----|--------------------|-------|---------------|---------------------|
| 1 | Number of values | 6 | 6 | 6 |
| 2 | | | | |
| 3 | Minimum | | | |
| 4 | 25% Percentile | | | |
| 5 | Median | | | |
| 6 | 75% Percentile | | | |
| 7 | Maximum | | | |
| 8 | | | | |
| 9 | Mean | 1608 | 1085 | 4438 |
| 10 | Std. Deviation | 404.2 | 946.4 | 693.7 |
| 11 | Std. Error of Mean | 165.0 | 386.4 | 283.2 |
| 12 | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 1184 | 91.80 | 3710 |
| 14 | Upper 95% CI | 2032 | 2078 | 5166 |

APÊNDICE 35 – Coluna Estatística da Dosagem dos Níveis de Serotonina nos Animais Submetidos à Convulsão Induzida por Pilocarpina.

| | | CL | SL + PILO 350 | FAR 12.5 + PILO 350 |
|----|--------------------|-------|---------------|---------------------|
| 1 | Number of values | 6 | 6 | 6 |
| 2 | | | | |
| 3 | Minimum | | | |
| 4 | 25% Percentile | | | |
| 5 | Median | | | |
| 6 | 75% Percentile | | | |
| 7 | Maximum | | | |
| 8 | | | | |
| 9 | Mean | 5612 | 1910 | 3164 |
| 10 | Std. Deviation | 902.1 | 593.4 | 643.9 |
| 11 | Std. Error of Mean | 368.3 | 242.2 | 262.9 |
| 12 | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 4665 | 1287 | 2488 |
| 14 | Upper 95% CI | 6559 | 2533 | 3840 |
| 15 | | | | |

APÊNDICE 37 – Coluna Estatística da Dosagem do Conteúdo de Nitrito nos Animais
Submetidos à Convulsão Induzida por Pilocarpina.

| | | CL | SL + PILO 350 | FAR 12,5 |
|----|--------------------|--------|---------------|----------|
| 1 | Number of values | 8 | 8 | 8 |
| 2 | | | | |
| 3 | Minimum | 15.71 | 19.02 | 12.86 |
| 4 | 25% Percentile | 16.58 | 22.02 | 13.95 |
| 5 | Median | 18.72 | 23.22 | 17.44 |
| 6 | 75% Percentile | 19.32 | 27.20 | 21.50 |
| 7 | Maximum | 22.62 | 30.13 | 31.18 |
| 8 | | | | |
| 9 | Mean | 18.59 | 24.09 | 18.68 |
| 10 | Std. Deviation | 2.155 | 3.535 | 5.988 |
| 11 | Std. Error of Mean | 0.7621 | 1.250 | 2.117 |
| 12 | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 16.79 | 21.13 | 13.67 |
| 14 | Upper 95% CI | 20.39 | 27.04 | 23.69 |
| 15 | | | | |

APÊNDICE 39 – Coluna Estatística da Dosagem do Conteúdo de TBARS nos Animais Submetidos à Convulsão Induzida por Pilocarpina.

| | | CL | SL + PILO 350 | FAR 12,5 |
|----|--------------------|-------|---------------|----------|
| 1 | Number of values | 8 | 8 | 8 |
| 2 | | | | |
| 3 | Minimum | 433.9 | 475.7 | 429.8 |
| 4 | 25% Percentile | 440.1 | 503.8 | 467.2 |
| 5 | Median | 477.2 | 617.9 | 503.3 |
| 6 | 75% Percentile | 569.2 | 743.2 | 592.1 |
| 7 | Maximum | 593.9 | 763.7 | 617.8 |
| 8 | | | | |
| 9 | Mean | 498.6 | 620.1 | 519.7 |
| 10 | Std. Deviation | 66.39 | 114.4 | 67.13 |
| 11 | Std. Error of Mean | 23.47 | 40.45 | 23.73 |
| 12 | | | | |
| 13 | Lower 95% CI | 443.1 | 524.5 | 463.6 |
| 14 | Upper 95% CI | 554.1 | 715.8 | 575.8 |
| 15 | | | | |

