

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**

**Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos**

**Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Bioprospecção**



**Dissertação de Mestrado**

**Efeito antinociceptivo da benzamida *N*-3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica em camundongos: envolvimento do sistema serotoninérgico**

**Kauane Nayara Bahr Ledebuhr**

**Pelotas, 2022**

**Kauane Nayara Bahr Ledebuhr**

**Efeito antinociceptivo da benzamida *N*-3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica em camundongos: envolvimento do sistema serotoninérgico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Bioquímica e Bioprospecção).

Orientador: César Augusto Brüning

Coorientadora: Cristiani Folharini Bortolatto

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

L111e Ledebuhr, Kauane Nayara Bahr

Efeito antinociceptivo da benzamida N--  
-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica em camundongos:  
envolvimento do sistema serotoninérgico / Kauane Nayara  
Bahr Ledebuhr ; César Augusto Brüning , orientador ;  
Cristiani Folharini Bortolatto , coorientadora. — Pelotas,  
2022.

119 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação  
em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências  
Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade  
Federal de Pelotas, 2022.

1. Dor. 2. Benzamida. 3. Nocicepção. 4. Selênio. 5.  
Serotonina. I. , César Augusto Brüning, orient. II. , Cristiani  
Folharini Bortolatto, coorient. III. Título.

CDD : 574.192

Kauane Nayara Bahr Ledebuhr

Efeito antinociceptivo da benzamida *N*-3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica em camundongos: envolvimento do sistema serotoninérgico

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas (Bioquímica e Bioprospecção), Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas.

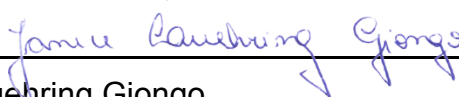
Data da Defesa: 03 de junho de 2022

Banca examinadora:



Prof. Dr. César Augusto Brüning (Orientador) - Presidente

Doutor em Bioquímica Toxicológica pela Universidade Federal de Santa Maria



Prof (a). Dr (a). Janice Luehring Giongo

Doutora em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul



Prof (a). Dr (a). Suzan Gonçalves Rosa

Doutora em Bioquímica Toxicológica pela Universidade Federal de Santa Maria

**À minha família**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, que sempre estiveram ao meu lado e me proporcionaram amor incondicional. Esta dissertação é a prova de que seus esforços pela minha formação acadêmica valeram a pena. Obrigada por estarem presentes em todas as etapas da minha vida e apoiarem meus sonhos. Ich liebe dich für immer!

Ao meu pai, Gederson, por ser um exemplo de pessoa zelosa, honesta e companheira, que protege e me aconselha se cometo erros. Mais do que um pai, você é meu amigo, é aquele em quem confio plenamente e que sei que apenas quer o meu bem. Você é essencial na minha vida, obrigada por tudo que faz e tem feito por mim.

A minha mãe, Rozane, que foi a melhor mãe que eu poderia ter tido. Obrigada por seu carinho e dedicação, tu se tornaste o meu exemplo de força e resiliência. Tua presença em minha vida me acalma nos meus momentos ruins e me incentiva a seguir em frente.

Aos meus irmãos, pela amizade e por iluminarem meus dias com suas histórias. A presença de vocês me impulsiona a ser uma pessoa melhor a cada dia. Ter um irmão é ser uma eterna criança e sou muito sortuda por ter não um, mas dois irmãos que sempre irão fazer eu me sentir mais jovem do que eu realmente sou!

Aos meus animais de estimação, em especial a Mack, aos que dispenso enorme carinho e são responsáveis por me manter sã e são uma fonte inesgotável de alegria e amor.

Ao meu namorado e melhor amigo, Wilians, o qual se tornou um porto seguro no meio das turbulências e muitas vezes me mostrou a importância dos pequenos momentos. Obrigada por toda a evolução conjunta.

Agradeço, também, aos meus amigos e demais familiares que compreenderam a minha ausência e estiveram ao meu lado, tornando tudo mais leve, pois eu sabia que poderia sempre contar com vocês.

Ao meu orientador César, pela confiança depositada e por me colocar na direção correta. Obrigada pelas conversas, apoio, e conhecimento compartilhado! És um exemplo de profissional!

A minha co-orientadora Cris, por todo o apoio técnico e os bons conselhos.

Aos colegas de laboratório que tornaram os dias mais divertidos e alegres, fazendo-se amigos próximos e os quais ainda pretendo compartilhar muitos momentos de minha vida.

Aos professores e equipe do PPGBBIO por toda ajuda e instrução, sem vocês eu não chegaria ao fim dessa etapa.

A demais equipe técnica da universidade, que se tornaram tão próximos quanto amigos.

A todos os demais que contribuíram com a minha formação acadêmica e profissional.

Ao Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Bioprospecção e a Universidade Federal de Pelotas pelo apoio e oportunidade.

A CAPES pelo financiamento.

A Deus que completou a minha vida com graças e oportunidades.

A todos, os meus sinceros agradecimentos!

*“A todas as pessoas que têm correntezas vorazes se lançando dentro do peito lembrem-se, estamos em constante movimento.”*

*– Jamais peço desculpas por me derramar (Ryane Leão)*



## RESUMO

LEDEBUHR, Kauane Nayara Bahr. **Efeito antinociceptivo da benzamida *N*-3- (fenilselenil)prop-2-in-1-ílica em camundongos: envolvimento do sistema serotoninérgico.** 2022. 119 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Bioprospecção) - Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

A dor é uma condição médica presente em diversas patologias como um efeito secundário e incapacitante, além de ser categorizado como um fenômeno multidimensional e multifatorial, que envolve diferentes sistemas de neurotransmissores, incluindo o serotoninérgico. Por este motivo, é necessário obter compostos analgésicos que possuam maior eficácia e menos efeitos adversos. Levando em consideração as propriedades farmacológicas demonstradas pelo selênio e pelo núcleo benzamida, ambos componentes foram incorporados a uma nova molécula: a benzamida *N*-3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB). Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito antinociceptivo deste composto em modelos de dor em camundongos e sua interação com receptores serotoninérgicos. Foram utilizados camundongos Swiss adultos, machos, pesando entre 25 e 30 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Inicialmente foi realizada uma curva de tempo-resposta no teste da imersão da cauda e posteriormente uma curva de dose-resposta nos testes de imersão da cauda, chapa quente e glutamato. Em todos os testes realizados, foi avaliado o tempo para a resposta de nocicepção do animal. Para a curva de tempo-resposta, os animais receberam 10 mg/kg da SePB, diluída em óleo de canola, por via intragástrica, 15 minutos, 30 minutos, 1 hora ou 2 horas antes da realização do teste de imersão da cauda. Nas curvas de dose- resposta, foram utilizadas as doses de 1 mg/kg, 10 mg/kg e 50 mg/kg do composto diluído em óleo de canola, administradas aos animais por via intragástrica 30 min antes dos testes nociceptivos. Na curva de tempo-resposta, a SePB aumentou a latência para a resposta nociceptiva no teste de imersão da cauda a partir de 30 minutos, o qual foi escolhido para posteriores testes. Na curva de dose-resposta, realizada no teste de imersão da cauda, a SePB aumentou a latência para a resposta nociceptiva em todas as doses testadas. Nos testes da chapa quente e glutamato na pata, a SePB aumentou a latência para

nocicepção a partir da dose de 10 mg/kg. Estes resultados demonstram que a SePB apresentou efeito antinociceptivo. Para avaliação do sistema serotoninérgico foram administrados antagonistas seletivos de receptores 5-HT, sendo eles, WAY100635 (0,5 mg/kg, por via subcutânea, um antagonista do receptor 5-HT<sub>1A</sub>), cetanserina (0,3 mg/kg, intraperitonealmente, um antagonista do receptor 5-HT<sub>2A/2C</sub>) ou ondansetrona (0,5 mg/kg, intraperitonealmente, um antagonista do receptor 5-HT<sub>3</sub>), 15 minutos antes da administração da SePB (10 mg/kg, por via intragástrica). O teste comportamental foi realizado 30 minutos após a administração do composto. O WAY100635 e a cetanserina atuaram bloqueando o efeito nociceptivo apresentado pelo composto, enquanto a ondansetrona não teve interação com o efeito ocasionado pela SePB. Antes de qualquer experimento foi realizado o teste de campo aberto para avaliar a existência de um possível déficit locomotor, o qual não foi identificado. Concluímos que a SePB apresenta efeito antinociceptivo, que pode ser modulado pelo sistema serotoninérgico, especificamente através dos receptores 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A/2C</sub>, com isso demonstrando ser um composto promissor para o tratamento da dor.

Palavras-chave: Dor. Antinocicepção. Benzamida. Selênio. Sistema serotoninérgico.

## ABSTRACT

LEDEBUHR, Kauane Nayara Bahr. **Antinociceptive effect of *N*-3-(phenylselenyl)prop-2-yn-1-yl benzamide in mice: involvement of the serotonergic system.** 2022. 119 p. Dissertation (master's degree in Biochemistry and Bioprospecting) - Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

Pain is a medical condition present in several pathologies as a secondary and disabling effect, in addition to being categorized as a multidimensional and multifactorial phenomenon, which involves different neurotransmitter systems, including the serotonergic. For this reason, it is necessary to obtain analgesic compounds that have greater efficacy and fewer adverse effects. Taking into account the pharmacological properties demonstrated by selenium and the benzamide nucleus, both components were incorporated into a new molecule: *N*-3-(phenylselenyl)prop-2-yn-1-yl benzamide (SePB). Therefore, the present work aimed to evaluate the antinociceptive effect of this compound in mouse pain models and its interaction with serotonergic receptors. Adult male Swiss mice weighing between 25 and 30 g were used, from the Central Animal House of the Federal University of Pelotas. Initially, a time-response curve was performed in the tail immersion test and later a dose-response curve in the tail immersion, hot plate and glutamate tests. In all tests performed, the time for the animal's nociception response was evaluated. For the time-response curve, the animals received 10 mg/kg of SePB, diluted in canola oil, intragastrically, 15 minutes, 30 minutes, 1 hour or 2 hours before the tail immersion test. In the dose-response curves, doses of 1 mg/kg, 10 mg/kg and 50 mg/kg of the compound diluted in canola oil were used, administered to the animals intragastrically 30 min before the nociceptive tests. In the time-response curve, SePB increased the latency for the nociceptive response in the tail immersion test from 30 minutes, which was chosen for further tests. In the dose-response curve, performed in the tail immersion test, SePB increased the latency to the nociceptive response at all doses tested. In the hot plate and paw glutamate tests, SePB increased the latency to nociception from the dose of 10 mg/kg. These results demonstrate that SePB had an antinociceptive effect. To evaluate the serotonergic system, selective 5-HT receptor antagonists were administered, namely WAY100635

(0.5 mg/kg, subcutaneously, a 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist), ketanserin (0.3 mg/kg, intraperitoneally), a 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptor antagonist) or ondansetron (0.5 mg/kg, intraperitoneally, a 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist), 15 minutes before administration of SePB (10 mg/kg, intragastric). The behavioral test was performed 30 minutes after compound administration. WAY100635 and ketanserin acted blocking the nociceptive effect presented by the compound, while ondansetron had no interaction with the effect caused by SePB. Before any experiment, the open field test was performed to assess the existence of a possible locomotor deficit, which was not identified. We conclude that SePB has an antinociceptive effect, which can be modulated by the serotonergic system, specifically through 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptors, thus proving to be a promising compound for the treatment of pain.

Keywords: Pain. Antinociception. Benzamide. Selenium. Serotonergic system.

## LISTA DE FIGURAS

### Revisão Bibliográfica

|                                                                                                            |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Figura 1.</b> Representação do caminho percorrido pelos nociceptores.....                               | <b>27</b> |
| <b>Figura 2.</b> Processo de nocicepção.....                                                               | <b>29</b> |
| <b>Figura 3.</b> Terminação das fibras aferentes primárias no corno posterior (CP) da medula espinhal..... | <b>33</b> |
| <b>Figura 4.</b> Representação das vias da dor.....                                                        | <b>36</b> |
| <b>Figura 5.</b> Representação das áreas ativadas pela dor.....                                            | <b>38</b> |
| <b>Figura 6.</b> Representação da modulação da dor.....                                                    | <b>40</b> |
| <b>Figura 7.</b> Representação da via serotoninérgica no cérebro.....                                      | <b>43</b> |
| <b>Figura 8.</b> Estrutura da morfina.....                                                                 | <b>46</b> |
| <b>Figura 9.</b> O papel da COX na biossíntese de prostanóides .....                                       | <b>52</b> |
| <b>Figura 10.</b> Estrutura molecular do ácido acetilsalicílico.....                                       | <b>55</b> |
| <b>Figura 11.</b> Estrutura molecular do ibuprofeno.....                                                   | <b>56</b> |
| <b>Figura 12.</b> AINEs e o sistema renal.....                                                             | <b>58</b> |
| <b>Figura 13.</b> Estrutura do (PhSe) <sub>2</sub> .....                                                   | <b>62</b> |
| <b>Figura 14.</b> Estrutura do (m-CF <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> Se) <sub>2</sub> .....    | <b>64</b> |
| <b>Figura 15.</b> Estrutura PSAP.....                                                                      | <b>64</b> |
| <b>Figura 16.</b> Estrutura [(OMePhSe) <sub>2</sub> ].....                                                 | <b>65</b> |
| <b>Figura 17.</b> Estrutura DPD.....                                                                       | <b>66</b> |
| <b>Figura 18.</b> Estrutura da benzamida.....                                                              | <b>66</b> |
| <b>Figura 19.</b> Estrutura da SePB.....                                                                   | <b>67</b> |

|                                                                                                                      |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Figura 20.</b> Representação do teste da chapa quente.....                                                        | <b>70</b> |
| <b>Figura 21.</b> Representação do teste de imersão da cauda.....                                                    | <b>71</b> |
| <b>Figura 22.</b> Representação do teste de Randall e Sellito.....                                                   | <b>72</b> |
| <b>Figura 23.</b> Demonstração do teste de Von Frey (A) e demonstração da área de contato com o equipamento (B)..... | <b>72</b> |
| <b>Figura 24.</b> Representação da reação nociceptiva causada no camundongo.....                                     | <b>73</b> |

## **Artigo Científico**

|                                                                                                                                                            |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Figure 1.</b> Chemical structure of <i>N</i> -(3-(phenylselanyl)prop-2-yn-1-yl) benzamide                                                               | <b>77</b> |
| <b>Figure 2.</b> Schematic view of the experimental design.....                                                                                            | <b>78</b> |
| <b>Figure 3.</b> SePB time-response curve in the tail immersion test.....                                                                                  | <b>79</b> |
| <b>Figure 4.</b> SePB dose-response curve in the tail immersion test.....                                                                                  | <b>79</b> |
| <b>Figure 5.</b> SePB dose-response curve in the hot plate test.....                                                                                       | <b>79</b> |
| <b>Figure 6.</b> SePB dose-response curve in the paw glutamate test.....                                                                                   | <b>79</b> |
| <b>Figure 7.</b> Effect of WAY1006356 (selective 5-HT <sub>1A</sub> receptor antagonist) on SePB antinociceptive action in the tail immersion test.....    | <b>80</b> |
| <b>Figure 8.</b> Effect of ketanserin (selective 5-HT <sub>2A/2C</sub> receptor antagonist) on SePB antinociceptive action in the tail immersion test..... | <b>80</b> |
| <b>Figure 9.</b> Effect of ondansetron (selective 5-HT <sub>3</sub> receptor antagonist) on SePB antinociceptive action in the tail immersion test.....    | <b>80</b> |

## LISTA DE TABELAS

### Revisão Bibliografica

**Tabela 1**      Classificação das fibras sensitivas

### Artigo Científico

**Table 1**      Time-response curve of SePB (10 mg/kg) in the open-field test (OFT)

**Table 2**      Dose-response curve of SePB in the open-field test (OFT)

**Table 3**      Effect of WAY100635 and/or SePB in the open-field test (OFT)

**Table 4**      Effect of ketanserin and/or SePB in the open-field test (OFT)

**Table 5**      Effect of ondansetron and/or SePB in the open-field test (OFT)

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

### Revisão Bibliográfica

|                                                                    |                                                      |
|--------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| <b>PSAP</b>                                                        | $\alpha$ -(fenilselanil) acetofenona                 |
| <b>5-HTP</b>                                                       | 5-hidroxitriptofano                                  |
| <b>ACh</b>                                                         | Acetilcolina                                         |
| <b>AA</b>                                                          | Ácido araquidônico                                   |
| <b>GABA</b>                                                        | Ácido $\gamma$ -aminobutírico                        |
| <b>ATP</b>                                                         | Adenosina trifosfato                                 |
| <b>ACTH</b>                                                        | Adrenocorticotropina                                 |
| <b>CFA</b>                                                         | Adjuvante completo de Freund                         |
| <b>AIES</b>                                                        | Analgésicos antiinflamatórios esteróides             |
| <b>AINEs</b>                                                       | Analgésicos antiinflamatórios não esteróides         |
| <b>AWA</b>                                                         | <i>Animal welfare act</i>                            |
| <b>AR</b>                                                          | Artrite reumatoide                                   |
| <b>IASP</b>                                                        | Associação Internacional para o Estudo da Dor        |
| <b>PSNL</b>                                                        | Cirurgia de ligadura parcial do nervo ciático        |
| <b>CD</b>                                                          | Corno dorsal                                         |
| <b>CP</b>                                                          | Corno posterior                                      |
| <b>ACC</b>                                                         | Córtex cingulado anterior                            |
| <b>OPIAD</b>                                                       | Deficiência androgênica induzida por opioides        |
| <b>DPD</b>                                                         | Disseleneto de 2,2'-dipiridil                        |
| <b>(PhSe)<sub>2</sub></b>                                          | Disseleneto de difenila                              |
| <b>(m-CF<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Se)<sub>2</sub></b> | Disseleneto de m-trifluorometil-difenil              |
| <b>[(OMePhSe)<sub>2</sub>]</b>                                     | Disseleneto de <i>p</i> , <i>p'</i> -metoxil-difenil |
| <b>DA</b>                                                          | Doença de Alzheimer                                  |
| <b>DP</b>                                                          | Doença de Parkinson                                  |



|              |                                                       |
|--------------|-------------------------------------------------------|
| <b>DN</b>    | Dor neuropática                                       |
| <b>OE</b>    | Endocrinopatia opioide                                |
| <b>COX</b>   | Enzima ciclooxigenase                                 |
| <b>FCE</b>   | Fator de crescimento epidérmico                       |
| <b>BDNF</b>  | Fator neurotrófico derivado do encéfalo               |
| <b>mBDNF</b> | Fator neurotrófico derivado do cérebro maduro         |
| <b>DLF</b>   | Funículo dorsolateral espinhal                        |
| <b>GRD</b>   | Gânglios das raízes dorsais                           |
| <b>GR</b>    | Glutathione Redutase                                  |
| <b>CRH</b>   | Hormônio liberador de corticotropina                  |
| <b>GNRH</b>  | Hormônio liberador de gonadotrofina                   |
| <b>LH</b>    | Hormônio luteinizante                                 |
| <b>ISRS</b>  | Inibidores seletivos da recaptação de serotonina      |
| <b>LPS</b>   | Lipossacarídeos                                       |
| <b>LCN</b>   | <i>Locus coeruleus</i> noradrenérgico                 |
| <b>RVM</b>   | Medula rostroventromedial                             |
| <b>M3G</b>   | Morfina 3-gliceronida                                 |
| <b>NMDA</b>  | N-metil-D-aspartato                                   |
| <b>NF-kB</b> | NF-kappa-B                                            |
| <b>WDR</b>   | Nociceptores específicos e de largo espectro dinâmico |
| <b>HTM</b>   | Nociceptores de alto limiar                           |
| <b>LTM</b>   | Nociceptores de baixo limiar                          |
| <b>NRM</b>   | Núcleo magno da rafe                                  |
| <b>NPGi</b>  | Núcleo paragigantocelular                             |
| <b>Gi</b>    | Núcleo reticular gigantocelular                       |
| <b>NTC</b>   | Núcleo trigêmeo caudal                                |
| <b>PB</b>    | Núcleos parabraquiais                                 |

|              |                                       |
|--------------|---------------------------------------|
| <b>ON</b>    | Óxido nítrico                         |
| <b>PCPA</b>  | P- clorofenilalanina                  |
| <b>PGD2</b>  | Prostaglandina D2                     |
| <b>PGE2</b>  | Prostaglandina E2                     |
| <b>MAPK</b>  | Proteína quinase ativada por mitógeno |
| <b>Rmg</b>   | Rafe magno                            |
| <b>Rob</b>   | Rafe obscura                          |
| <b>Rpa</b>   | Rafe pálida                           |
| <b>TRPV</b>  | Receptor transitório vanilóide        |
| <b>TRPV1</b> | Receptor transitório vanilóide tipo 1 |
| <b>5-HT</b>  | Serotonina                            |
| <b>SNC</b>   | Sistema nervoso central               |
| <b>SNP</b>   | Sistema nervoso periférico            |
| <b>SNS</b>   | Sistema nervoso simpático             |
| <b>PAG</b>   | Substância cinzenta periaquedutal     |
| <b>SP</b>    | Substância P                          |
| <b>TGF</b>   | Taxa de filtração glomerular          |

### **Artigo Científico**

|                 |                                                                             |
|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| <b>SePB</b>     | <i>N-(3-(phenylselanyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide</i>                         |
| <b>5-HT</b>     | Serotonin                                                                   |
| <b>CEEA</b>     | <i>Animal Ethics and Welfare Committee</i>                                  |
| <b>CONCEA</b>   | <i>Animal Experiments Control Council</i>                                   |
| <b>NIH</b>      | <i>National Institute of Health</i>                                         |
| <b>NUSAACOI</b> | <i>Synthesis and Application Center for Organic and Inorganic Compounds</i> |

|                  |                                                                                                                   |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>UFFS</b>      | <i>Federal University of Fronteira Sul</i>                                                                        |
| <b>OFT</b>       | Open field test                                                                                                   |
| <b>NMR</b>       | <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>                                                                                 |
| <b>MS</b>        | Low resolution mass spectrometry                                                                                  |
| <b>HRMS</b>      | high-resolution mass spectrometry                                                                                 |
| <b>WAY100635</b> | <i>N</i> -[2-[4-(2-methoxyphenyl)-1-piperazinyl]ethyl]- <i>N</i> -2-pyridinylcyclohexane carboxamide maleate salt |
| <b>Glutamate</b> | Sodium L-glutamate 1-hydrate                                                                                      |
| <b>S.E.M</b>     | mean $\pm$ standard error of the mean                                                                             |
| <b>CNS</b>       | Central nervous system                                                                                            |
| <b>NMDA</b>      | N-methyl-D-aspartic acid                                                                                          |
| <b>BPA</b>       | Bisphenol A                                                                                                       |
| <b>pCPA</b>      | p-chlorophenylalanine                                                                                             |
| <b>CAPES</b>     | <i>Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel</i>                                             |
| <b>CNPQ</b>      | <i>National Council for Scientific and Technological Development</i>                                              |
| <b>UFPEL</b>     | <i>Federal University of Pelotas</i>                                                                              |

## LISTA DE SÍMBOLOS

### Revisão Bibliográfica

|                        |                 |
|------------------------|-----------------|
| <b>Ca<sup>2+</sup></b> | Íon de Cálcio   |
| <b>&gt;</b>            | Maior           |
| <b>µm</b>              | Micrômetro      |
| <b>°C</b>              | Graus Celsius   |
| <b>~</b>               | Aproximadamente |
| <b>β</b>               | Beta            |
| <b>α</b>               | Alpha           |

### Artigo Científico

|                       |                         |
|-----------------------|-------------------------|
| <b>min</b>            | Minutes                 |
| <b>mg/kg</b>          | Milligrams per kilogram |
| <b>g</b>              | Grams                   |
| <b>°C</b>             | Degrees Celsius         |
| <b>±</b>              | Plus and minus          |
| <b><sup>1</sup>H</b>  | Hydrogen-1              |
| <b><sup>13</sup>C</b> | Carbon-13               |
| <b>ml/kg</b>          | Milliliter to kilogram  |
| <b>µmol</b>           | Micromole               |
| <b>µl/paw</b>         | Microliter per paw      |
| <b>µL</b>             | Microliter              |
| <b>Cm</b>             | Centimeter              |
| <b>&lt;</b>           | Less than               |

## **LISTA DE ANEXOS**

**Anexo 1** – Autorização do comitê de ética da UFPEL

**Anexo 2** – Autorização de publicação do artigo

## SUMÁRIO

|                                                        |           |
|--------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 Introdução.....</b>                               | <b>22</b> |
| <b>2 Objetivos.....</b>                                | <b>23</b> |
| 2.1 Objetivo geral.....                                | 23        |
| 2.2 Objetivos específicos.....                         | 23        |
| <b>3 Revisão bibliográfica.....</b>                    | <b>24</b> |
| 3.1 Dor.....                                           | 24        |
| 3.1.1 Nocicepção .....                                 | <b>26</b> |
| 3.1.1.1 Transdução.....                                | 29        |
| 3.1.1.2 Transmissão.....                               | 31        |
| 3.1.1.3 Percepção.....                                 | 32        |
| 3.1.1.4 Modulação.....                                 | 32        |
| 3.1.2 Via ascendente.....                              | 35        |
| 3.1.2.1 Trato Espinotalâmico.....                      | 36        |
| 3.1.3 Via descendente.....                             | 38        |
| 3.1.4 Via serotoninérgica e sua relação com a dor..... | 42        |
| 3.2 Analgésicos.....                                   | 45        |
| 3.2.1 Opioides e Opiáceos .....                        | 45        |
| 3.2.1.1 Histórico.....                                 | 45        |
| 3.2.1.2 Efeitos colaterais dos opioides.....           | 47        |

|                                              |           |
|----------------------------------------------|-----------|
| 3.2.2 Anti-inflamatórios não esteroides..... | 50        |
| 3.2.2.1 Mecanismo de ação.....               | 50        |
| 3.2.2.1.1 Enzimas Ciclooxygenases.....       | 51        |
| 3.2.2.2 Histórico.....                       | 54        |
| 3.2.2.2.1 Ácido Acetilsalicílico.....        | 54        |
| 3.2.2.2.2 Ibuprofeno.....                    | 55        |
| 3.2.2.3 Efeitos colaterais dos AINES .....   | 57        |
| 3.2.2.3.1 Prostaglandinas.....               | 57        |
| 3.2.3 AIES.....                              | 59        |
| 3.3 Selênio.....                             | 60        |
| 3.3.1 Compostos orgânicos de selênio.....    | 62        |
| 3.4 Benzamida.....                           | 66        |
| 3.5 SePB.....                                | 67        |
| 3.6 Testes <i>in vivo</i> e dor.....         | 67        |
| 3.6.1 Testes nociceptivos agudos.....        | 69        |
| 3.6.1.1 Estímulos térmicos.....              | 69        |
| 3.6.1.2 Estímulos mecânicos .....            | 71        |
| 3.6.1.3 Estímulos químicos.....              | 73        |
| 3.6.2 Testes nociceptivos crônicos.....      | 74        |
| 3.6.2.1 Procedimentos cirúrgicos.....        | 74        |
| 3.6.2.2 Agentes químicos.....                | 74        |
| <b>4 Manuscrito.....</b>                     | <b>75</b> |

|                           |            |
|---------------------------|------------|
| <b>5 Discussão.....</b>   | <b>84</b>  |
| <b>6 Conclusão.....</b>   | <b>89</b>  |
| <b>7 Referências.....</b> | <b>90</b>  |
| <b>8 Anexos.....</b>      | <b>117</b> |



## 1 INTRODUÇÃO

A dor é uma condição médica presente em diversas patologias como um efeito secundário e incapacitante, além de ser categorizado como um fenômeno multidimensional e multifatorial (BONICA, 1953), que envolve diferentes sistemas de neurotransmissores, como os neuropeptidérgicos, monoaminérgicos, opioidérgicos, adenosinérgicos e gabaérgicos (MILLAN, 2002). Dessa forma, é notável a sua interferência na qualidade de vida dos indivíduos que sofrem dessa condição.

Infelizmente, os fármacos presentes no mercado atualmente apresentam efeitos adversos, que variam desde náuseas, problemas gastrointestinais e cardíacos até depressão respiratória e morte (HUSE et al., 2001), incentivando o abandono do tratamento. Com o aumento da expectativa de vida da população (SCOTT, 2021), se torna necessário que seja proporcionado uma boa condição de saúde a esses cidadãos. Sendo assim, é visível a necessidade de novos estudos que visem o desenvolvimento de novas moléculas eficazes e que apresentem maior eficácia e menos efeitos adversos.

Posto isso, o selênio tem se apresentado como um alvo atrativo devido as suas propriedades benéficas. Compostos orgânicos de selênio vêm demonstrando possíveis aplicações terapêuticas, principalmente devido a sua participação no sistema de defesa celular contra o estresse oxidativo (SAUER et al., 2017). A deficiência de selênio também vem sendo associada a transtornos de humor, como depressão e ansiedade (PASCO et al., 2012).

Outra classe de interesse são os compostos constituídos do núcleo benzamida, que por sua vez, é um derivado do ácido benzoico. Sua importância é reconhecida para a área farmacêutica, possuindo efeitos antimicrobianos, antiparasitários, anestésicos, analgésicos, antipsicóticos, antidepressivos, entre outros (GURGU et al., 2017).

Com isto em mente, e levando em consideração as propriedades farmacológicas desejadas foi realizada a síntese da *N*-3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB), um composto orgânico de selênio contendo o núcleo benzamida, com objetivo de avaliar seu efeito antinociceptivo em modelos animais.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Identificar a possível ação antinociceptiva da benzamida *N*-3-(fenilselenil)prop- 2-in-1-ílica em camundongos, bem como a interação do sistema serotoninérgico em sua ação.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar o efeito da SePB na nocicepção induzida por agentes químicos no teste do glutamato na pata.
- Verificar o efeito da SePB na nocicepção induzida por agente térmico, utilizando os testes de cauda imersa e chapa quente.
- Verificar o possível envolvimento dos sistemas serotoninérgico, na ação antinociceptiva da SePB através do teste de nocicepção da cauda imersa.
- Analisar o efeito da SePB sobre as atividades locomotora e exploratória.
- Analisar se os antagonistas e a interação antagonista x SePB causa alterações na atividade locomotora dos camundongos.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 DOR

A dor é uma condição médica presente em diversas patologias como um efeito secundário e incapacitante, além de ser categorizado como um fenômeno multidimensional e multifatorial. Seu reconhecimento como uma síndrome ocorreu em 1953 (BONICA, 1953), quando ocorreu a fundação da Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP). De acordo com a IASP a dor é definida como “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a uma lesão tecidual real ou potencial ou descrita em termos de tal lesão” (LOESER; TREEDE, 2008). Sendo considerada como um sério problema de saúde pública, a dor não somente interfere em termos do sofrimento do paciente, como também ocasiona um grande impacto socioeconômico (SILVA, 2013). A dor crônica, por sua vez, afeta mais de 76,2 milhões de pessoas apenas nos Estados Unidos e 1,5 bilhão de pessoas em todo o mundo. O Global Burden of Disease Study (2016), por sua vez, afirmou que a alta prevalência da dor e doenças relacionadas são a principal causa de incapacidade em todo o mundo (VOS et al., 2017).

Assim sendo, podemos relacionar essa condição como um alerta de que existe alguma circunstância que necessite de atenção por um mau funcionamento ou prejuízo estrutural. Corroborando com o fato de que é um dos principais sintomas clínicos para diversas condições, a dor está comumente ligada a busca por serviços de saúde, além de afetar o bem-estar físico, psicológico e a produtividade do trabalho (HENSCHKE; KAMPER; MAHER, 2015). Além do mais, a sua multidimensionalidade permite que essa sensação seja muito mais ampla do que as definições sugerem, podendo ser manifestada por reações autonômicas, psicológicas e comportamentais (TERMAN; BONICA, 2001). Sua classificação também é bastante abrangente, entre tais, se encontram classificações de acordo com a sua duração, sendo elas aguda, crônica e transitória, de acordo com o seu modo de ação, sendo categorizada como nociceptiva, patológica e inflamatória, e por localização e motivo, sendo elas neuropática, visceral, somática, psicogênica, oncológica, entre outras.

A dor aguda é representada por uma lesão tecidual frequentemente

relacionada a trauma, intervenção cirúrgica ou doença e dura entre alguns dias e algumas semanas, desaparecendo após a solução do problema. O uso de medicamentos é recomendado na intenção de bloquear ou reduzir a dor ou acelerar o processo de cura da lesão. Na dor transitória, por sua vez, os nociceptores são ativados sem que haja qualquer lesão, desempenhando um papel protetor sem necessidade de atenção clínica. Por último, a dor crônica ocorre quando a lesão tecidual excede a capacidade de regeneração do organismo ou quando a lesão acontece diretamente no sistema nervoso. Neste caso, a dor permanece por tempo indeterminado, causando sofrimento e afetando outras áreas significativas da vida do indivíduo. A dor crônica resultante de lesão no sistema nervoso periférico (SNP) ou no sistema nervoso central (SNC) é chamada de dor neuropática. Esse tipo de dor geralmente é muito mais severa, debilitante e de difícil tratamento, principalmente porque os mecanismos patofisiológicos são pouco conhecidos (HARDEN; COHEN, 2003).

A dor crônica também sofre interferência de outros fatores, como estresse, causas ambientais e afetivas que contribuem para a intensidade e persistência da dor (LOESER; MELZACK, 1999). Além de apresentar uma maior prevalência em pessoas que apresentam idade avançada (THOMAS, 2004), gênero feminino (GREENSPAN et al., 2007), etnia negra, asiática ou mista (MACFARLANE et al., 2015) e situação socioeconômica desfavorecida (JANEVIC et al., 2017).

Afora os efeitos adversos na qualidade de vida, a cronificação do quadro algico afeta outros aspectos do cotidiano de um indivíduo, podendo levar a comorbidade com anormalidades neurocognitivas (como por exemplo, problemas de concentração e memória) (HIGGINS et al., 2018), tabagismo (ORHURHU et al., 2015), obesidade (HITT et al., 2007) e alcoolismo (ALFORD et al., 2016).

Uma definição mais recente se refere à dor como podendo ser adaptativa ou não-adaptativa. A dor adaptativa é uma reação normal a uma lesão tecidual, incluindo a dor inflamatória. É importante citar que a inflamação é o principal componente em condições ligadas a dor, como por exemplo, na dor aguda pós-cirúrgica ou traumática e situações que envolvem a dor crônica, como na osteoartrite. Os mediadores inflamatórios atuam sensibilizando as vias neurais, dessa forma aumentando a percepção à dor. Caso a dor adaptativa não seja

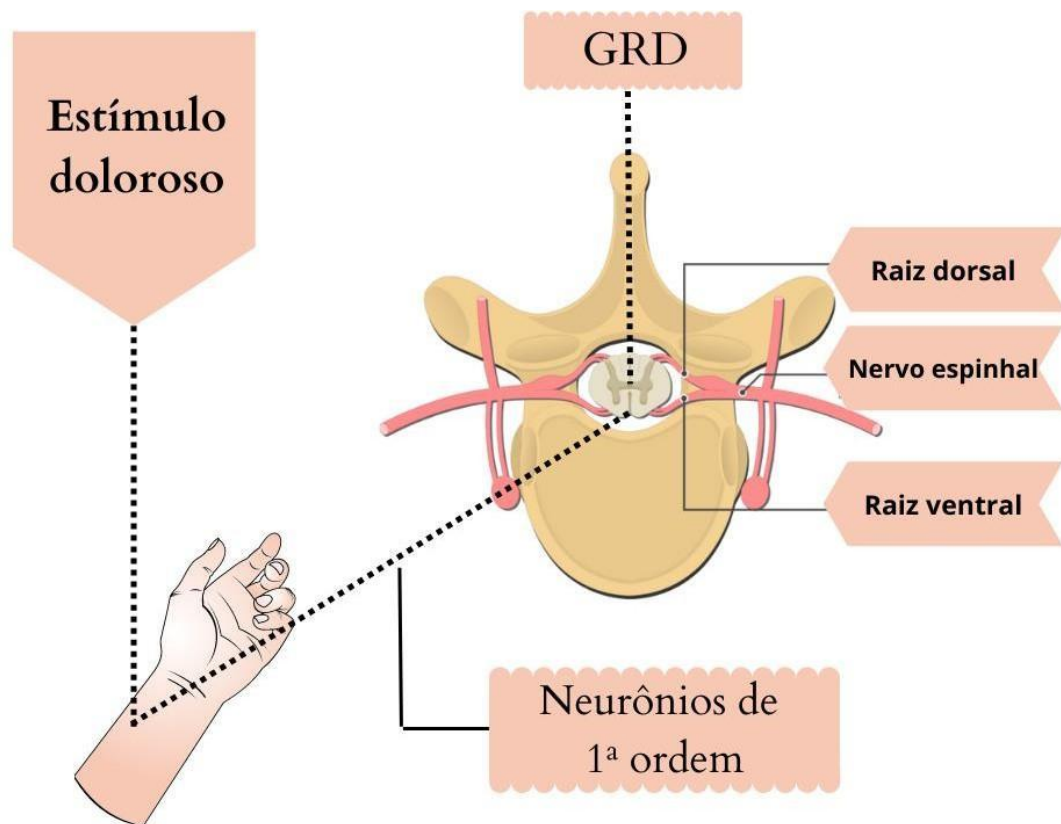
adequadamente tratada, ocorrem modificações a nível espinal e supraespinal levando à dor não-adaptativa. A dor neuropática (DN) é um exemplo de dor não-adaptativa, pois leva a alterações no processamento e na percepção do estímulo nocivo (HELLYER et al., 2007).

### 3.1.1 NOCICEPÇÃO

A dor fisiológica – ou nociceptiva – é descrita como um evento agudo e transitório envolvendo um estímulo nocivo, com o objetivo de manter a homeostase e evitar ou reduzir danos decorrentes de uma lesão (KLAUMANN et al., 2008), sendo essencial para detectar e minimizar o contato com estímulos nocivos, dessa forma detectando uma possível lesão antes da sua ocorrência (BASBAUM et al., 2009). A parte neurobiológica que gera a dor nociceptiva é estimulada em virtude da lembrança da sensação desagradável provocada e da angústia emocional que envolve a sensação da dor, fazendo com que ela se apresente como algo que deve ser evitado (WOOLF, 2010). Dessa forma, devido a sua natureza aborrecedora, a dor tem a função adaptativa de alarme, que incentiva o indivíduo a evitar e notar objetos e situações que possam ocasioná-la, prevenindo o agravamento ou o surgimento de novas lesões (MELZACK; WALL, 1991), e permitindo que sejam adotados mecanismos de defesa ou fuga (MILLAN, 1999).

A nocicepção atua na identificação do estímulo à dor, com a participação dos SNP e SNC (GARLAND, 2012), através de estruturas que transmitem e codificam informações nociceptivas, gerando, ampliando ou reduzindo a intensidade da experiência a essa condição (VEINANTE; YALCIN; BARROT, 2013). A percepção nociceptiva ocorre quando há a presença de uma condição de pressão ou temperatura considerável para lesionar o tecido. Agentes químicos também podem causar estímulos dolorosos por desencadear um processo inflamatório ou através da ativação direta do nociceptor. Estes estímulos são então detectados por neurônios sensoriais periféricos especializados, conhecidos como nociceptores (DUBIN; PATAPOUTIAN, 2010).

Os nociceptores são neurônios presentes no SNP, que possuem os seus corpos celulares localizados nos gânglios das raízes dorsais (GRD) da medula espinal. O GRD é composto por vários corpos celulares dos neurônios sensoriais e está localizada perto da medula espinal da coluna vertebral (Figura 1).



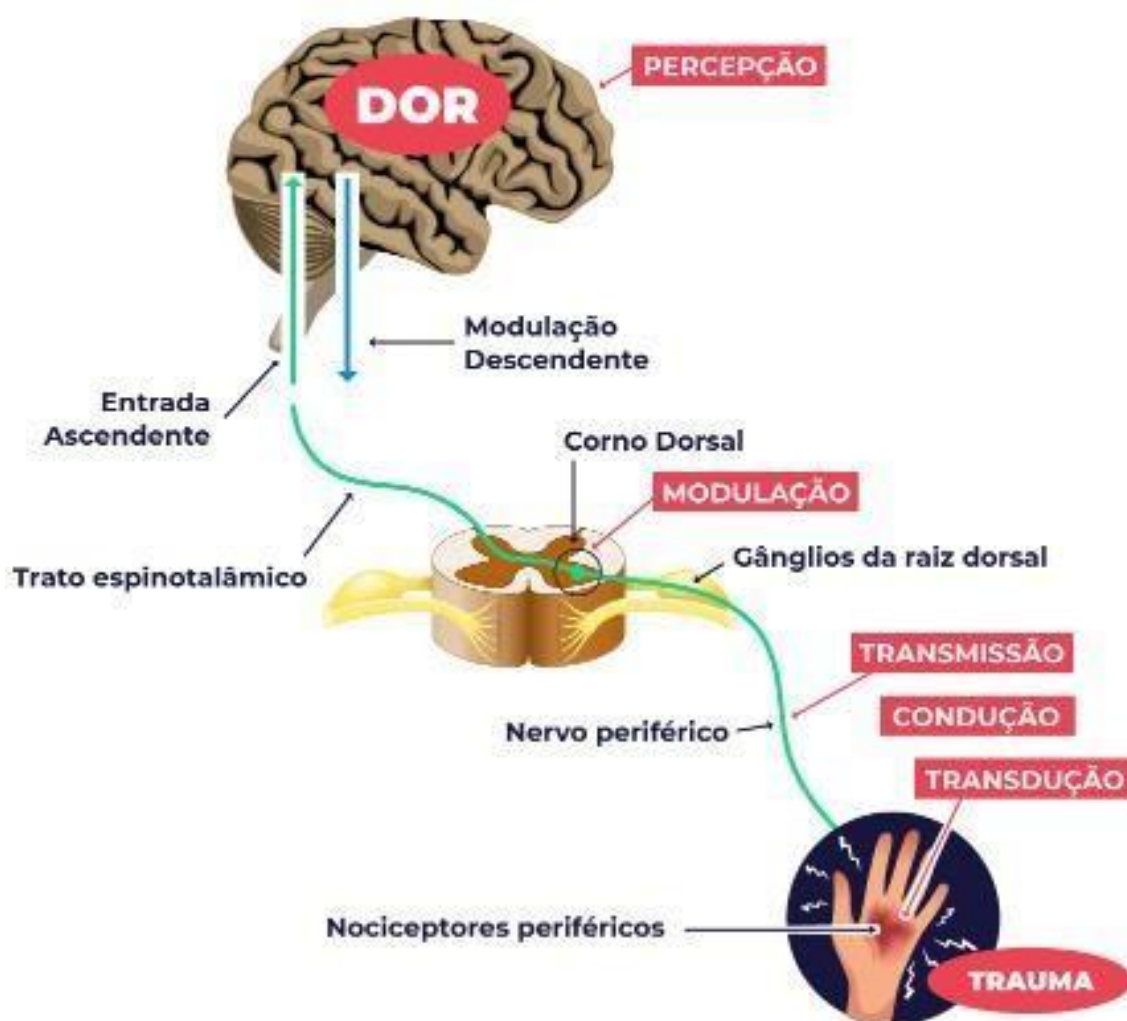
**Figura 1.** Representação do caminho percorrido pelos nociceptores (neurônios de 1ª ordem). Após o estímulo doloroso, os neurônios de 1ª ordem (nociceptores) levam a informação até o GRD. Autoria própria.

Estes neurônios sensoriais têm axônios que se projetam aos tecidos periféricos e são responsáveis pelas sensações corporais. Este prolongamento periférico que percorre os nervos sensitivos e culmina nos órgãos periféricos, constitui a fibra sensitiva. Estas fibras sensitivas podem variar em relação ao seu diâmetro, mielinização e velocidade de condução, sendo divididas em três principais grupos: A $\beta$ , A $\delta$  e C (Tabela 1). Todos os tipos de fibras sensitivas estão aptos a transmitir informação inócua, mas apenas as fibras C e A $\delta$  transmitem informação nociceptiva.

| Fibras     | Velocidade de condução | Mielinização | Diâmetro        |
|------------|------------------------|--------------|-----------------|
| A $\beta$  | 30-100 m/s             | Grossa       | >10 $\mu$ m     |
| A $\delta$ | 12-30 m/s              | Fina         | 2-6 $\mu$ m     |
| C          | 0,5-2 m/s              | Ausente      | 0,4-1,2 $\mu$ m |

**Tabela 1.** Classificação das fibras sensitivas.

A nocicepção consiste basicamente em quatro processos para a compreensão dos estímulos nocivos pelo SNC (FIGURA 2), sendo eles a transdução, transmissão, percepção e modulação. A primeira etapa é a transformação dos estímulos externos em potenciais de ação, que, das fibras nervosas periféricas, são transferidos para o SNC (TEIXEIRA, 2001). Essa transformação é chamada de transdução e ocorre através dos nociceptores localizados no SNP (CAVALCANTI; MADDALENA, 2003). A transmissão, por sua vez, é a transferência da informação nociceptiva através da medula espinhal ao tronco cerebral e ao tálamo. A percepção ocorre quando há integração do sinal pelo córtex cerebral e a modulação é o mecanismo pelo qual a transmissão sináptica dos sinais dolorosos é reduzida ou amplificada, provocando a resposta nociceptiva (BRIDGESTOCK; RAE, 2013; MERTENS et al., 2015).



**Figura 2.** Processo de nocicepção. Retirado de [www.dorcronica.blog.br/cursos/modulo-2-parte-2/](http://www.dorcronica.blog.br/cursos/modulo-2-parte-2/) acessado em 20 de março de 2022.

### 3.1.1.1 TRANSDUÇÃO

A transdução da dor exige estímulos nociceptivos adequados que promovem a despolarização de membrana gerando um potencial de ação com amplitude e duração suficiente para desencadear uma resposta nociceptiva (BOURNE; MACHADO; NAGEL, 2014). Estímulos externos ativam as fibras Aδ que geram sensações de picadas, dor aguda e bem localizada, porém, se a força do estímulo continuar ou aumentar, as fibras C são estimuladas, e o indivíduo experimenta uma dor intensa, podendo ser descrita como ardente, que continua mesmo após o término do estímulo (MEYER et al., 2006). Este estímulo



doloroso ocasionado pelas fibras C é transmitido mais lentamente e torna mais difícil a identificação exata do local da lesão (GARLAND, 2012).

As fibras A $\delta$  também podem ser divididas em duas outras classes principais, sendo elas fibras Tipo I ou nociceptores de alto limiar (HTM) ou fibras Tipo II ou nociceptores de baixo limiar (LTM). Os HTM respondem a todos os tipos de estímulos mecânicos e químicos, mas são ativos somente com estímulos térmicos > 50 °C, enquanto que os LTM possuem um limiar térmico menor, reconhecendo sensações a partir de ~ 43 °C, e uma menor sensibilidade a estímulos mecânicos. Os LTMs são menos comuns e apresentam uma condução mais lenta em relação aos HTMs (DJOUHRI, 2016). As fibras C, similarmente, disponham-se em grupos diferentes, sendo eles peptidérgicas e não-peptidérgicas, onde sua principal diferença é a expressão de canais iônicos que conferem sensibilidade diferente ao calor, frio ou agentes químicos (BASBAUM et al., 2009).

Desse modo, a sensação dolorosa é percebida por terminações nervosas livres que detectam lesões teciduais, sejam elas térmicas, mecânicas ou químicas. Estas terminações nervosas livres são classificadas de acordo com os estímulos que as ativam. Mecanonociceptores são ativados por pressão, enquanto que os nociceptores silenciosos são ativados com a presença de inflamação e mecanotérmicos polimodais são excitados com a presença de pressão excessiva, temperatura extrema e halógenos (MORGAN; MIKHAIL, 2003). Nociceptores somáticos profundos (presentes em músculo, tendões e ossos) são menos sensíveis aos estímulos do que os nociceptores cutâneos, mas facilmente sensibilizados pela inflamação. Nociceptores específicos podem existir nos músculos e responder a estímulos mecânicos, térmicos e químicos (MORGAN; MIKHAIL, 2003), já os órgãos viscerais são geralmente insensíveis e contêm nociceptores silenciosos e polimodais, respondendo ao espasmo da musculatura lisa, isquemia e inflamação, mas não à incisão, queimadura ou esmagamento. No entanto, alguns nociceptores específicos aparecem no pulmão, coração, testículos e canais biliares. O cérebro, por sua vez, carece de nociceptores (MELZACK; WALL, 1987). Os nociceptores codificam o tipo de estímulo, sua intensidade e localização (LOPES, 2003). A localização depende

da distribuição dos terminais dos nociceptores no corno dorsal (CD) da medula espinhal e a intensidade do estímulo é determinada pelo número e frequência dos potenciais de ação.

Sendo assim, após o estímulo, os nociceptores sintetizam substâncias que podem contribuir para a transmissão ou modulação da informação dolorosa para o corno posterior (CP) da medula espinhal. O glutamato, substância P (SP), fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF), prostaglandinas, adenosina trifosfato (ATP) e óxido nítrico (ON) são algumas dessas substâncias (LOPES, 2003). A transformação desses estímulos em potenciais de ação transmitidos ao SNC pelas fibras dos nociceptores desencadeia o primeiro passo para a sensação dolorosa, a transdução.

#### 3.1.1.2 TRANSMISSÃO

A transmissão é o estágio onde acontece a propagação do potencial de ação nociceptivo ao longo dos neurônios periféricos para a medula espinhal e, em seguida, para o cérebro. Os neurônios medulares podem ser classificados de acordo com a sua função como neurônios não-nociceptivos, nociceptivos específicos e de largo espectro dinâmico (WDR) (LOPES, 2003). Os neurônios não-nociceptivos respondem apenas a estímulos externos que não sinalizam injúria ao indivíduo, enquanto que os neurônios nociceptivos específicos são ativados por estímulos nocivos e os neurônios WDR respondem tanto a estímulos inócuos, quanto nocivos, sendo a sua resposta definida conforme a intensidade do estímulo. A classificação também pode ocorrer de acordo com o destino final do axônio, podendo se dividir em interneurônios, neurônios proprioespinhais ou neurônios de projeção (LOPES, 2003).

Os interneurônios se ramificam ao redor do corpo celular e desempenham papel na modulação local da transmissão da informação nociceptiva. Estabelecem sinapses com outros interneurônios, neurônios proprioespinhais e de projeção. Tanto os interneurônios com atividade excitatória como inibitória são ativados diretamente pelas fibras primárias do tipo A $\delta$ , C, e A $\beta$ , ou seja, tanto por estímulos dolorosos ou não-dolorosos. Interneurônios excitatórios se utilizam de aminoácidos excitatórios, como o glutamato e aspartato e os interneurônios

inibitórios, de ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), encefalinas e dinorfinas, acetilcolina (ACh) e glicina (LOPES, 2003). Já os neurônios proprioespinhais estendem-se pelos segmentos espinhais e estão envolvidos com a atividade reflexa. Por último, os WDR participam na transmissão através da medula espinhal até centros supraespinhais como o mesencéfalo e córtex. Os três componentes são interativos e essenciais para o processamento da informação nociceptiva, o que gera uma resposta à dor apropriada e organizada (MILLAN, 1999; LAMONT e TRANQUILLI, 2000; DREWES, 2006).

À medida que as fibras dos nociceptores penetram na medula espinhal, elas se agrupam de acordo com o seu tamanho. As fibras grossas mielinizadas tornam-se mediais e as fibras desmielinizadas, laterais. As fibras que veiculam informação dolorosa buscam neurônios de segunda ordem (os nociceptivos específicos e WDR) que se fazem presentes na substância cinzenta do CD ipsilateral para que possam transmitir a sua informação (MORGAN; MIKHAIL, 2003).

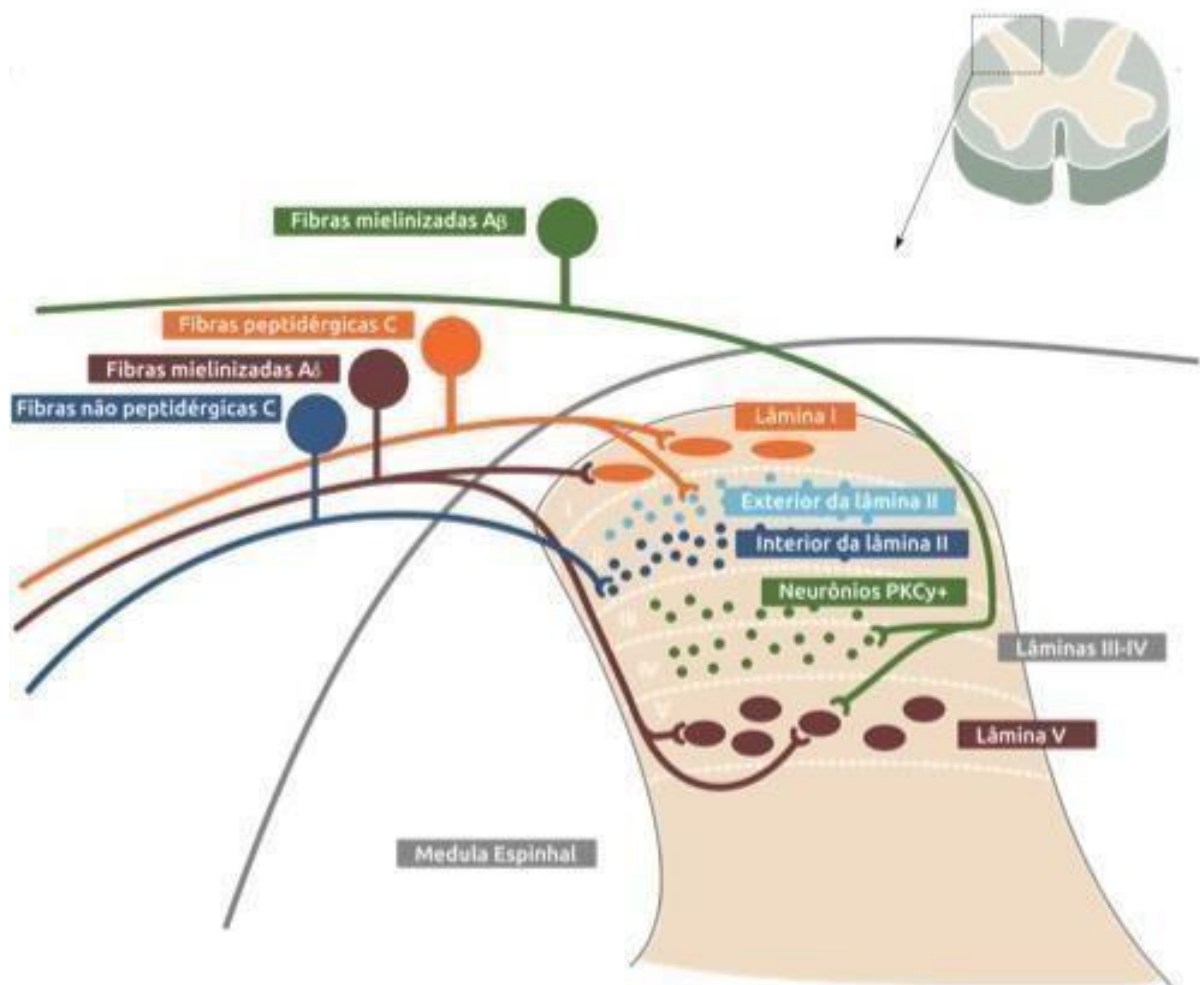
#### 3.1.1.3 PERCEPÇÃO

O próximo estágio da nocicepção é a percepção da dor, sendo este o processamento da informação nociceptiva, levando à percepção consciente da dor por meio da integração entre os estímulos nocivos com áreas corticais e do sistema límbico (BALDO, 1999).

#### 3.1.1.4 MODULAÇÃO

A modulação é o fenômeno que modifica a qualidade, a severidade e a duração da percepção dolorosa (NAIDU; PHAM, 2015). Este processo permite que as estruturas cerebrais superiores sinalizem para o CD da medula espinhal regular o processo nociceptivo. Os mecanismos utilizados promovem a modulação da resposta nociceptiva exercendo influência nos receptores presentes nas fibras primárias aferentes, bem como em neurônios do CD, nos interneurônios excitatórios ou inibitórios e neurônios de projeção (BALIKI e APKARIAN, 2015; MILLAN, 1999). A modulação de caráter inibitório, por sua vez, surge a partir de estruturas cerebrais, como o córtex cerebral, tálamo e

hipotálamo e é retransmitida para o CD através da medula rostroventromedial (RVM) no bulbo raquidiano. (BALIKI e APKARIAN, 2015).



**Figura 3.** Terminação das fibras aferentes primárias no corno posterior (CP) da medula espinhal. A organização do corno dorsal se apresenta no padrão de lâminas, onde os diferentes subgrupos de fibras aferentes primárias se conectam aos neurônios espinhais. As fibras nociceptoras pouco mielinizadas terminam em porções mais superficiais, formando sinapses com os grandes neurônios de projeção da lâmina I (representados em laranja) e com os interneurônios (representados pela cor azul claro) localizados na porção externa da lâmina II. Os nociceptores amielínicos não- peptidérgicos contactam interneurônios (azul escuro) da porção interna da lâmina II. A informação inócua, por sua vez, é transportada pelas fibras grossas mielínicas e transmitida principalmente para as lâminas III e IV. Algumas fibras Aβ se projetam também para interneurônios

excitatórios da metade ventral da porção interna da lâmina II que expressam a isoforma gama da proteína cinase C PKC $\gamma$ . Um segundo conjunto de neurônios espinhais de projeção para o encéfalo localiza-se na lâmina V e recebe informação de fibras A $\delta$  e A $\beta$ , nesta lâmina predominam assim os neurônios convergentes, de largo espectro (WDR), enquanto na lâmina I predominam os neurônios nociceptivo-específicos (NS). (Adaptado de Kandel et al., 2000).

A massa cinzenta da medula espinhal divide-se em dez lâminas, sendo as seis primeiras do CP, devido ao fato de abrigar a atividade neuronal aferente, além de ser uma região importante na modulação da dor. Na lâmina I ocorrem principalmente os estímulos nocivos provenientes do tecido cutâneo e profundo. A lâmina II (substância gelatinosa) contém interneurônios e desempenha um papel no processamento e modulação dos estímulos. Fibras A $\beta$ , que respondem a estímulos inócuos, estão localizadas nas lâminas III e IV. Algumas fibras A $\delta$  terminam na lâmina V, nas quais liberam diferentes neurotransmissores. Por fim, nas lâminas V e VI há a presença de interneurônios inibitórios e excitatórios responsáveis pela regulação do fluxo de informação nociceptiva (BRIDGESTOCK e RAE, 2013).

A ativação de interneurônios inibitórios, seja pelas fibras primárias, por interneurônios excitatórios ou por fibras descendentes provenientes de níveis superiores do SNC, inibe a transmissão da informação nociceptiva, atuando diretamente sobre os neurônios de projeção ou sobre os terminais centrais dos nociceptores (LOPES, 2003). O efeito contrário ocorre por meio da inibição descendente dos interneurônios inibitórios facilitando assim a transmissão nociceptiva (MILLAN, 2002; WESTLUND, 2006).

Além do processo modulatório descendente da dor, há também o envolvimento de outras vias como, por exemplo, o sistema gabaérgico, processo de hiperalgesia e o sistema emocional-afetivo que promovem a modulação tanto excitatória, quanto inibitória da dor (BOURNE; MACHADO; NAGEL, 2014). O sistema gabaérgico, modula a nocicepção através de mecanismos envolvendo os receptores GABA. Para que aconteça a inibição do estímulo doloroso, ocorre uma inibição pré-sináptica, onde o sistema gabaérgico impede a passagem do impulso elétrico nos terminais das fibras aferentes primárias para os neurônios de projeção. Desta mesma forma, a inibição pode ocorrer de forma pós-sináptica, onde os receptores gabaérgicos atuam sobre os neurônios de

projeção, reduzindo a sua excitabilidade, controlando a saída do impulso nociceptivo para as áreas supraespinhais (GUO; HU, 2014).

Em relação a modulação positiva, podemos citar o processo de hiperalgesia, onde a resposta ao estímulo externo é aumentada. Geralmente esta sensibilização é devido a uma lesão tecidual persistente (STEEDS, 2013). A hipersensibilidade periférica ativa várias vias de sinalização intracelular, aumenta a expressão de canais iônicos, como o TRPV1, e aumenta a concentração intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  nos nociceptores. Essas alterações levam a um aumento da transmissão sináptica nociceptiva no CD da medula espinhal, além de ocasionar a morte de interneurônios inibitórios responsáveis pela modulação e transmissão do processo doloroso, além de promover uma remodelação das sinapses neurais pelas células da glia, aumentando e intensificando a transmissão do estímulo nociceptivo. Dessa forma, os neurônios se tornam mais sensíveis e reagem de forma mais intensa aos estímulos, enquanto que as conexões de neurônios de segunda ordem aumentam no SNC (BOURNE; MACHADO; NAGEL, 2014; CURY et al., 2011; VOSCOPOULOS; LEMA, 2010).

Por fim, a dor pode ser modulada através de fatores emocionais, envolvendo processos psicológicos, como por exemplo, reação emocional, psicofisiológica e comportamental após o estímulo doloroso. A dor aumenta a atividade no sistema nervoso simpático, levando a um aumento da frequência cardíaca, tensão muscular e sensação de ansiedade. Essas emoções negativas estão associadas com a ativação da amígdala, córtex cingulado anterior e córtex insular. Estes campos cerebrais estão envolvidos com o processamento afetivo – emocional da dor (COWEN et al., 2015; GARLAND, 2012). O medo à dor também pode levar a uma hipervigilância, que modula positivamente o estímulo nociceptivo. Isto ocorre, pois, as emoções negativas e estresse atuam sobre o córtex cerebral, diminuindo a sua capacidade de regular a dor, o que pode resultar em dor aguda emocional ou crônica exacerbada (GARLAND, 2012; WIECH; TRACEY, 2009). Podemos concluir então, que o processo modulatório da dor envolve diversos mecanismos, o que torna sensação à dor uma experiência única e individual para cada ser humano (BALKI e APKARIAN, 2015; BOURNE; MACHADO; NAGEL, 2014; COWEN et al., 2015).

### 3.1.2 VIA ASCENDENTE

As vias ascendentes são relacionadas com a região onde ocorre o processamento central da dor. Existem dois principais caminhos para a condução da dor até o cérebro, sendo elas a via neoespinotalâmica, que conduz a dor somática, bem-localizada, através de poucas sinapses e a via palioespinotalâmica, que conduz a dor visceral, de localização inespecífica. Ambas são parte integrante do trato espinotalâmico.



**Figura 4.** Representação das vias da dor. O trato espinotalâmico é uma via modulatória ascendente da dor (identificado em vermelho). Retirado de <https://www.dorcronica.blog.br/> em 18 de fevereiro de 2022.

#### 3.1.2.1 TRATO ESPINOTALÂMICO

Esta é a principal via de informações de nocicepção, temperatura, toque não discriminativo (bruto) e pressão para a região somatossensorial do tálamo,

sendo composto por uma via ventral (paleoespinotalâmica) e uma lateral (neoespinotalâmica) (APKARIAN; HODGE, 1989). Os neurônios do trato espinotalâmico enviam projeções que distribuem informações para vários locais do tronco cerebral, que, por sua vez, ativam respostas autonômicas ou afetivas ou mecanismos moduladores descendentes da dor (HYLDEN et al., 1989).

Os neurônios que dão origem ao trato espinotalâmico estão localizados em diferentes camadas e são encontrados em todos os segmentos da medula espinhal. Os neurônios presentes na lâmina I possuem um menor campo receptivo e respondem à estimulação periférica nociva. Os neurônios da lâmina IV têm campos receptivos maiores e respondem a estímulos inócuos e nocivos. Já os neurônios do trato espinotalâmico nas lâminas VII-X são frequentemente bilaterais e respondem a estímulos somáticos profundos e cutâneos inócuos e nocivos (HODGE; APKARIAN, 1990).

Os neurônios do trato espinotalâmico das lâminas 1 a 6 projetam-se para o tálamo lateral e estão relacionados aos aspectos sensitivo-discriminativos da dor, enquanto que os neurônios das demais lâminas seguem para os núcleos intralaminar e medial do tálamo e estão ligados a comportamentos aversivos em resposta à dor (HODGE; APKARIAN, 1990).

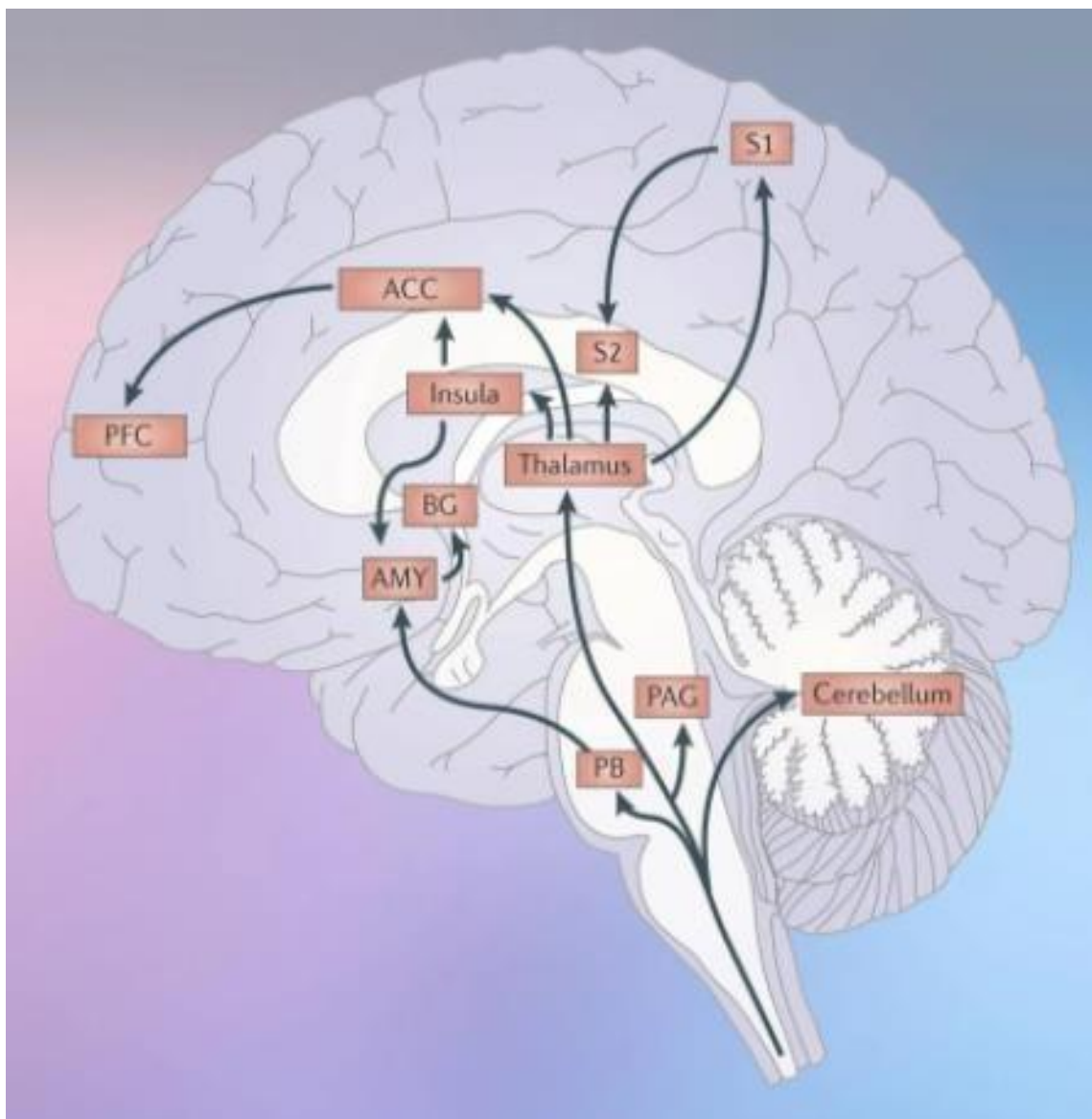
Os neurônios do trato espinotalâmico também respondem à estimulação visceral nociva, como na oclusão da artéria coronária, compressão testicular e da bexiga urinária (BLAIR; AMMONS; FOREMAN, 1984). Também foi sugerido que a liberação de aminoácidos excitatórios (por exemplo, glutamato e NMDA) e neuropeptídeos podem contribuir para a hiperalgesia na transmissão sensorial no trato espinotalâmico (DOUGHERTY; WILLIS, 1991).

Por fim, o trato espinotalâmico termina em três regiões principais, sendo estes o núcleo ventroposterolateral (PESCHANSKI et al., 1983), os núcleos intralaminares, principalmente o núcleo lateral central (MA et al., 1987) e o complexo posterior (DADO et al., 1994; LEDOUX et al., 1987).

Por fim, as entradas sensoriais nociceptivas ascendentes são integradas a regiões corticais, principalmente o córtex somatossensorial e o córtex cingulado anterior (ACC), onde a nocicepção é interpretada como dor, incluindo seu contexto emocional (FIGURA 5). Essas regiões dão origem a vias que se



projetam para os locais medulares e espinais, através das quais outras entradas nocivas podem ser inibidas ou facilitadas e, portanto, servem como um complexo sistema modulador endógeno da dor.



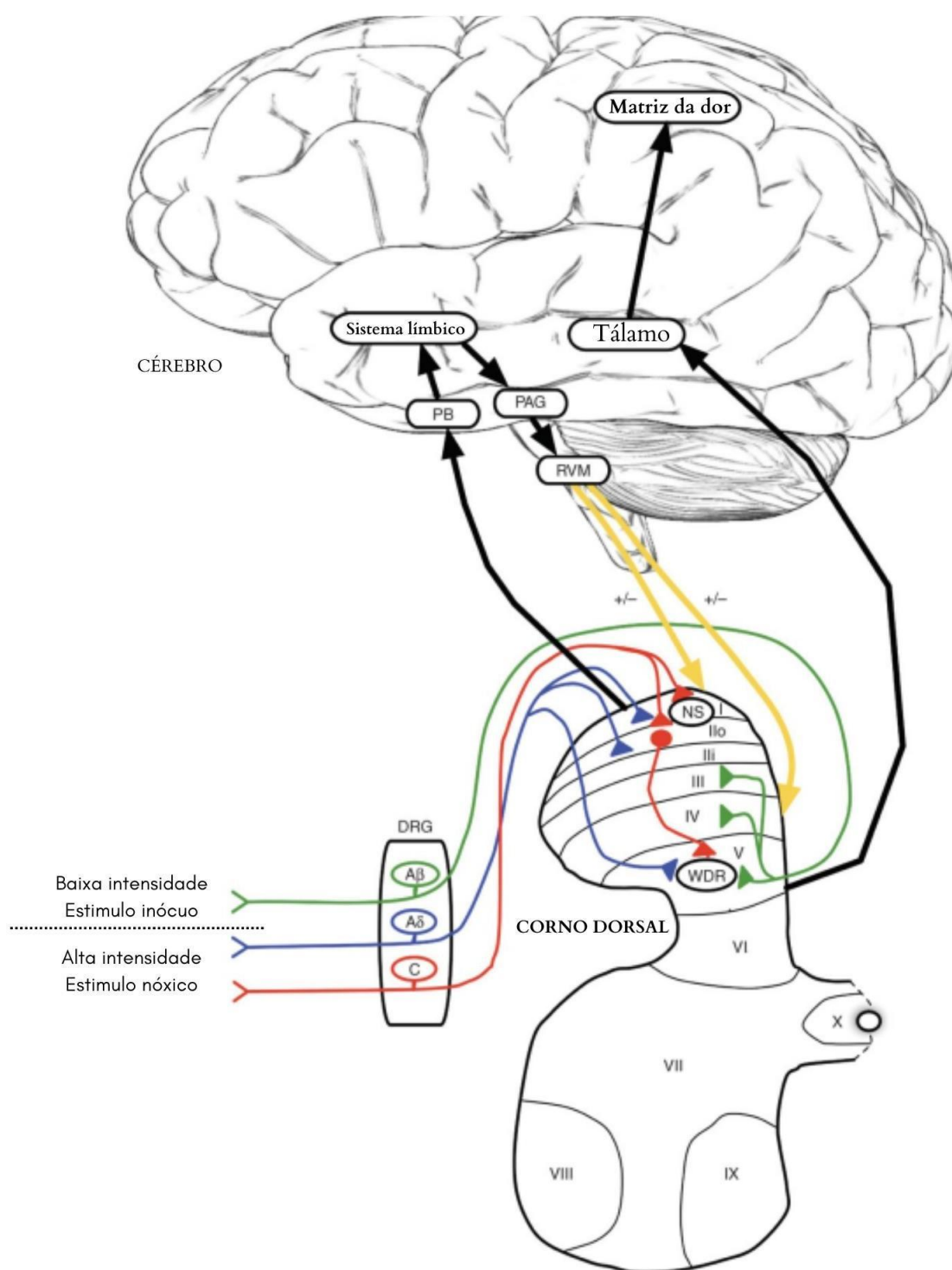
**Figura 5.** Representação das áreas ativadas pela dor. As áreas do cérebro ativadas por estímulos nocivos em estudos de imagem do cérebro humano são o córtex somatossensorial primário (S1), córtex somatossensorial secundário (S2), córtex cingulado anterior (ACC), ínsula, córtex pré-frontal (PFC), amígdala (AMY), substância cinzenta periaquedutal (PAG), gânglio basal (BG), núcleos parabraquiais (PB), tálamo e cerebelo. Retirado de <https://www.dorcronica.blog.br/controla-das-emocoes-na-dor-cronica-parte-1/> visitado dia 18 de setembro de 2021.

### 3.1.3 VIA DESCENDENTE

O sistema descendente exerce influência na percepção da dor, inibindo ou facilitando a transmissão dos estímulos nociceptivos ao nível do CD da medula

espinhal. O sistema inibitório e o sistema facilitário trabalham em conjunto com o intuito de manter o processamento sensorial em homeostase. Quando ocorre um desequilíbrio neste processamento, existe um quadro de cronificação da dor, através de um processo chamado sensibilização central, que aumenta a intensidade e a persistência do sinal doloroso. Esta situação é devido a alterações morfológicas espinais e corticais, além da ativação do sistema descendente facilitário, prevalecendo sobre o sistema descendente inibitório da dor (MILLAN, 2002).

O sistema inibitório descendente engloba a substância cinzenta periaquedutal (PAG) que se projeta para a medula rostral ventromedial (RVM), que inclui o núcleo magno da rafe (NRM), bem como o núcleo reticular gigantocelular (Gi) e o núcleo paragigantocelular (nPGi) (FIELDS; HEINRICHER; MASON, 1991). Esses neurônios provenientes do RVM se estendem ao longo do funículo dorsolateral espinhal (DLF) e terminam no corno dorsal, onde causam inibição da transmissão nociceptiva (FIGURA 6).



**Figura 6.** Representação da modulação da dor. Os neurônios que se projetam para o encéfalo enviam axônios que terminam em áreas como os núcleos parabraquiais (PB) e a substância cinzenta periaquedutal (PAG), as quais são moduladas pelo sistema límbico (emocional). Destes centros supraespinhais partem projeções axonais descendentes que ativam áreas do tronco cerebral como o bulbo rostral ventromedial (RVM) e o núcleo reticular dorsal (DRt), cujos neurônios por sua vez projetam para o CP da medula espinhal onde vão modular a transmissão nociceptiva da periferia para o SNC, facilitando ou inibindo a passagem de

informação dos aferentes primários para os neurônios espinhais. Os neurônios da lâmina V se projetam principalmente para o tálamo através do trato espinotalâmico e, posteriormente para várias regiões do córtex cerebral, como o córtex somatossensitivo primário e secundário, insular, cíngulo anterior e pré-frontal ativando a denominada “matriz da dor” (adaptado de D'MELLO; DICKENSON, 2008.).

O PAG foi uma das primeiras regiões cerebrais a demonstrar associação com o sistema inibidor da dor. Estudos realizados demonstraram que uma microinjeção de opioides ou estimulação elétrica aplicada nessa região provocava efeito antinociceptivo, tanto em animais (REYNOLDS, 1969; TSOU; JANG, 1964), como em humanos (RICHARDSON, 1977; HOSOBUCHI; ADAMS; LINCHITZ, 1977). A estimulação elétrica do PAG foi rapidamente adaptada para aliviar a dor intratável do câncer em humanos, e é comumente citada como uma das aplicações mais rápidas de um achado experimental para aplicação clínica (YOUN; BRECHNER, 1986). Embora a estimulação do PAG tenha sido amplamente descontinuada devido a outros efeitos adversos, como ansiedade e angústia, a estimulação cerebral profunda direcionada a outras regiões continua sendo um meio importante de controlar a dor intratável (BERGERON et al., 2021). A analgesia produzida pela estimulação elétrica do PAG é bloqueada por antagonistas opioides, mostrando que um sistema opioide endógeno medeia esse efeito antinociceptivo (YEUNG; YAKSH; RUDY, 1977). O PAG também recebe informações de locais centrais que recebem projeções nociceptivas da periferia, como o tálamo, hipotálamo, regiões parabraquiais, regiões corticais e do sistema límbico.

O RVM, por sua vez, inclui o núcleo serotoninérgico NRM, o Gi e o nPGi (FIELDS; HEINRICHER; MASON, 1991). Além do PAG, o RVM também recebe informações do tálamo, da região parabraquial (PB) e do locus coeruleus noradrenérgico (LCN), e é considerado o ponto comum final na modulação descendente da dor. Essa região se projeta nos cornos dorsais espinhais e no núcleo trigêmeo caudal (NTC), atuando como um modulador bidirecional, inibindo e facilitando a dor.

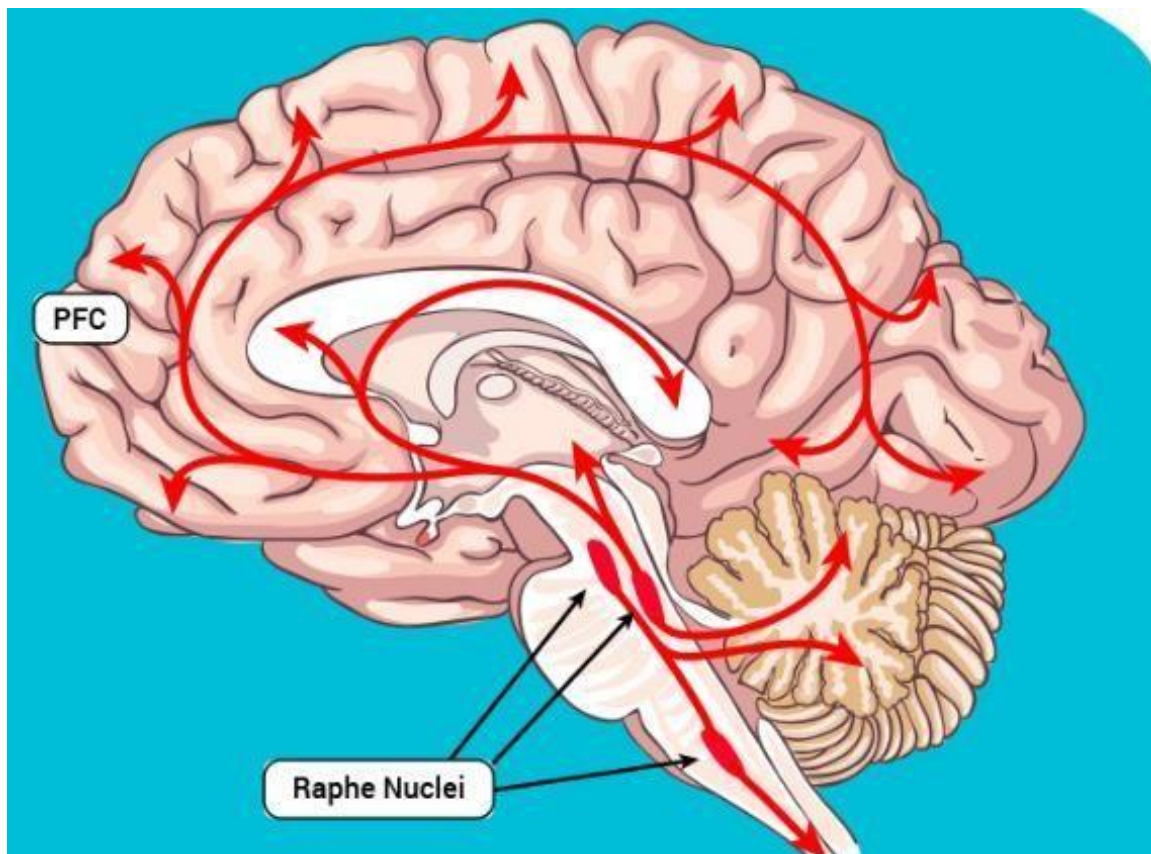
Já no que lhe diz respeito, os núcleos medulares da rafe são a rafe magno (RMg), a rafe obscura (ROb) e a rafe pálida (RPa). Todas essas regiões

possuem projeções para a medula espinhal (BOWKER et al., 1982) e até 85% dos neurônios da rafe-espinhal contém 5-HT (BOWKER; ABBOTT, 1990). Por isso, é confiável falar que a modulação desta via pode ser realizada por vias descendentes monoaminérgicas, como por exemplo pela via serotoninérgica.

Diversas evidências sugerem que a ativação das projeções descendentes do RVM provoca a liberação de serotonina nos cornos dorsais da coluna vertebral. No entanto, a 5-HT pode ser tanto pró-nociceptiva, quanto antinociceptiva, dependendo do subtipo de receptor ativado. Receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub> e 5-HT<sub>7</sub>, tendem a possuir ação antinociceptiva, enquanto os receptores 5-HT<sub>3</sub> promovem a nocicepção.

#### 3.1.4 VIA SEROTONINÉRGICA E SUA RELAÇÃO COM A DOR

Diversos sistemas de neurotransmissores têm sido implicados na transmissão, processamento e controle da dor (MILLAN, 2002). Por sua vez, o sistema serotoninérgico tem demonstrado um importante papel no controle da dor, como por exemplo, por meio da inibição descendente (FIGURA 7). As vias descendentes da 5-HT podem exercer influência tanto inibitória, quanto facilitadora no processamento espinhal de informações nociceptivas, dependendo do tipo de receptor ativado (SOMMER, 2006; DOGRUL et al., 2009).



**Figura 7.** Representação da via serotoninérgica no cérebro. A 5 HT é encontrada no tronco encefálico onde é produzida nos núcleos da rafe e armazenada em vesículas enquanto aguardam liberação. A sua via está sinalizada em vermelho. Imagem retirada de <https://home.hellodrive.com/articles/serotonin-and-its-unusual-role-in-the-brain/> visitada em 14 de maio de 2021.

Além disso, diversos receptores serotoninérgicos são expressos em neurônios do CD espinhal, onde a informação nociceptiva é transmitida das fibras aferentes primárias para os neurônios espinhais ascendentes. Na periferia, a 5-HT endógena é liberada em resposta à lesão tecidual de mastócitos, plaquetas e células endoteliais (SOMMER, 2004), além da presença de receptores neuronais de 5-HT, confirmando que este neurotransmissor atua na transmissão nociceptiva em locais periféricos.

Estudos demonstraram que a administração de 5-HT exógena, isoladamente ou em associação com mediadores inflamatórios, aumenta a excitabilidade das fibras do tipo A e C, bem como dos neurônios do DRG (neurônios sensoriais do SNP) (MOALEM et al., 2005; LANG et al., 2006). Outro

ensaio constatou que uma injeção intradérmica de 5-HT induz hiperalgesia dose-dependente em ratos, com latência curta, indicando um efeito direto nos neurônios aferentes primários (TAIWO; LEVINE, 1992). Outros pesquisadores reafirmaram esse conceito ao verificar que a injeção intraplantar de 5-HT causa edema de pata e comportamentos intensos de vacilar e lambear (SUFKA et al., 1992). Um ensaio clínico em voluntários saudáveis, a injeção intradérmica de 5-HT produziu dor (LISCHETZKI et al., 2001) e hiperalgesia após injeção no músculo masseter da mandíbula (ERNBERG et al., 2000).

Ademais, a injeção periférica de antagonistas de receptores serotoninérgicos (5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>7</sub>) inibiram comportamentos nociceptivos agudos, como alodínia mecânica e hiperalgesia induzidos por formalina (ROCHA- GONZALEZ et al., 2005; GODINEZ-CHAPARRO et al., 2011).

Em modelos de dor neuropática, foi constatado uma presença intensificada de 5-HT no nervo lesionado (VOGEL et al., 2003). Isso corrobora com outro estudo em camundongos deficientes do transportador de 5-HT, que apresentaram níveis reduzidos de 5-HT nos nervos periféricos lesionados e ausência de hiperalgesia térmica, correlatando a presença do neurotransmissor com a sensibilização periférica (VOGEL et al., 2003). Outra informação que apoia a relação entre a dor e o sistema serotoninérgico é o uso de alguns inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) no tratamento para DN (SINDRUP et al., 1990). Alterações genéticas no metabolismo da 5-HT também podem estar associadas a síndromes dolorosas, como por exemplo na suscetibilidade à enxaqueca (MARZINIAK, et al. 2005). Dessa forma, podemos elucidar que o sistema serotoninérgico possui um papel antinociceptivo devido a sua relação com a via descendente da dor, ao mesmo tempo que pode possuir uma relação pró nociceptiva quando associado aos receptores periféricos.

Por estes motivos, se reforça a importância de maiores estudos da influência dessa via na dor, além de uma maior elucidação dos mecanismos de ação dos fármacos atuantes sob o sistema serotoninérgico.

### . 3.2 ANALGÉSICOS

Os analgésicos são drogas farmacêuticas para o tratamento da dor. Só



que apesar de sua ação benéfica, o seu uso indiscriminado alcançou níveis que não são vistos com bons olhos e pode até mesmo ser considerado desnecessário (SILBERSTEIN; YOUNG, 1995; ISACSON; BINGEFORS, 2002; GUESS et al,1988). Este uso abusivo pode ocasionar problemas relacionados à saúde mental, dependência, além de outros efeitos adversos (ANTONOV; ISACSON, 1996; EGGEN, 1983; HANLON et al, 1996; JACOBSEN; HANSEN 1989).

Os medicamentos analgésicos são divididos entre opióides ou narcóticos, e não opioides. Sua principal diferença é o seu mecanismo de ação, pois enquanto os não opioides agem inibindo a produção de substâncias específicas, os analgésicos opioides atuam diretamente no SNC. Uma subdivisão ocorre entre os analgésicos não opioides, sendo divididos entre AINES (Analgésicos Não Esteróides) e AIES (Analgésicos Esteróides).

### 3.2.1 OPIOIDES E OPIÁCEOS

Os opioides são medicamentos utilizados para entorpecer a sensação da dor sem causar perda de consciência, utilizando-se de um aumento do limiar de tolerância à dor. Os locais de ação destes analgésicos estão localizados principalmente no tronco cerebral e na medula espinhal, mas outros locais podem estar associados aos efeitos relacionados ao humor e na resposta comportamental à dor. O seu mecanismo de ação é através da inibição de transmissores excitatórios de terminais nervosos que carregam estímulos nociceptivos (DUTHIE; NIMMO, 1987). Apesar de serem a principal classe de medicamentos contra a dor, eles são vistos com cautela, pois apresentam diversos efeitos colaterais.

#### 3.2.1.1 HISTÓRICO

O ópio é uma substância extraída da papoula, uma espécie da família das Papaveráceas, que se caracteriza por apresentar folhas solitárias e frutos capsulares. Seu conhecimento vem de muitos anos atrás, sendo sua descrição encontrada no Papiro de Ebers (1552 a.C.), onde é citado como uma substância utilizada para a sedação de crianças (COHEN, 1969), até mesmo na mitologia é mencionada como a forma utilizada pela Deusa Ísis para sedar seu filho Hórus

(BARAKA, 2000). O ópio também teve importância na civilização romana, simbolizando o sono e a morte (BOOTH, 1998). Na Roma antiga, o uso do ópio era recomendado para o alívio da dor (TALLMADGE, 1946). Galeno, no século II D.C., incentivava o seu uso até perceber os riscos de seu uso exagerado, através do caso do Imperador Antonino, de quem era médico e que foi vítima da dependência da droga (WRIGHT, 1968).

Em 1700, John Jones, um médico londrino, publicou o livro *Mysteries of Opium Reveal'd*, onde alertava sobre os riscos da utilização da droga. Apesar disso, não foi citada nenhuma restrição para o uso do ópio, seja para alívio da dor ou como fonte de prazer. No início do século XIX, Friedrich Sertürner, um assistente de farmacêutico, isolou os princípios ativos do ópio, descobrindo a morfina (FIGURA 8).



**Figura 8.** Estrutura da morfina. Retirado de <https://www.istockphoto.com/br/> visitado em 20 de abril de 2022.

Ao realizar uma auto experiência, Sertürner escreveu: "Considero meu dever chamar a atenção para os efeitos terríveis dessa nova substância a fim de que uma calamidade possa ser evitada" (BOOTH, 1998). Nos anos subsequentes de 1820, a morfina se tornou comercialmente disponível na Europa e América do Norte, e se popularizou como um potente analgésico (BOOTH, 1998). Em 1860, a morfina se tornou um problema médico e social, em função dos dados estatísticos de mortalidade causados por sobredose, desde então se iniciaram pesquisas em busca de novos fármacos com propriedades

parecidas. Em 1939, surgiu a meperidina, o primeiro opioide inteiramente sintético, iniciando a série de derivados da fenilpiperidina (MURPHREE, 1969).

Em 1973, pesquisadores confirmaram a existência de receptores de opioides, em pesquisas independentes. Vários tipos e subtipos de receptores foram sugeridos, sendo aceitos de forma geral a presença de receptores mu ( $\mu$ ), delta ( $\delta$ ) e kapa ( $\kappa$ ) (FINCK, 1979). Desde lá, diversos estudos têm sido realizados para melhor entendimento de seus mecanismos.

### 3.2.1.2 EFEITOS COLATERAIS DOS OPIOIDES

Apesar dos opioides serem a classe mais indicada para casos de dor crônica, é necessário parcimônia na hora da prescrição médica devido aos seus diversos efeitos colaterais. Atualmente, aproximadamente 90% dos pacientes com dor crônica recebem opioides (TRESCOT et al., 2006; MANCHIKANTI, 2007; FISHBAIN; ROSOMOFF; ROSOMOFF, 1992), e estima-se que a prevalência de abuso dessas substâncias seja em torno de 8,1% na população geral (SUBSTANCE ABUSE AND MENTAL HEALTH SERVICES ADMINISTRATION, 2006), sendo ainda maior na população de pacientes com dor (MANCHIKANTI et al., 2003; 2004), apresentando uma estimativa de 16% (MANCHIKANTI et al., 2006). É importante que os pacientes entendam que os opioides são utilizados apenas para alívio da dor, mas que esse alívio não deve ser considerado o objetivo principal do tratamento. Os opioides, do mesmo modo, não devem ser usados isoladamente para tratar a dor, sendo necessário medicamentos adicionais como anticonvulsivantes, antidepressivos, AINEs e outros tratamentos adjuvantes, além de estratégias não farmacológicas, como terapia cognitiva comportamental.

A tolerância, um de seus efeitos mais debatidos, ocorre quando há uma perda de potência analgésica, levando a necessidade de doses cada vez maiores, podendo levar a um quadro de dependência. A dependência física é o desenvolvimento de um estado fisiológico alterado que pode se caracterizar por uma síndrome de abstinência. Existem dois tipos de tolerância, sendo elas a inata, que é determinada geneticamente e se apresenta desde a primeira administração e a adquirida, que pode ser classificada como farmacocinética,

farmacodinâmica e aprendida (COLLETT, 1998). A tolerância farmacocinética resulta em alterações no metabolismo de um fármaco após administração repetida, enquanto a tolerância farmacodinâmica atua na diminuição da eficácia ao longo do tempo, relacionada com a regulação positiva dos receptores e a tolerância aprendida, em contrapartida, resulta em uma diminuição da eficácia à medida que os mecanismos compensatórios são incorporados ou aprendidos.

Efeitos imunomoduladores são observados desde 1890, quando foi realizado um estudo que demonstrou que os opioides causam imunossupressão celular e diminuição da resistência à infecção bacteriana em cobaias tratadas com morfina. Ademais, há um aumento relevante na incidência de infecções em adictos em heroína. Evidências citam que a administração de opioides pode causar efeitos inibitórios sobre anticorpos e células imunes, expressão de citocinas e atividade fagocítica. O potencial mecanismo desse efeito é através do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e o sistema nervoso autônomo (PETERSON; MOLITOR.; CHAO, 1998).

Os efeitos dos opioides na função endócrina são frequentes e vem sendo demonstrados ao longo do século XXI (KATZ; MAZER, 2009). Síndromes como a endocrinopatia opioide (OE) e deficiência androgênica induzida por opioides (OPIAD) (DANIELL, 2002; 2006), são citados como efeitos hormonais que afetam os pacientes que se utilizam desses fármacos (DANIELL; LENTZ; MAZER, 2006; FACCHINETTI ET AL., 1986). Diversos hormônios são afetados pela terapia opioide, principalmente a testosterona (total e livre), estrogênio, hormônio luteinizante (LH), hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), adrenocorticotropina (ACTH), hormônio liberador de corticotropina (CRH), e cortisol (OLTMANN; FEHM; PETERS, 2005; HALL, et al. 1990; PETRAGLIA et al., 1986; WECKBECKER; LICHTERMANN; KLINGMULLER; 2005; OLTMANNS; FEHM; PETERS, 2005). Indivíduos do sexo masculino sofrem disfunção sexual, depressão e diminuição do nível de energia, em consequência de hipogonadismo, que é uma condição médica causada pelo mau funcionamento das gônadas de pacientes de ambos os sexos, afetando ovários e testículos, resultando em deficiência na produção de determinados hormônios (BROWN; ZUELSCHORFF; FLEMING, 2006; RUAN, 2007). As mulheres também

experimentam efeitos colaterais semelhantes, incluindo depressão, dismenorreia, disfunção sexual e redução da densidade mineral óssea. Como razão, pode-se citar níveis reduzidos de estrogênio devido ao tratamento opioide (DANIELL, 2008).

Pacientes novos no tratamento podem relatar efeitos sedativos, geralmente causados pela atividade anticolinérgica dos opioides (BYAS-SMITH et al., 2005). Apesar de serem efeitos que comumente passam após a progressão do tratamento, sua ocorrência pode ser um fator para o descumprimento da terapia farmacológica e redução da qualidade de vida do paciente. Em contrapartida, os opioides apresentam influência sobre a qualidade do sono dos indivíduos, aumentando o número de turnos nos estados de vigília (KOREN et al., 2000), diminuindo o tempo total de sono e sua eficiência (KURZ; SESSLER, 2003). O agente causador pode ser através de neurotransmissores, como noradrenalina, serotonina, acetilcolina, dopamina, histamina, GABA, hormônios hipofisários e o neuro-hormônio melatonina, pois é conhecido que drogas que alterem o equilíbrio desses neurotransmissores, como os opioides, podem afetar o sono (SLATKIN; RHINER, 2004).

Constipação e náusea são considerados problemas comuns, ocorrendo em 40% a 95% dos pacientes, e podendo ocorrer mesmo com uma dose única de morfina (SWEGLER; LOGEMANN, 2006). Ainda que esses sintomas sejam frequentemente descartados como um efeito colateral trivial, as consequências a longo prazo afetam significativamente a qualidade de vida do paciente. A constipação severa pode levar a uma redução da dose do fármaco pelo médico responsável com a intenção de melhorar os efeitos adversos, consequentemente, pode levar a perda da analgesia, além da potencial formação de hemorróidas, dor e queimação retal, obstrução intestinal, ruptura intestinal e morte. A morfina também tem sido associada à liberação de histamina e consequente vasodilatação e hipotensão (BRUNTON et al., 2006).

A hiperalgesia, que é o aumento da sensibilidade à dor, é um efeito adverso reconhecido relativamente novo (MERCADANTE; VILLARI; FERRERA, 2003). Esta sensibilização aumenta, mesmo com ajustes nas dosagens do medicamento (MERCADANTE; ARCURI, 2005), seu motivo pode ser em razão

do uso prolongado e altas doses, além de poder ser relacionado a metabólitos opioides, como a morfina 3-glicerona (M3G) e a apoptose celular induzida, principalmente de neurônios GABA, levando a alterações nos circuitos neuronais presentes na medula espinhal (MAO et al., 2002).

Independentemente de todos os efeitos debatidos anteriormente, os mais graves ainda são a depressão respiratória e morte. Entre 1979 e 1990, as taxas de mortalidade por intoxicação foram, em média, 5,3% ao ano, a partir de 1990 até 2002 essa taxa aumentou para 18.1% ao ano no mundo. Essa porcentagem vem aumentando a cada ano, sendo considerado um problema sério e crescente (HUSE et al., 2001).

### 3.2.2 ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDES

Os AINEs são a subclasse de analgésicos mais usada em todo mundo (BATLOUNI, 2010), possuindo propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e antitérmicas (RIDDERIKHOF et al., 2013, LAINE et al., 2012). Podem ser utilizados sozinhos ou em combinação com outros analgésicos, incluindo opioides, só que diferente destes, não ocasionam dependência, depressão respiratória, além de apresentar menos efeitos adversos (PEREIRA; MUNECHIKA; SAKATA, 2013; SALGARELLO; VISCONTI; BARONE-ADESI, 2013.). Sendo assim, muitas vezes são utilizados sem prescrição médica.

Por outro lado, o uso destes fármacos ainda provoca reações indesejáveis principalmente em pacientes suscetíveis, como por exemplo, gastrite, úlceras gástricas, perfuração gastrointestinal, disfunção plaquetária, hemorragia e comprometimento renal (RIDDERIKHOF et al., 2013, LAINE et al., 2012). Desse modo, comprometendo a saúde do paciente e fracassando em sua relação custo- benefício, tornando-se prejudicial (SCHEIMAN; HINDLEY, 2010).

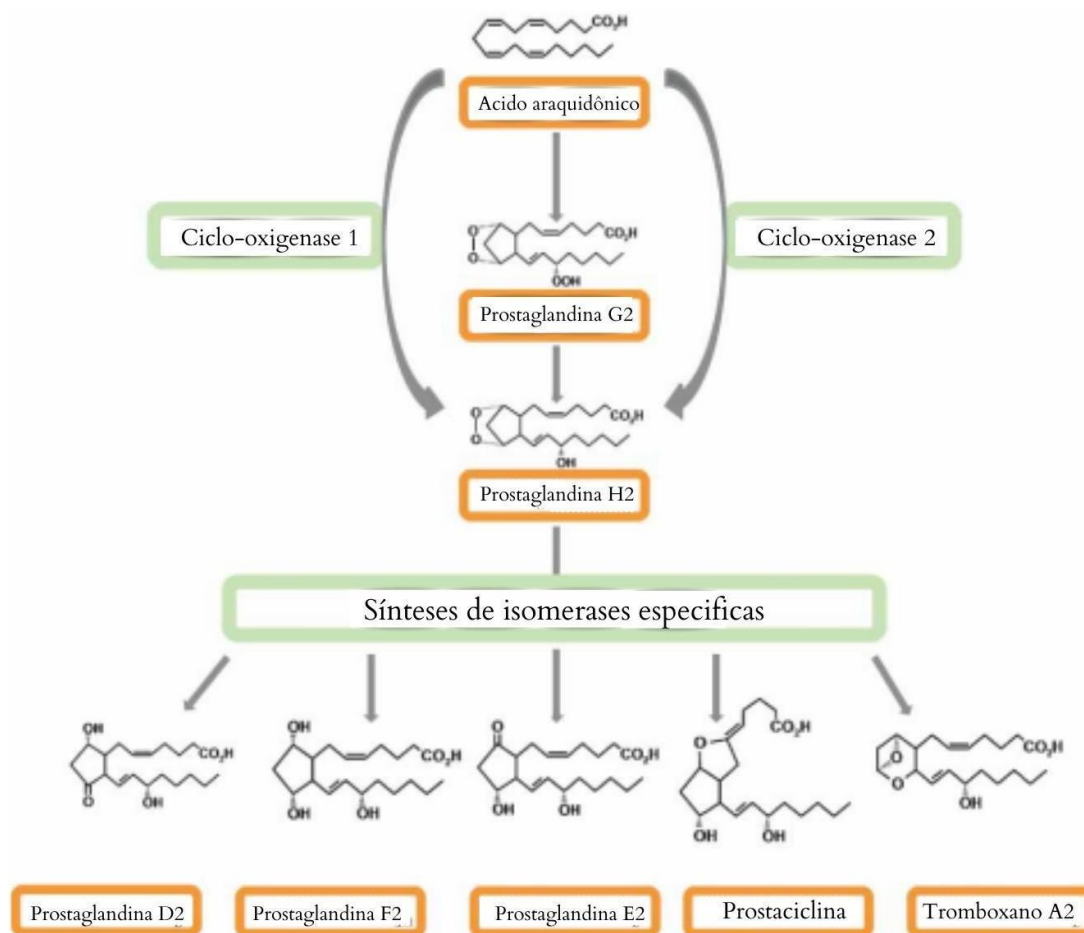
#### 3.2.2.1 MECANISMO DE AÇÃO

Os AINEs atuam reduzindo a produção de prostaglandinas, que são substâncias envolvidas na dor, inflamação e febre. Elas também desempenham um papel na proteção do revestimento do estômago e do intestino, bem como regulam a função renal. Portanto, através de sua ação de bloqueio

prostaglandinas, os AINEs ajudam a aliviar sintomas como dor, inflamação e febre, mas correm o risco de induzir irritação gastrointestinal, hemorragias, problemas renais e cardiovasculares. Seu mecanismo de ação também pode ocorrer através da inibição da enzima ciclooxigenase (COX) (VANE; BOTTING, 1996).

#### 3.2.2.1.1 ENZIMAS CICLOOXIGENASES

As COX estão diretamente envolvidas com a produção de prostaglandinas a partir do ácido araquidônico (AA) (Brune; Hinz, 2004) (FIGURA 9). A COX é composta de três domínios principais, sendo eles o domínio do fator de crescimento epidérmico (FCE) e dois domínios funcionais, o de ligação à membrana e o catalítico, sendo este o maior deles, que contém os sítios peroxidase e ciclooxigenase (VANE et al., 1998). Essas enzimas possuem tipos morfolologicamente distintos, sendo encontradas na forma de ciclooxigenase-1 (COX-1) e ciclooxigenase-2 (COX-2), embora, vem sendo estudada uma terceira isoforma, a ciclooxigenase-3 (COX-3), sendo essa uma variação da COX 1, expressa somente no cérebro e coração (CHANDRASEKHARAN et al., 2002; LÚCIO et al., 2008).



**Figura 9.** O papel da COX na biossíntese de prostanoídes. A COX catalisa a conversão do AA em PGH<sub>2</sub>, que é posteriormente convertido em diferentes prostanoídes. Adaptado de CATELA IVKOVIĆ, 2010.

A isoforma COX-1 é uma enzima expressa de forma constitutiva em diversos tecidos, sendo necessária para a manutenção do estado fisiológico normal. Entre suas funções está a proteção da mucosa gastrointestinal, controle do fluxo sanguíneo renal, homeostasia, respostas autoimunes, funções pulmonares e do SNC e bom funcionamento dos tecidos cardiovasculares e reprodutivos (ANTMAN; DEMETS; LOSCALZO, 2005; VANE; BOTTING, 1998; GROSSER; FRIES; FITZGERALD, 2006). Essas ações são realizadas por diversos prostanoídes sintetizados pela COX-1. Ao bloquear a ação da COX-1, ocorre a perda da capacidade de se realizar essas atividades, sendo assim, o trato gastrointestinal fica vulnerável, enquanto a síntese de secreção ácida aumenta, podendo levar à erosão, ulceração, perfuração e hemorragia. A probabilidade de ocorrência de úlcera ou sangramento aumenta com o uso em



doses altas ou prolongadas dos AINEs, administração conjunta com corticosteróides e anticoagulantes, tabagismo, bebidas alcoólicas e idade avançada. Por este motivo, cerca de 20% dos pacientes não toleram o tratamento com AINEs devido a tais efeitos, que incluem dor abdominal, azia e diarreia (BATLOUNI, 2010).

O rim também é beneficiado por prostaglandinas homeostáticas, como a prostaciclina, PGE<sub>2</sub> e PGD<sub>2</sub>, que são prostaglandinas geradas pela ação da COX- 1 em distintas regiões dos rins. Elas atuam dilatando a vasculatura, diminuindo a resistência vascular renal e aumentando a perfusão do órgão, levando à redistribuição do fluxo sanguíneo entre o córtex renal e os nefrons na região intramedular. Quando ocorre a inibição da COX-1 através do uso dos AINES, ocorre a diminuição da perfusão renal total, levando a um processo que pode ocasionar vasoconstrição renal aguda, isquemia medular e, em certas condições, insuficiência renal aguda. Dessa forma, esse grupo de fármacos compromete a função renal, especialmente em pacientes de alto risco (WHELTON, 1999).

A COX-2, por sua vez, foi descrita em 1992, e está presente, principalmente, no cérebro e medula espinhal e é expressa em resposta a agentes pró-inflamatórios, como citocinas, endotoxinas, fatores de crescimento e promotores de tumor (TANIURA et al., 2002; RAMSAY et al., 2003; YAQUB et al., 2008). Ela atua no desenvolvimento de edema, rubor, febre e hiperalgesia (TOPPER et al, 1996; FITZGERALD, 2004), além de se fazer presente em regiões glomerulares e vasos sanguíneos nos rins, demonstrando importância na manutenção das funções fisiológicas cardiovasculares e renovasculares. Desse modo, a inibição da COX-2 por AINEs acarreta efeitos colaterais renais e cardiovasculares (KROTZ et al., 2005; SOMVANSI et al., 2007). Evidências citam ainda que o uso de AINES que bloqueiam seletivamente a COX-2 aumenta o risco cardiovascular, incluindo aumento do risco de infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca, insuficiência renal e hipertensão arterial (ANDERSON et al, 2006). Por este motivo, pacientes com histórico de doença cardiovascular ou com alto risco de desenvolvimento devem limitar o uso de medicamentos que inibem a COX-2 a tratamentos que não

possuem alternativas apropriadas, e somente em doses baixas e pelo menor tempo necessário.

A COX-3, possivelmente é uma variante da COX-1, pois é derivada do mesmo gene dessa isoforma. Ela se encontra distribuída principalmente no córtex cerebral, medula espinhal e coração, sendo mais sensível ao acetaminofeno (paracetamol) do que a COX-1 e COX-2. A expressão dessa terceira variante da COX foi demonstrada em estudos *in vitro* com linhagens de macrófagos (CHANDRASEKHARAN et al. 2002; COLVILLE-NASH et al., 1998). A sua importância pode estar associada a um mecanismo anti-inflamatório, pela expressão de um membro da família das ciclopentanonas, a 15desoxe-D (JANEWAY et al., 2001).

### 3.2.2.2 HISTÓRICO

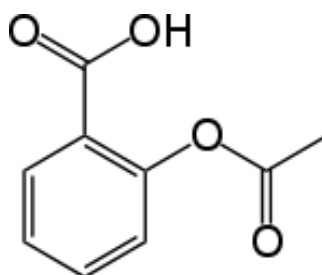
Os AINES são os principais analgésicos utilizados desde os primórdios da humanidade, entre os mais antigos se encontram o ácido acetilsalicílico e o ibuprofeno.

#### 3.2.2.2.1 ÁCIDO ACETILSALICÍLICO.

Textos antigos sugeriram o uso da casca do salgueiro (*Salix Alba*) como um minimizador de dores e febre causadas por doenças comuns da época. Mas apenas em 1763, o reverendo Edmundo Stone de Chipping Norton do condado de Oxford, Reino Unido, descreveu de forma científica as propriedades benéficas da planta. Em 1828, o farmacêutico francês Henri Leroux e o químico italiano Raffaele Piria isolaram o seu princípio ativo e o chamaram de salicina ou ácido salicílico. Já em 1859 o químico Herman Kolbe, descobriu a estrutura química desse ácido e encontrou uma forma de produzi-lo de forma sintética e a partir de 1874, a Companhia Heyden começou a produzir o ácido salicílico como um agente analgésico. Apesar de seu lado positivo, já era possível observar efeitos colaterais, como por exemplo, a irritação estomacal provocada por sua ingestão.

Posteriormente, foi elaborado um método para produção do ácido acetilsalicílico (FIGURA 10). De acordo com o Laboratório Bayer, foi Felix

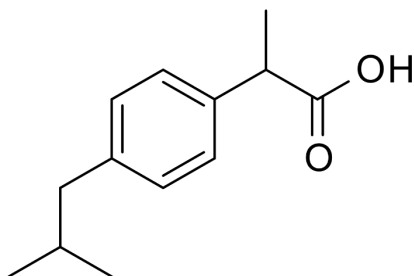
Hoffmann em 1897, que atuava na empresa realizando trabalhos onde adicionava o grupo acetil ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ) a drogas na tentativa de aumentar sua potência e diminuir a sua toxicidade. Seus trabalhos focaram em métodos analgésicos, pois seu pai sofria de artrite severa. A sua descoberta ficou mundialmente conhecida como aspirina, apesar da Bayer ter perdido a patente para um químico francês chamado Charles Gerhardt que tinha sintetizado uma versão impura do composto. Atualmente, é o medicamento mais usado em todo o mundo. (MONTINARI; MINELLI; DE CATERINA, 2019).



**Figura 10.** Estrutura molecular do ácido acetilsalicílico.

#### 3.2.2.2 IBUPROFENO

O ibuprofeno (FIGURA 11) é provavelmente um dos medicamentos mais utilizados para tratar a dor nos dias de hoje, servindo como um substituto do paracetamol e do ácido acetilsalicílico no manejo de dores leves a moderadas. Entre os anti-inflamatórios não-esteroides, este apresenta o menor risco gastrointestinal, sendo recomendado como representante de primeira escolha (THOMAS et al., 2006).



**Figura 11.** Estrutura molecular do ibuprofeno.

Sua criação foi idealizada pelo Dr. Stewart Adams nos Laboratórios da Boots Company em Nottingham (Reino Unido), com a intenção de sanar as necessidades terapêuticas no tratamento da dor e inflamação em doenças artríticas (RAINSFORD, 2011). Naquela época os medicamentos disponíveis eram poucos e apresentavam efeitos colaterais como úlceras gastrointestinais e sangramento, sendo até mesmo considerado consequências “necessárias” e “inevitáveis” do tratamento (COPEMAN, 1964).

Por este motivo na década de 1950, Adams iniciou a síntese de uma série de compostos com a intenção de descobrir um substituto para a aspirina. Com isso, após a triagem inicial em um modelo animal de inflamação aguda da pele, o antecessor do ibuprofeno, o ibufenaco, apresentou resultados promissores, só que apesar disso produziu toxicidade hepática em pacientes com artrite reumatoide (AR). Sendo assim, foram realizadas alterações em sua estrutura e maiores investigações de sua farmacocinética (RAINSFORD, 1999). Os ensaios iniciais foram conduzidos pelo Dr. Tom Chalmers para analisar a eficácia do ibuprofeno, onde foi visto resultados semelhantes aos analgésicos existentes no mercado na época, só que com o diferencial de não apresentar efeitos adversos, como efeitos ulcerogênicos (ADAMS, 1987). Em 1969, foi lançado ao mercado com o nome Brufen, sendo indicado para o tratamento da AR. Hoje em dia, é amplamente utilizado como um medicamento de prescrição para tratar a AR, osteoartrite (OA) e outras dores musculoesqueléticas (RAINSFORD, 2012).

### 3.2.2.3 EFEITOS COLATERAIS DOS AINES

A origem dos efeitos adversos observados pelo uso indiscriminado dos AINES se baseia principalmente na inibição da produção de prostaglandinas. As prostaglandinas são produzidas a partir de fosfolipídios da membrana celular por uma cascata enzimática, que tem início com a conversão de fosfolipídios em AA pela enzima fosfolipase A2. O AA, posteriormente, é convertido em prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos, a partir das enzimas COX, alvo dos AINEs, que ao serem inibidas, atuam dificultando uma série de processos necessários para a homeostase corporal (SANDOVAL et al., 2017).

### 3.2.2.3.1 PROSTAGLANDINAS

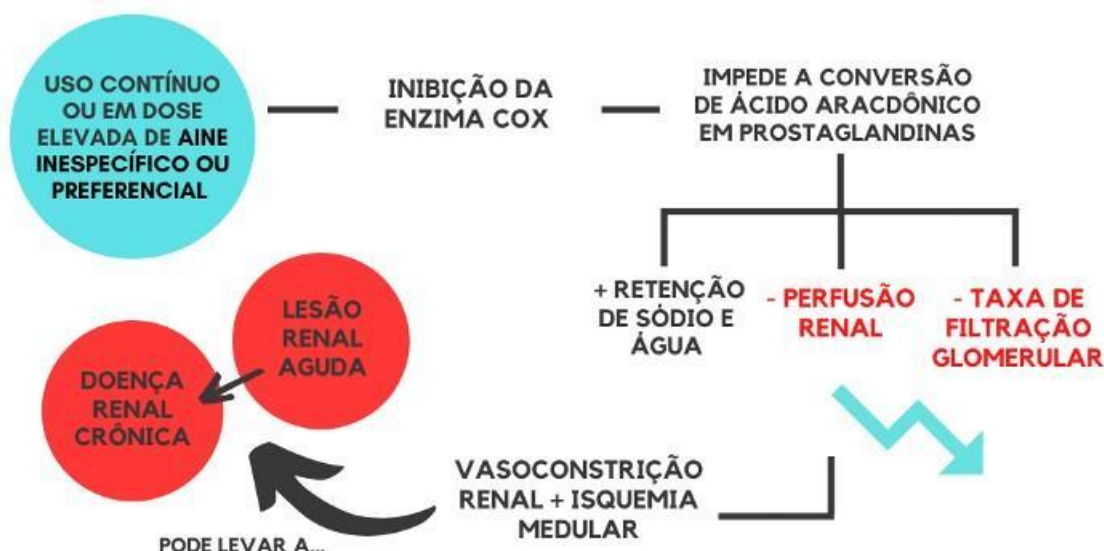
Alguns processos fundamentais para o equilíbrio corpóreo são realizados pelas prostaglandinas em sistemas essenciais, como o sistema renal, cardiovascular e gastrointestinal.

Os rins são órgãos que atuam na função excretora do corpo, e para isso dispõem de mecanismos regulatórios, como a síntese de prostaglandinas, que atuam na manutenção da taxa de filtração glomerular (TFG) e da homeostase renal (EJAZ; BHOJANI; JOSHI, 2004). As prostaglandinas, como a prostaciclina, PGE2, PGD2, atuam como vasodilatadores na arteríola aferente, aumentando a perfusão renal, com distribuição do fluxo do córtex para os néfrons na região medular renal. Essa vasodilatação atua no sistema renina-angiotensina-aldosterona e do sistema nervoso simpático (SNS), utilizados para compensar e assegurar o fluxo necessário para o órgão. Com a inibição desse mecanismo pelos AINEs, pode ocorrer vasoconstrição aguda e isquemia medular, que pode ocasionar lesão renal aguda (BURUKOGLU et al., 2016).

A PGE2, além de sua atuação vasodilatadora, promove a diurese e age inibindo o transporte de sódio e cloreto na alça ascendente de Henle e nos ductos coletores, por meio da estimulação do receptor da prostaglandina E1, levando à natriurese, que é a excreção de quantidades anormais de sódio pela urina (MUSU et al., 2011). O uso de AINEs, pode promover uma maior retenção de sódio e água e conseqüentemente formação de edema, pela inibição da PGE2 (POUNTOS et al., 2008).



# AINE e o Sistema Renal



**Figura 12.** AINEs e o sistema renal. Disponível em <https://nave.vet.br/posts/caes-e-gatos/aines-em-gatos/> acessado em 20 de abril de 2022.

Além da sua atuação nos rins (FIGURA 12), as prostaglandinas desempenham funções como a proteção da mucosa gastrointestinal, ativação plaquetária, atuação no processo de inflamação, broncodilatação, entre outras (BATLOUNI, 2010).

Alguns efeitos colaterais dos AINEs que ocorrem no aparelho gastrointestinal, acarretam dor abdominal, azia e diarreia, advindos do bloqueio da COX-1 na mucosa gastrointestinal e a consequente inibição da produção de prostaciclina e prostaglandinas (PGE2 e PGD2) no estômago. Isso decorre, pois, as prostaglandinas servem como agentes citoprotetores da mucosa gastrointestinal, inibindo a secreção ácida, aumentando o fluxo sanguíneo local e a secreção de muco protetor. Ao longo prazo, essa situação pode causar erosões e úlceras gástricas e duodenais (BATLOUNI, 2010). Cerca de 15% a 30% dos usuários regulares de AINES, apresentam úlceras existentes (SAUL et

al., 2007).

Alguns ensaios clínicos também evidenciam o desenvolvimento de hipertensão (WALKER; BIASUCCI, 2018), e um aumento do risco da ocorrência de doenças cardiovasculares, como infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral e insuficiência cardíaca, devido ao uso de AINEs (BATLOUNI, 2010). O fator principal é o aumento da pressão arterial, causada pela alteração no equilíbrio hidroeletrolítico e na reatividade vascular (MENDES et al., 2012). Pacientes com história prévia de doença cardiovascular ou com alto risco devem tomar as devidas precauções quando utilizarem AINEs, sendo recomendados somente com prescrição médica (RIBEIRO ET AL., 2005). Foi relatado também que os AINEs interferem na classe de anti-hipertensivos cujo mecanismo de ação envolve a síntese de prostaglandinas vasodilatadoras, e por esse motivo deve ser realizada uma avaliação sobre a interação medicamentosa antes de qualquer administração.

### 3.2.3 AIES

Os AIES ou corticosteroides exercem efeito anti-inflamatório (glicocorticoide) e imunossupressor, sendo indicados em diversas situações clínicas, como doenças reumáticas, doenças inflamatórias intestinais, neoplasias, insuficiência e hiperplasia suprarrenal, doenças imunopáticas e condições alérgicas (BNF 57, 2009). Os principais fármacos desta classe são a cortisona, hidrocortisona, beclometasona, betametasona, dexametasona, metilprednisolona, prednisolona e triancinolona (DAMIANI et al., 2001), que atuam diminuindo o influxo e a atividade dos leucócitos e células mononucleares, o número de células B e T nos linfonodos e as células T secretoras de citocinas, afora a capacidade de diminuir a inflamação crônica autoimune (ANTI, GIORDI, CHAHADE, 2008; PAULI, 2006). Os AIES se beneficiam da sua capacidade anti-inflamatória e imunossupressora ocasionada pela estabilização da membrana dos lisossomos e inibição da formação de cininas, que são responsáveis pelas reações inflamatórias, consequentemente diminuindo a dor, o aumento da permeabilidade capilar e vasodilatação (VALENTE, SUSTOVICH E ATALLAH,

2001). Pesquisadores orientam que sua administração só deve ocorrer se não possuir alternativas viáveis que apresentem menos efeitos adversos. E caso a administração seja necessária, deve ser por períodos curtos e em baixas doses, com objetivo de diminuir o sintoma e não como tratamento da doença.

O uso prolongado de corticosteróides pode causar efeitos indesejáveis, como imunossupressão, aumentando a propensão a infecções e supressão da atividade da glândula suprarrenal, além de risco de necrólise avascular do colo femoral e síndrome de Cushing. Reações mais graves também podem ocorrer, tais como, inibição do crescimento em crianças (sem possibilidade de reversão), distúrbios do balanço hidroeletrolítico (causando edema, hipertensão e hipopotassemia), afinamento da pele, osteoporose, fratura espontânea, glaucoma, miopatia, úlcera péptica e diabetes melito. A retirada abrupta, por si só, não é recomendada, em função de sintomas subsequentes como febre, mialgia, artralgia, rinite, conjuntivite e nódulos cutâneos, entretanto, sintomas mais graves podem ser ocasionados como insuficiência suprarrenal aguda, hipotensão e óbito (WHO, 2008).

### 3.3 SELÊNIO

O selênio (Se) é um elemento indispensável para a maioria das formas de vida, sendo considerado um micronutriente com forte capacidade antioxidante. Encontra-se o Se na forma dos aminoácidos selenocisteína e selenometionina, incorporado ao organismo humano. Estes aminoácidos são componentes fundamentais em proteínas que desempenham papéis essenciais para a homeostase do organismo, tal como, a manutenção do controle redox celular, ou seja, na neutralização dos radicais livres, estimulação do sistema imunológico e intervenção no funcionamento da glândula tireóide (HATFIELD; BERRY; GLADYSHEV, 2012). Além disso o seu déficit pode resultar em distúrbios cardíacos, musculares, ósseos e imunológicos (AGARWAL; BEHARI, 2007; BROOME et al., 2004).

Os pesquisadores Schwarz e Foltz (1957) foram os primeiros a teorizar sobre sua importância na saúde do indivíduo, a partir de um estudo que



visualizou que o Se impediu danos necróticos no fígado de ratos (SCHWARZ; FOLTZ, 1957). Com isso, diversos outros ensaios foram realizados, com a intenção de compreender e sintetizar compostos orgânicos de Se como possíveis fármacos (KLAYMAN, 1973; SHAMBERGER, 1983).

Com a descoberta de sua relação com a enzima glutathione peroxidase, que atua na biotransformação e eliminação de xenobióticos e na defesa das células contra o estresse oxidativo, e na regulação do estresse oxidativo (ROTRUCK, 1981; HUBER et al, 2008; CADENAS; SIES, 1985; URSINI; BINDOLI, 1987), o interesse pela síntese de compostos orgânicos com base nas propriedades biológicas e químicas das porções de Se aumentou.

Desde então, diversos estudos vêm demonstrando atividades benéficas promissoras. Em um estudo de 1985, foi presenciado atividade anticarcinogênica do Se, onde o composto selenazofurina era 8 vezes mais potente do que os outros compostos testados contra a leucemia P388 (BORITZKI, 1985).

A atividade positiva também foi relatada perante o sistema cardiovascular, o que demonstra ser promissor se levar em comparação o efeito danoso causado pelo uso dos AINES, principalmente pelos inibidores seletivos da COX-2. Um ensaio com coelhos reconheceu que uma dieta rica em Se poderia proteger o sistema cardiovascular da cardiotoxicidade de um fármaco quimioterápico (DIMITROV et al, 1987). Outro estudo sobre a doença de Keshan, uma cardiomiopatia endêmica presente nas áreas rurais da China, demonstrou que seus sintomas foram atenuados pela suplementação de Se (GE et al., 1983).

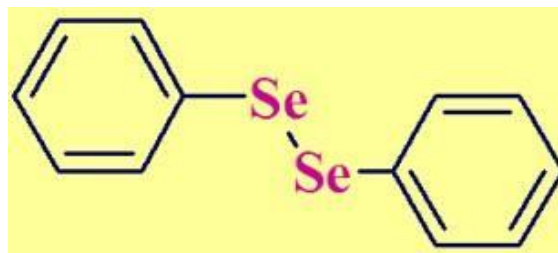
Evidências sugerem que o Se é capaz de modular a resposta inflamatória, demonstrando que uma dieta que forneça o Se na quantidade ideal é necessária para obtenção de uma boa resposta imune (COMBS JR et al, 1986). Compostos orgânicos de Se também apresentam atividade antibacteriana e antifúngica (MAUTNER, 1956). O Se, da mesma forma, possui uma estreita relação com o SNC. O cérebro é um órgão com uma alta atividade metabólica e uma alta concentração de ácidos graxos polinsaturados, tornando-o mais suscetível à peroxidação (degradação oxidativa dos lipídios), e consequentemente ao estresse oxidativo (WANG; MICHAELIS, 2010). Levando isso em consideração,

podemos associar o estresse oxidativo como um possível agravante e indício para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, como por exemplo, a doença de Alzheimer (DA), doença de Parkinson (DP), doença de Batten, síndrome de Down, entre outros (DAVIES, 2014; FEDERICO et al., 2012; WESTERMARCK; SANTAVUORI, 1984; MARKESBERY, 1997; NÈGVE, 1984; CLAUSEN, 1984). Dessa forma, as selenoproteínas, com sua atividade antioxidante, desempenham um importante papel na proteção contra os radicais livres (CARDOSO, et al., 2015), sendo assim, existe prioridade para a captação cerebral em relação ao resto do organismo (BEHNE; WOLTERS, 1983). Portanto, o Se é fundamental para a normalidade do funcionamento deste tecido (KRYUKOV, 2003).

### 3.3.1 COMPOSTOS ORGÂNICOS DE SELÊNIO

Levando em consideração seus efeitos favoráveis à saúde humana, diversos compostos contendo selênio vêm sendo estudados e debatidos na literatura científica.

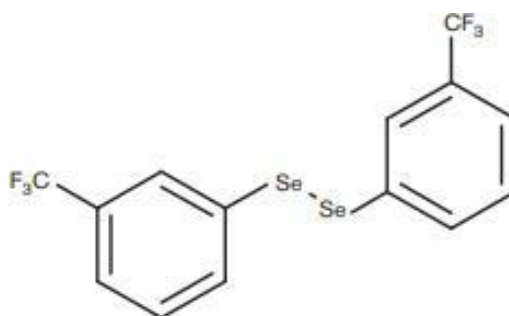
Entre as pesquisas, se encontra o disseleneto de difenila (PhSe)<sub>2</sub> (FIGURA 13) um composto orgânico de selênio, que demonstrou ter propriedades antioxidantes (MEOTTI et al., 2004), neuroprotetoras (POSSER et al., 2008), anti- inflamatórias e antinociceptivas (NOGUEIRA et al., 2003; SAVEGNAGO et al., 2007), além de efeitos antidepressivos e ansiolíticos (SAVEGNAGO et al., 2008; ACKER et al., 2009) e aprimoramento cognitivo em roedores (ROSA et al., 2003; STANGHERLIN et al., 2008). Seu efeito antinociceptivo envolve vias serotoninérgicas, sistemas nitrérgicos e receptores de glutamato (ZASSO et al., 2005; SAVEGNAGO et al., 2007). No entanto, a exposição crônica a altas doses de (PhSe)<sub>2</sub> causa efeitos adversos cerebrais e teratogenicidade em camundongos (NOGUEIRA et al., 2004; FAVERO et al., 2006).



**Figura 13.** Estrutura do  $(\text{PhSe})_2$ . Retirado de [www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-diphenyl-diselenide-PhSe-2\\_fig1\\_27451356](http://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-diphenyl-diselenide-PhSe-2_fig1_27451356) 1 acessado em 04 de abril de 2022.

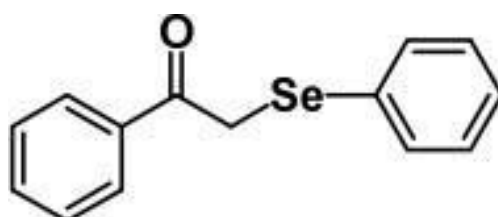
Por este motivo foi elaborado o disseleneto de m-trifluorometil-difenil ( $m\text{-CF}_3\text{-C}_6\text{H}_4\text{Se}$ )<sub>2</sub> (FIGURA 14), que é um análogo do  $(\text{PhSe})_2$  com o adicional de um grupo funcional  $\text{CF}_3$ . A inserção deste grupo funcional ocorreu na expectativa de se obter um composto menos neurotóxico para camundongos (NOGUEIRA et al., 2003). Suas propriedades farmacológicas são abrangentes, tendo demonstrado capacidade de atenuar a estereotipia induzida por apomorfina (MACHADO et al., 2006), atividades antimutagênicas e antigenotóxicas (MACHADO et al., 2009), antioxidante (PRIGOL et al., 2009) e efeitos do tipo ansiolítico (BRUNING et al., 2009) e antidepressivo (BRUNING et al., 2011; 2015). Uma atividade anticonvulsivante, igualmente foi identificada, sugerindo essa molécula como potencial tratamento de crianças que apresentam convulsões (MAGNI et al., 2012). Efeito anti-inflamatório, do mesmo modo, foi analisado em um modelo induzido por CFA, que indicou uma possível associação entre mecanismos periféricos e centrais (ARAUJO et al., 2020). Sua atuação também abrange a antinocicepção, tendo demonstrado efeito em modelos de nocicepção química (testes de capsaicina e ácido acético) e térmica (testes de placa quente e imersão de cauda) em camundongos, sem modificar a sua atividade locomotora. Uma de suas características promissoras advém do fato de que sua administração repetida desencadeia efeitos farmacológicos antidepressivos, ansiolíticos e antinociceptivos, sem desenvolver tolerância e dependência, que estão entre os principais efeitos adversos da morfina (ROSA et al., 2017). Outro estudo atestou efeitos antidepressivos e anti-hiperalgésicos em um modelo de

comorbidade de dor-depressão induzida por reserpina em camundongos, tendo possivelmente uma relação com a redução dos parâmetros de estresse oxidativo, proteínas apoptóticas e dos níveis de glutathione redutase (GR) no hipocampo de camundongos (GARCIA et al., 2021). A ação do composto é relacionada com o sistema opioide (BRUNING et al., 2010), gabaérgico (MAGNI et al., 2012) e serotoninérgico (BRUNING et al., 2014).



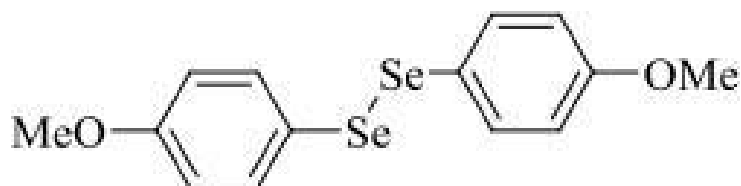
**Figura 14.** Estrutura do  $(m\text{-CF}_3\text{-C}_6\text{H}_4\text{Se})_2$ . Retirado de <https://link.springer.com/article/10.1007/s11010-012-1328-5> acessado em 04 de abril de 2022.

Outro composto orgânico de selênio que demonstrou diversos efeitos favoráveis foi o  $\alpha$ -(fenilselanil) acetofenona (PSAP) (FIGURA 15), que apresentou reversão de comportamento depressivo, ansiogênico e hiperalgésico induzido por lipopolissacarídeos (LPS). Esse efeito foi acompanhado pela reversão das alterações induzidas pelo LPS em mediadores inflamatórios cerebrais, por meio da redução da ativação da proteína quinase p38 ativada por mitógeno (p38 MAPK) e p65NF- $\kappa$ B (uma subunidade do complexo de transcrição NF-kappa-B), além de modular a restauração dos níveis de COX-2 e fator neurotrófico derivado do cérebro maduro (mBDNF). Dessa forma, o PSAP se expressou como uma molécula promissora no tratamento de transtornos de humor associados à dor (SOUSA et al., 2019; 2018). Além disso, o PSAP não apresenta toxicidade aguda ou crônica (CASARIL et al., 2015 ; GERZSON et al., 2012).



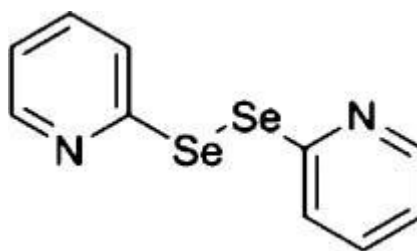
**Figura 15.** Estrutura PSAP. Retirado de Sousa et al., 2017.

O disseleneto de *p*, *p'*-metoxil-difenil [(OMePhSe)<sub>2</sub>] (FIGURA 16), por sua vez, é uma molécula de orgânica de selênio que possui propriedades farmacológicas (NOGUEIRA; ROCHA, 2011; NOGUEIRA; ZENI; ROCHA, 2004) e baixo potencial toxicológico (MARCONDES-SARI et al., 2017). Sua atuação em modelos de nocicepção foi muito bem relatada e foi bastante promissora (JESSE; ROCHA; NOGUEIRA; SAVEGNAGO, 2009; OLIVEIRA et al., 2016; SARI et al., 2017). Além disso, seu efeito antinociceptivo está associado a modulação de diferentes sistemas de neurotransmissores, a ativação/inibição de vias moleculares e potencial antioxidante (JESSE; ROCHA; NOGUEIRA; SAVEGNAGO, 2009; OLIVEIRA et al., 2016), sugerindo um perfil de composto multialvo. No estudo de Marcondes-Sari e colaboradores (2018), foi visto que o composto reduziu o comportamento de dor crônica induzida pela cirurgia de ligadura parcial do nervo ciático (PSNL), um modelo de dor neuropática em camundongo, ademais diminui os teores de proteínas inflamatórias e proteínas apoptóticas, no córtex lateral cerebral de camundongos.



**Figura 16.** Estrutura [(OMePhSe)<sub>2</sub>]. Retirado de Oliveira et al., 2016.

Ademais, o composto disseleneto de 2,2'-dipiridil (DPD) (FIGURA 17), um disseleneto contendo o anel piridina, destacou-se pelo seu efeito antioxidante e menos efeitos toxicológicos quando comparado a outros disselenetos de diaril dissustituídos (LUCHESE et al., 2012). Também foi relatado efeitos anti-inflamatórios e antinociceptivos, tendo seu modo de ação associado a atenuação dos níveis de mediadores inflamatórios. Resultados de Rosa e colaboradores (2018) demonstraram que este composto pode ser utilizado no tratamento de dor, principalmente em condições inflamatórias.

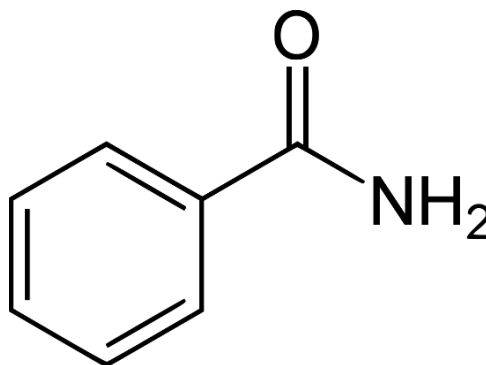


**Figura 17.** Estrutura DPD. Retirado de Luchese et al., 2012.

Dessa forma, podemos confirmar a importância dos efeitos ocasionados pelos compostos orgânicos de selênio. Maiores estudos devem ser realizados para um maior entendimento de suas propriedades farmacológicas e mecanismo de ação.

### 3.4 BENZAMIDA

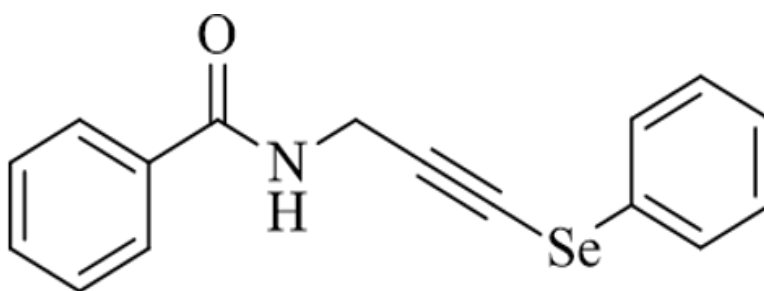
A benzamida (FIGURA 18) é derivada do ácido benzoico, e foi descoberta através de uma simplificação molecular da cocaína (BARREIRO; FRAGA, 2014). Ao longo dos anos demonstrou relevância para a área farmacêutica. As benzamidas são bem conhecidas por seus diversos efeitos farmacológicos, englobando propriedades antimicrobianas, antiparasitárias, anestésicas, antiarrítmicas, analgésicas, antipsicóticas e antidepressivas (GURGU et al., 2017). Sua atividade está ligada ao sistema dopaminérgico, sendo normalmente relacionada aos receptores D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub> e promovendo um aumento nos níveis de dopamina na fenda sináptica (PANI; GESSA, 2002. PERRAULT et al., 1997).



**Figura 18.** Estrutura molecular da benzamida. Retirado de <https://pt.wikipedia.org/wiki/Benzamida> acessado dia 4 de abril de 2022.

### 3.5 SePB

Com base nas propriedades farmacológicas identificadas dos compostos orgânicos de selênio e dos compostos contendo o núcleo benzamida foi desenvolvida a molécula benzamida *N*-(3-(fenilselanil)prop-2-ino-1-ílica (SePB) (FIGURA 19).



**Figura 19.** Estrutura da SePB. Retirado de Besckow et al., 2020.

Em um estudo recente, a SePB demonstrou efeito antidepressivo em camundongos e este efeito foi relacionado a uma interação com os receptores serotoninérgicos (BESCKOW et al., 2020). Levando em consideração que existe um envolvimento do sistema serotoninérgico na nocicepção (MILLAN, 2002), nosso estudo se baseou em investigar o efeito antinociceptivo do composto e o seu envolvimento com receptores de 5-HT.

### 3.6 TESTES *IN VIVO* E DOR

O uso de modelos animais possibilitou descobertas que permitiram o tratamento de diversas doenças, o uso terapêutico de antibióticos, além do desenvolvimento de técnicas de transplantes de órgãos e fármacos anestésicos, antidepressivos, entre outros (FAGUNDES; TAHA, 2004; ANDRADE, 2006). Nos últimos anos, houve evolução no estudo de métodos alternativos, só que apesar disso, ainda existem evidentes vantagens no uso de modelos animais, principalmente pelo fornecimento de informações sobre o organismo como um todo, fato que não se consegue com outros métodos (HEYWOOD, 1987;

SALÉN,1995). Além do mais, estudos em animais possuem a vantagem de controlar possíveis fontes estranhas na variabilidade nos dados.

O camundongo foi introduzido como animal de laboratório no ano de 1909, quando o pesquisador Clarence Cook Little iniciou a produção de uma linhagem geneticamente pura a partir de um casal portador de mutações recessivas para genes responsáveis pela herança da cor da pelagem. Através de acasalamentos entre irmãos por 20 gerações consecutivas, foi obtida a primeira linhagem consanguínea que foi nomeada DBA, e seu uso foi popularizado pelo fato de ser pequeno, muito prolífero, ter período de gestação curto, ser de fácil domesticação e manutenção (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002), além de permitir diversas vias de administração de fármacos. Ademais, existem semelhanças genéticas entre as espécies, uma vez que 99% dos genes humanos foram mapeados em camundongos. Como esperado, os modelos animais também possuem lugar cativo no estudo da dor. O estudo experimental requer o uso de estímulos apropriados para provocar a sensação dolorosa, devendo estes serem quantificáveis, reprodutíveis e não invasivos (LINEBERRY, 1981; BEECHER, 1957). Os sintomas de dor específicos observados em camundongos variam entre as diferentes linhagens, mas no geral apresentam: aumento do tempo de sono, perda de peso/desidratação, piloereção, postura encurvada, isolamento social e vocalização quando manuseados (RIVEIRA 2002). A ausência de comunicação verbal é um obstáculo incontornável para avaliação da dor animal, por este motivo a análise é realizada a partir de manifestações comportamentais, entre elas, o ato de chorar ou gemer. Apesar disto, é muito mais difícil afirmar que o animal não esteja sofrendo com a dor, mesmo que não apresente nenhum sintoma típico. Descrições dos sinais dolorosos em mamíferos foram publicados em contexto veterinário ou de bem-estar animal durante os anos, sendo ressaltado que cada espécie possui características únicas e por tal, expressa a experiência dolorosa de formas diferentes. Para que a análise dos estudos ocorra da forma mais precisa possível, existe um crescente interesse de descrições dedicadas separadamente para cada espécie, com o intuito de refinar os sinais clínicos (BAUMANS et al., 1994; MORTON; GRIFFITH, 1985).



Um estudo realizado por Sherrington, designou o termo “reflexos psicoafetivos” para respostas motoras básicas, como retirada, partida, contraturas, entre outras reações neurovegetativas, com intensificação de manifestações como taquicardia, hipertensão arterial, hiperpneia, midríase, vocalizações, entre outras (SHERRINGTON, 1906). Outras formas de se identificar o estímulo doloroso é a partir da percepção de habilidades motoras condicionadas, como a prevenção tanto de lesões futuras, como do agravamento das lesões existentes. As reações relacionadas são: desconfiança dos objetos responsáveis pela experiência dolorosa, reação de evitação, agressividade ou mudanças comportamentais, sejam elas sociais, alimentares, sexuais e outros. Se o estímulo for suficientemente intenso, a reação será de fuga ou ataque. Zimmermann definiu a dor animal como: “uma experiência sensorial aversiva causada por dano real ou potencial que causa respostas motoras e vegetativas protetoras, que leva ao aprendizado do comportamento de evitação e pode modificar o comportamento específico da espécie, incluindo seu comportamento em sociedade” (ZIMMERMANN, 1986).

Ainda que, nos primeiros anos não existisse uma regulamentação específica, em 1970, o Congresso dos Estados Unidos atualizou o Animal Welfare Act (AWA) exigindo “cuidados veterinários adequados, incluindo o uso apropriado de drogas anestésicas, analgésicas ou tranquilizantes, quando tal uso fosse apropriado na opinião do veterinário responsável” (LAW, 1970), além de prezar pela prevenção e alívio da dor como um imperativo ético (NATIONAL RESEARCH COUNCIL et al. 2010).

### 3.6.1 TESTES NOCICEPTIVOS AGUDOS

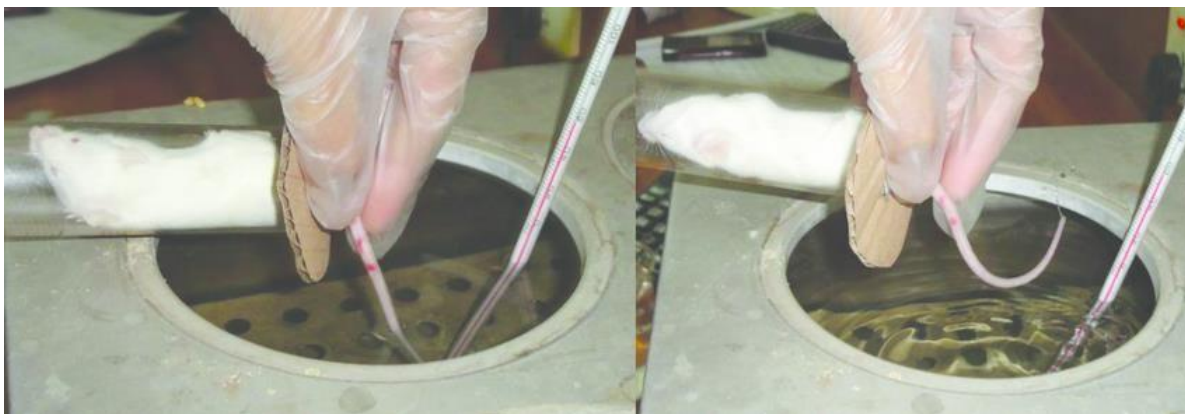
#### 3.6.1.1 ESTÍMULOS TÉRMICOS

Testes nociceptivos para avaliação da dor aguda, baseiam-se em estímulos que possuam a capacidade de causar situações dolorosas que provoquem alterações comportamentais e neuroendócrinas que podem ser avaliadas e mensuradas, e para tal, o estímulo térmico é um dos principais estímulos utilizados. Entre os testes que se utilizam desse ideal, estão o teste da chapa quente, descrito pela primeira vez em 1944 por Woolfe e Macdonal

(FIGURA 14), em um artigo sobre a avaliação da ação analgésica do hipocloreto de petidina (WOOLF; MACDONALD, 1944) e o teste de imersão da cauda (FIGURA 15), descrito por Janssen em 1963 (JANSSEN, 1963). Ambos os testes consistem no uso de equipamentos que geram calor, que, ao entrar em contato com o animal, proporcionam a sensação de “queimação”, e com isso, incentivam a execução de manifestações comportamentais com a intenção de repelir o estímulo doloroso.



**Figura 20.** Representação do teste da chapa quente. Utilizado na temperatura de 52 graus celsius, tendo como cut-off o tempo de 10 segundos. Retirado de [steemit.com/science/@prettyjules158/evaluation-of-the-analgesic-effects-of-caladium-bicolour-using-albino-rats-and-mice](https://steemit.com/science/@prettyjules158/evaluation-of-the-analgesic-effects-of-caladium-bicolour-using-albino-rats-and-mice) acessado em 30 de outubro de 2021.



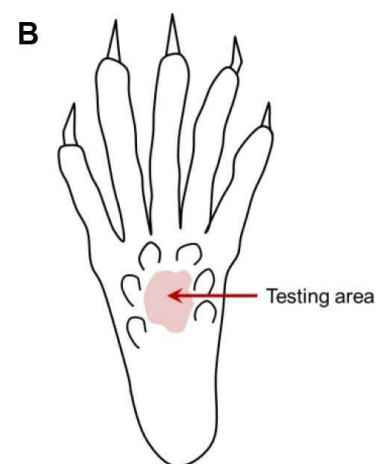
**Figura 21.** Representação do teste de imersão da cauda. Utilizado na temperatura de 52 graus celsius, tendo como cut-off o tempo de 10 segundos. Retirado de [https://www.researchgate.net/figure/Tail-immersion-test-on-mice\\_fig11\\_301654749](https://www.researchgate.net/figure/Tail-immersion-test-on-mice_fig11_301654749) acessado em 30 de outubro de 2021.

#### 3.6.1.2 ESTÍMULOS MECÂNICOS

Os estímulos mecânicos, por sua vez, são bem difundidos para avaliação da dor aguda, tendo diversos testes nociceptivos baseados na hiperalgesia causada pela pressão crescente. Como exemplo temos os testes de Randall e Sellito (FIGURA 16) e o teste de Von Frey. Ambos se utilizam de equipamentos que geram um aumento linear da força (em gramas) sobre a superfície dorsal da pata do animal (RANDALL, 1957; MÖLLER; JOHANSSON, 1998).



**Figura 22.** Representação do teste de Randall e Sellito. Disponível em <https://www.neurofit.com/tech-anim-paw-pressure.html> visitado dia 30 de outubro de 2021.



**Figura 23.** Demonstração do teste de Von Frey (A) e demonstração da área de contato com o equipamento (B). Retirado de <https://bio-protocol.org/e1933> acessado em 30 de outubro de 2021.

### 3.6.1.3 ESTÍMULOS QUÍMICOS

Os testes nociceptivos também se utilizam de estímulos químicos. Entre eles se encontram o teste da formalina descrito por Hunskaar e Hole (1987) e o teste da injeção de glutamato na pata, desenvolvido por Beirith, Santos e Calixto (2002). O princípio utilizado é a administração de um agente álgico e o tempo gasto lambendo ou mordendo a pata é considerado como indicativo de nocicepção (FIGURA 24). Nestes modelos pode -se avaliar parâmetros inflamatórios da dor.



**Figura 24.** Representação da reação nociceptiva causada no camundongo. Retirado de <https://docplayer.com.br/83877221-Universidade-estadual-de-feira-de-santana.html> visitado dia 05 de maio de 2022.

### 3.6.2 TESTES NOCICEPTIVOS CRÔNICOS

Testes nociceptivos demandam do uso de modelos animais para a compreensão e fisiopatologia de doenças humanas, possibilitando o desenvolvimento de novas drogas e terapias. Em particular, o estudo da dor crônica depende de modelos animais pré-clínicos que viabilizem a avaliação de suas complexidades sensoriais e psicológicas. Para tal, se torna essencial recriar a condição dolorosa nestes animais. Sendo assim, alguns métodos podem ser utilizados, como procedimentos cirúrgicos ou administrações de agentes químicos.

#### 3.5.2.1 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

Entre os procedimentos cirúrgicos encontra-se a axotomia (JAGGI; JAIN; SINGH, 2011), onde o animal é anestesiado e o nervo ciático comum exposto e lesado ou removido, induzindo a denervação completa do membro, levando ao desenvolvimento de um quadro de dor crônica e comportamento de autotomia (automutilação), e a constrição crônica do nervo ciático (BENNETT; XIE, 1988), onde sob anestesia, se realiza a exposição do nervo ciático e seu posterior afrouxamento, neste caso, levando o animal a desenvolver comportamentos que remetem a DN.

#### 3.5.2 2 AGENTES QUÍMICOS

A administração de agentes químicos, da mesma forma, pode criar o quadro algico desejado para reproduzir a doença humana. Sabendo que a dor crônica pode surgir da inflamação persistente, modelos animais passam pela aplicação de um agente químico, como o adjuvante completo de Freund (CFA), carragenina ou reserpina (MARTIN et al., 1984; NAGAKURA et al., 2009; STEIN et al., 1988). Cada substância produz um tempo único de resposta a dor, desde reações que duram minutos (por exemplo, formalina) a semanas, permitindo estudos de curto a longo prazo (ZHANG E REN, 2011).

#### **4 MANUSCRITO**

Os resultados que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de artigo científico, publicado na *Chemico-Biological Interactions*, o qual se encontra assim organizado: Resumo, introdução, materiais e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências.





## Antinociceptive effect of *N*-(3-(phenylselanyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide in mice: Involvement of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptors

Kauane Nayara Bahr Ledebuhr<sup>a</sup>, Gustavo D'Avila Nunes<sup>a</sup>, Evelyn Mianes Besckow<sup>a</sup>,  
Maira Regina Giehl<sup>b</sup>, Benhur Godoi<sup>b</sup>, Cristiani Folharini Bortolatto<sup>a,\*</sup>, César Augusto Brüning,  
Ph.D.<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Neurobiotechnology Research Group, Postgraduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS, 96010-900, Brazil

<sup>b</sup> Nucleus of Synthesis, Application, and Analysis of Organic and Inorganic Compounds (NUSAACOI), Federal University of Fronteira Sul (UFFS), Cerro Largo, RS, Brazil

### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Serotonergic system  
Pain  
Organoselenium  
Antinociceptive  
Benzamide  
Selenium

### ABSTRACT

Pain strongly affects public health, both because of the patient suffering and the socioeconomic impact. The available drugs for pain treatment are not fully effective and have many adverse effects. Therefore, there is a need to obtain new analgesic compounds. This study evaluated the antinociceptive effect of *N*-(3-(phenylselanyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide (SePB), an organoselenium compound containing the benzamide moiety, through time (15–120 min) and dose-response (1–50 mg/kg) curves in thermal and chemical mice models of nociception, as well as the involvement of the serotonergic system in this effect. The open-field test (OFT) was carried out to assess locomotor activity. SePB (10 mg/kg) induced an increase in the latency to nociception response in the tail immersion test from 30 min. In the dose-response curves, SePB at different doses reduced latency time to nociceptive response in the tail immersion and hot plate tests, and reduced the licking time in the glutamate test, demonstrating antinociceptive effect, without altering the locomotor activity of mice. WAY100635 (0.5 mg/kg, subcutaneously, a 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist), ketanserin (0.3 mg/kg, intraperitoneally, a 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptor antagonist), but not ondansetron (0.5 mg/kg, intraperitoneally, a 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist), administered 15 min before SePB, prevented the increased latency to nociceptive response induced by SePB in the tail immersion test, demonstrating that 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptors are involved in the antinociceptive effect of SePB. Upon more studies evaluating SePB antinociceptive effects in chronic pain models and its toxicity, this compound could be indicated as an interesting molecule to treat pain.

### 1. Introduction

From a neurobiological perspective, pain has a protective character, indicating possible harmful stimuli, knowing as nociceptive pain. However, it also could be a result of tissue damage associated with inflammation, or damage to nervous system, called inflammatory and neuropathic pain, respectively, occurring spontaneous pain and pain hypersensitivity [1]. In this context, pain is considered one of the problems that most affect public health, not only because of the patient

suffering, in physical and psychological terms, but also in terms of socioeconomic impact, pushing the pain treatment to a therapeutic priority [2].

The available drugs for pain treatment are not completely effective, also presenting several side effects, such as cardiovascular and gastrointestinal problems, which induce patients to interrupt the treatment [3]. Therefore, it is essential to obtain new therapies that have greater effectiveness and fewer side effects, increasing treatment adherence, and consequently, improving the quality of life of patients.

\* Corresponding author. Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Postgraduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPEL), Capão do Leão Campus, Pelotas, RS, 96010-900, Brazil.

\*\* Corresponding author. Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Postgraduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPEL), Capão do Leão Campus, Pelotas, RS, 96010-900, Brazil.

E-mail addresses: [cristiani.bortolatto@ufpel.edu.br](mailto:cristiani.bortolatto@ufpel.edu.br) (C.F. Bortolatto), [cesar.bruning@ufpel.edu.br](mailto:cesar.bruning@ufpel.edu.br) (C.A. Brüning).

<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2022.109918>

Received 12 August 2021; Received in revised form 16 March 2022; Accepted 23 March 2022

Available online 26 March 2022

0009-2797/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.



Benzamide is a derivative of benzoic acid and was discovered through molecular simplification of cocaine [4], having great relevance in the pharmaceutical area, due to its biological effects such as antimicrobial, antiparasitic, analgesic, antipsychotic and antidepressant [5–8]. Selenium, on the other hand, has several known effects on human health, such as protection of the cardiovascular system [9], modulation of the inflammatory response [10], anti-infectious activity [11], and its deficiency has been associated with mood disorders, such as depression and anxiety [12], as well as with the development of neurodegenerative diseases [13]. Interestingly, organic selenium compounds have been presenting many pharmacological properties [14–19], including antinociceptive effect [20–23].

Based on the pharmacological properties that organic selenium compounds and compounds containing the benzamide core have demonstrated, mainly the analgesic effect, the aim of this study was to evaluate the antinociceptive effect of *N*-(3-(phenylselenanyl) prop-2-yn-1-yl)benzamide (SePB) (Fig. 1), a benzamide compound containing selenium, in different mouse models of nociception. In a recent study, SePB demonstrated antidepressant-like effect in mice and this effect was related to an interaction with the serotonergic receptors [24]. The modulation of the nociceptive response involves several neurotransmitter systems, including the serotonergic system [25], especially in the descending modulation pathway [26]. Therefore, we also investigated the involvement of different serotonin (5-HT) receptors in the antinociceptive effect of SePB.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Animals

Adult Swiss mice, between 25 and 30g, from the Central Bioterium of the Federal University of Pelotas, were used. All behavioral tests were performed with male mice, separated into groups and each one was used only once. The mice were kept at  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , in a cycle of 12 h light/12 h dark, until the moment of the behavioral analysis, with free access to water and food. The experiments were conducted according to the standards of the UFPel Animal Ethics and Welfare Committee (CEEA 4903-2017), affiliated with the Animal Experiments Control Council (CONCEA) and according to the Guide of the National Institute of Health for the care and use of laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised in 1978). Every effort has been made to minimize the suffering of the animals and to reduce the number of animals used in the experiments. The animals were euthanized at the end of the behavioral test, after administration of an excess of isoflurane. A number of 7–11 animals were used in each group in the different tests. The mice that exceeded the cut-off time in the tail immersion test and hot-plate test and the mice that the glutamate solution leaked from the paw during the injection in the glutamate test were not used in the analysis.

### 2.2. Drugs

SePB was synthesized at the Synthesis and Application Center for Organic and Inorganic Compounds (NUSAACOD), Federal University of Fronteira Sul (UFFS), according to Balbom et al. [54]. The compound had its structure determined and confirmed by techniques of  $^1\text{H}$  NMR and  $^{13}\text{C}$  NMR, low resolution mass spectrometry (MS) and

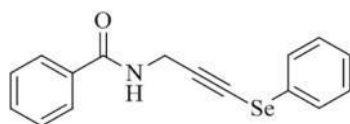


Fig. 1. Chemical structure of *N*-(3-(phenylselenanyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide (SePB).

high-resolution mass spectrometry (HRMS). Yield 0.069g (87%). Yellow solid.  $^1\text{H}$  NMR:  $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz,  $\delta(\text{ppm})$ : 7.78 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 7.52–7.46 (m, 3H), 7.40–7.36 (m, 2H), 7.30–7.23 (m, 3H), 6.69 (s, br., 1H), 4.46 (d,  $J = 5.5$  Hz, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR:  $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz  $\delta(\text{ppm})$ : 167.1, 135.7, 133.7, 131.6, 129.5, 129.3, 128.5, 127.2, 127.0, 99.1, 63.7, 31.3. FTIR (neat),  $\text{cm}^{-1}$ : 3297, 3058, 2926, 2179, 1640, 1601, 1531, 1475, 1020, 965, 729, 686. MS (EI, 70 eV):  $m/z$  (relative intensity): 315 (3), 238 (5), 210 (13), 158 (42), 115 (8), 105 (100), 77 (50), 51 (14). HRMS calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{NOSe}$ :  $[M]^+$  315.0162. Found  $[M+H]^+$  316.0236 [54]. *N*-[2-[4-(2-methoxyphenyl)-1-piperazinyl]ethyl]--*N*-2-pyridinylcyclohexanecarboxamide maleate salt (WAY100635), ketanserine, ondansetron and sodium glutamate were purchased from Sigma Chemical Co (St. Louis, Missouri, USA). The doses used were in accordance with other published articles [22,27]. All drugs were dissolved in saline, except SePB, which was dissolved in canola oil. SePB was administered intragastrically (i.g.) to mice in a constant volume of 10 ml/kg of body weight.

Glutamate (sodium L-glutamate 1-hydrate), used in the behavioral test of glutamate in the paw, was dissolved in saline water at a concentration of 20  $\mu\text{mol}$ , 20  $\mu\text{l}$ /paw, according to Ref. [28].

### 2.3. Behavioral tests

#### 2.3.1. Open-field test (OFT)

The open-field test (OFT) was performed before the nociceptive tests, with the objective of verifying the effects of drug administration on the locomotor and exploratory activity of the animals and check that the results obtained in those tests did not occur due to changes in the motor activity of mice. The OFT consisted of an open-field arena made in a plywood box and surrounded by 30 cm high walls to prevent the animal from escaping. The open-field floor has a 45-cm long and 45-cm wide surface, divided into nine quadrants, with identical measures. Each animal was positioned individually in the center of the arena and the number of crossed segments and the number of rearing movements, where the animal rests on its hind legs (exploratory character of the animal) were counted for a period of 4 min [29]. The test was performed 4 min before the tail immersion test in the time (Fig. 2A) and dose-response (Fig. 2B) curves and in the evaluation of the involvement of 5-HT receptors in the antinociceptive effect of SePB (Fig. 2D), in the same animals that performed the tail immersion test.

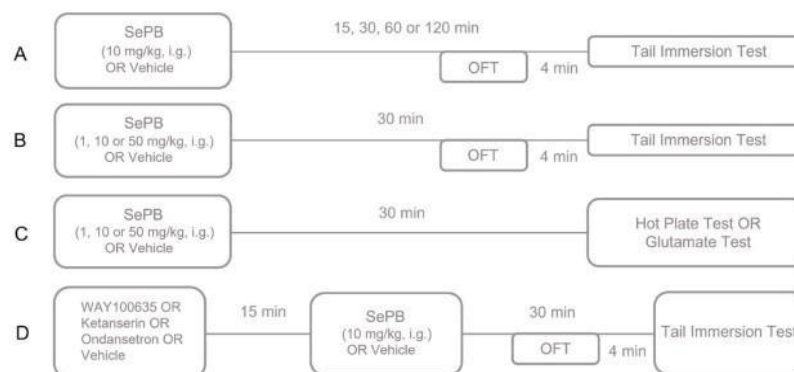
#### 2.3.2. Tail immersion test

The tail immersion test is based on the immersion of three and a half centimeters of the mouse's tail in water at  $52^\circ\text{C}$  in a water bath equipment, and recording of the nociceptive response time, indicated by the removal of the tail from the water [30]. The test was performed initially before administration of the compound and later after administration, obtaining a delta latency value. A cut-off time of 10s was established to avoid damage to the tail of animals.

This test was used to perform a time-response curve, where the dose of 10 mg/kg (i.g.) of SePB was applied and the times of 15, 30, 60, and 120 min were followed for evaluation (Fig. 2A). A dose-response curve was performed in the same way, where the doses of 1 mg/kg, 10 mg/kg and 50 mg/kg of SePB were evaluated, together with the control group. The test was performed 30 min after administration of the compound (Fig. 2B).

#### 2.3.3. Hot plate test

The hot plate test consisted of a zinc plate, heated to a pre-established temperature, which in this experiment was  $52^\circ\text{C}$ , and a transparent dome on the plate to prevent the mice from escaping [31]. The experiment started at the moment the mice were placed on the heated plate, and the time was counted until the moment the mice felt the nociceptive stimulus. The signs of discomfort presented ranged from sitting on the hind legs, licking, shaking, blowing the legs to cool them, or jumping; from one or more of these reactions the test was completed.



**Fig. 2.** Schematic view of the experimental design. A: Time-response curve to evaluate the antinociceptive effect of SePB 10 mg/kg, i.g., in the tail immersion test; B: Dose-response curve to evaluate the antinociceptive effect of SePB in the tail immersion test; C: Dose-response curve to evaluate the antinociceptive effect of SePB in the hot plate test or glutamate test; D: Evaluation of the involvement of 5-HT receptors in the antinociceptive effect of SePB.

A cut-off time of 45s was established to avoid damage to the paws of animals. The test was used to perform a dose-response curve, where doses of 1 mg/kg, 10 mg/kg and 50 mg/kg of SePB were evaluated, together with the control group. The test was performed 30 min after the administration of the compound (Fig. 2C).

#### 2.3.4. Glutamate test

The glutamate test was performed according to Ref. [28]; constituting a nociception test caused by an algogenic agent. The nociceptive stimulus occurred by injecting a volume of 20  $\mu$ L of glutamate (diluted in saline) via intraplantar into the animal's right hind legs. Consecutively, after the administration of the chemical agent, the mice were placed individually in a transparent observation compartment and analyzed individually from 0 to 15 min. The time spent by animals licking or biting the injected paw was recorded with a stopwatch and considered an indication of nociception. The test was used to perform a dose-response curve, where doses of 1 mg/kg, 10 mg/kg and 50 mg/kg were evaluated, together with the control group. The test was performed 30 min after the administration of the compound (Fig. 2C).

#### 2.4. Participation of the serotonergic system in the antinociceptive effect of SePB

To test the hypothesis that SePB antinociceptive effect can be mediated by its interaction with the serotonergic system, the mice were pretreated with selective 5-HT receptor antagonists and subjected to tail immersion behavioral testing. The antagonists WAY100635 (0.5 mg/kg, subcutaneously, a 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist), ketanserin (0.3 mg/kg, intraperitoneally, a 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptor antagonist) or ondansetron (0.5 mg/kg, intraperitoneally, a 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist) were injected 15 min before the administration of the SePB (10 mg/kg, i.g.). The tail immersion test was performed 30 min after the administration of the compound. The OFT was performed 4 min before the tail immersion test (Fig. 2D). The doses and treatment schedule of 5-HT receptor antagonists were chosen based on previous research [22,27].

#### 2.5. Statistical analysis

The experimental data are presented as mean  $\pm$  standard error of the mean (S.E.M). The normal distribution of data was assessed using the Shapiro-Wilk normality test. Comparisons between experimental groups were performed by one-way or two-way ANOVA analysis of variance, when appropriate, accompanied by the Newman-Keuls post-hoc test. Probability values less than 0.05 ( $p < 0.05$ ) were considered statistically significant. All analyzes were performed using the GraphPad software

8.0.1 (GraphPad, San Diego, CA, USA).

### 3. Results

#### 3.1. SePB antinociceptive effect on tail immersion test

A time-response curve (15–120 min) was performed to evaluate the antinociceptive effect of SePB (10 mg/kg) in the tail immersion test. In relation to locomotor activity of mice, evaluated in the OFT 4 min before the tail immersion test, there were no significant changes in the number of crossings [ $F(4,35) = 0.3693$ ;  $p = 0.8289$ ] and rearings [ $F(4,35) = 0.528$ ;  $p = 0.7159$ ] among the groups (Table 1), demonstrating that SePB 10 mg/kg did not alter the spontaneous locomotor activity of mice.

Regarding the tail immersion test, as shown in Fig. 3, SePB at the dose of 10 mg/kg significantly increased the latency for tail removal from 30 min after treatment [ $F(4, 35) = 5.019$ ;  $p = 0.0026$ ], demonstrating an antinociceptive effect.

The dose-response curve of the antinociceptive effect of SePB in the tail immersion test, was performed using doses of 1, 10 and 50 mg/kg. These doses were pre-established based on previous results obtained from pharmacological activities of different organic compounds containing selenium (Brüning et al., 2011; [32,33], as well on a previous study demonstrating the antidepressant-like effect of SePB [24].

In relation to OFT, performed 4 min before the tail immersion test, no significant changes were found in the number of crossings [ $F(3,31) = 1.467$ ;  $p = 0.2426$ ] and rearings [ $F(3,31) = 2.527$ ;  $p = 0.0705$ ] (Table 2) in mice treated with different doses of SePB compared to the control group, demonstrating that SePB does not cause alterations on locomotion when administered at doses of 1, 10 and 50 mg/kg.

In the tail immersion test, SePB, after 30 min of treatment, induced an increase in the latency to nociceptive response in all doses tested (1, 10 and 50 mg/kg) [ $F(3,31) = 8.761$ ;  $p = 0.0002$ ] (Fig. 4).

**Table 1**

Time-response curve of SePB (10 mg/kg) in the open-field test (OFT).

| Groups  | Crossings        | Rearings         |
|---------|------------------|------------------|
| Control | 68.50 $\pm$ 7.01 | 31.11 $\pm$ 2.42 |
| 15 min  | 64.75 $\pm$ 8.69 | 31.50 $\pm$ 4.62 |
| 30 min  | 61.44 $\pm$ 4.86 | 31.14 $\pm$ 3.74 |
| 60 min  | 68.88 $\pm$ 4.39 | 33.67 $\pm$ 2.78 |
| 120 min | 68.43 $\pm$ 6.83 | 31.43 $\pm$ 2.80 |

N: 7–9 animals per group. Groups 15 min, 30 min, 60 min and 120 min were treated with SePB at the dose of 10 mg/kg and the control group was treated with canola oil. The results are shown as mean  $\pm$  S.E.M.



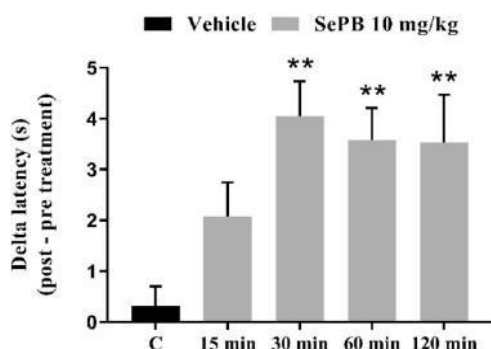


Fig. 3. SePB time-response curve in the tail immersion test. N: 7–9 animals per group. Groups 15, 30, 60 and 120 min were treated with SePB at the dose of 10 mg/kg and the control group was treated with canola oil. The results are shown as mean  $\pm$  S.E.M. \*\* $p < 0.01$  when compared with the vehicle-treated control group (one-way ANOVA/Newman-Keul's test).

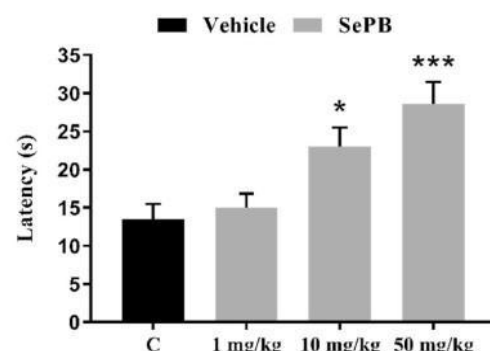


Fig. 5. SePB dose-response curve in the hot plate test. N: 9–10 animals per group. The results are shown as mean  $\pm$  S.E.M. \* $p < 0.05$  and \*\*\* $p < 0.001$  when compared to the vehicle-treated control group (one-way ANOVA/Newman-Keul's test).

Table 2  
Dose-response curve of SePB in the open-field test (OFT).

| Groups        | Crossings        | Rearings         |
|---------------|------------------|------------------|
| Control       | 78.10 $\pm$ 6.08 | 37.11 $\pm$ 2.50 |
| SePB 1 mg/kg  | 89.33 $\pm$ 5.67 | 40.88 $\pm$ 2.19 |
| SePB 10 mg/kg | 80.22 $\pm$ 6.12 | 38.56 $\pm$ 1.78 |
| SePB 50 mg/kg | 71.13 $\pm$ 6.62 | 32.22 $\pm$ 2.55 |

N: 8–10 animals per group. The results are shown as mean  $\pm$  S.E.M.

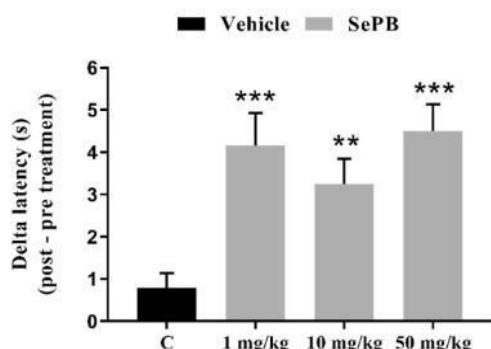


Fig. 4. SePB dose-response curve in the tail immersion test. N: 8–10 animals per group. The control group was treated with canola oil. The results are shown as mean  $\pm$  S.E.M. \*\* $p < 0.01$  and \*\*\* $p < 0.001$  when compared to the vehicle-treated control group (one-way ANOVA/Newman-Keul's test).

### 3.2. Antinociceptive effect of SePB in the hot plate test

In the hot plate test, SePB increased the latency for the nociceptive response of the animals, demonstrated by the movements of jumping or licking the paws, in the doses of 10 mg/kg and 50 mg/kg [ $F(3,34) = 8.423$ ;  $p = 0.0003$ ] (Fig. 5).

### 3.3. Antinociceptive effect of SePB in the paw glutamate test

In the glutamate test, the results corroborated the findings from the other behavioral tests. SePB at doses of 10 mg/kg and 50 mg/kg reduced the time the animal used to lick or bite the paw [ $F(3,35) = 7.566$ ;  $p = 0.0005$ ], demonstrating its antinociceptive effect in this test (Fig. 6).

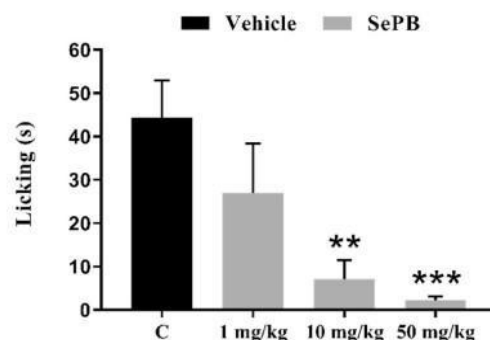


Fig. 6. SePB dose-response curve in the paw glutamate test. N: 9–11 animals per group. The results are shown as mean  $\pm$  S.E.M. \* $p < 0.05$  and \*\*\* $p < 0.001$  when compared to the vehicle-treated control group.

### 3.4. Participation of the serotonergic system in the antinociceptive effect of SePB

To evaluate the involvement of specific serotonergic receptors in the antinociceptive effect of SePB, mice were pretreated with the 5-HT antagonists WAY100635, ketanserin and ondansetron before the administration of SePB. No changes were observed in the locomotor activity of the mice administered with SePB and/or WAY100635 (Table 3), ketanserin (Table 4) and ondansetron (Table 5) in the OFT, performed 4 min before the tail immersion test.

As can be seen in Fig. 7, the pretreatment of mice with WAY100635 (a 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist) blocked the effect of SePB (10 mg/kg) on the tail immersion test [interaction  $F(1,35) = 4.470$ ,  $p = 0.0417$ ].

The pretreatment of mice with ketanserin (a 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptor antagonist) also blocked the SePB effect in the tail immersion test, as seen in Fig. 8 [interaction  $F(1,34) = 6.559$ ;  $p = 0.0150$ ]. This shows that

Table 3  
Effect of WAY100635 and/or SePB in the open-field test (OFT).

| Groups           | Crossings        | Rearings         |
|------------------|------------------|------------------|
| Control          | 80.30 $\pm$ 3.94 | 26.22 $\pm$ 3.25 |
| WAY100635        | 88.22 $\pm$ 4.71 | 25.60 $\pm$ 4.70 |
| SePB             | 83.89 $\pm$ 2.37 | 24.36 $\pm$ 2.39 |
| SePB + WAY100635 | 86.45 $\pm$ 5.40 | 25.89 $\pm$ 2.41 |

N: 9–11 animals per group. The results are shown as mean  $\pm$  S.E.M.

**Table 4**  
Effect of ketanserin and/or SePB in the open-field test (OFT).

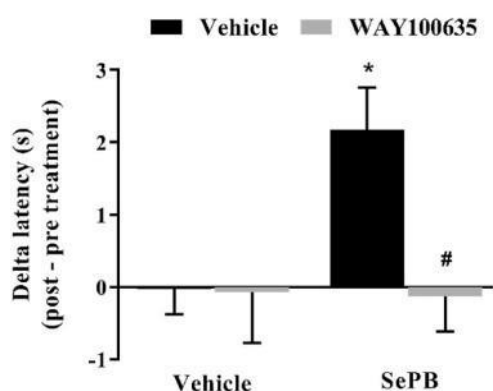
| Groups            | Crossings    | Rearings     |
|-------------------|--------------|--------------|
| Control           | 66.50 ± 3.59 | 27.63 ± 0.82 |
| Ketanserin        | 60.80 ± 2.43 | 25.00 ± 2.27 |
| SePB              | 71.70 ± 4.02 | 25.70 ± 1.97 |
| SePB + Ketanserin | 68.90 ± 3.25 | 26.00 ± 2.28 |

N: 8–10 animals per group. The results are shown as mean ± S.E.M.

**Table 5**  
Effect of ondansetron and/or SePB in the open-field test (OFT).

| Groups             | Crossings    | Rearings     |
|--------------------|--------------|--------------|
| Control            | 59.40 ± 4.63 | 27.50 ± 4.04 |
| Ondansetron        | 67.22 ± 8.40 | 30.33 ± 3.90 |
| SePB               | 76.60 ± 4.81 | 29.00 ± 4.01 |
| SePB + ondansetron | 69.64 ± 2.02 | 28.30 ± 2.52 |

N: 9–11 animals per group. The results are shown as mean ± S.E.M.



**Fig. 7.** Effect of WAY100635 (selective 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist) on SePB antinociceptive action in the tail immersion test. WAY100635 was administered 15 min before SePB and the tail immersion was performed 30 min after SePB administration. N: 9–11 animals per group. The results are shown as mean ± S.E.M. \**p* < 0.05, when compared to the control group; #*p* < 0.05, when compared to the vehicle:SePB group (two-way ANOVA/Newman-Keul's test).

the antinociceptive effect of SePB is also related to the 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptors.

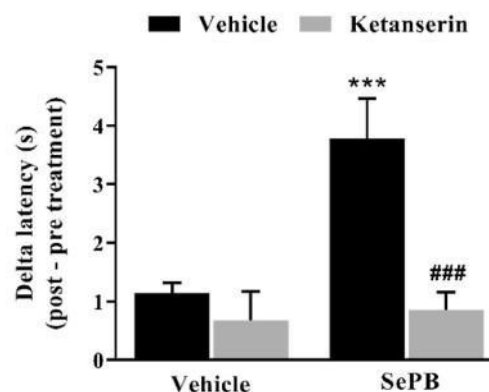
When pretreating mice with ondansetron (5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist), the effect of SePB was not blocked, suggesting that the antinociceptive effect of SePB is not related to 5-HT<sub>3</sub> receptor (Fig. 9) [main-effect of SePB *F* (1,36) = 28.83; *p* < 0.0001].

#### 4. Discussion

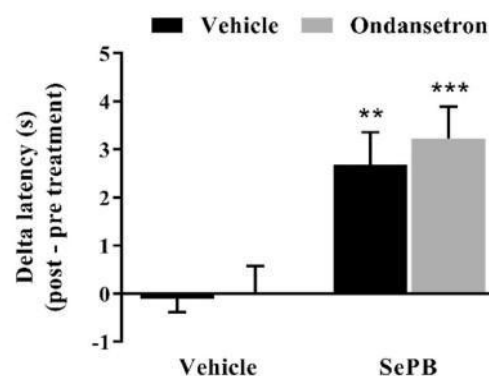
The results obtained through different behavioral tests of nociception in mice in this study indicate for the first time that SePB presented an antinociceptive effect. In addition, it was evidenced that there is an involvement of the serotonergic system in the antinociception caused by this organoselenium compound, more specifically the receptors 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A/2C</sub>.

In the tail immersion test, SePB increased latency for mice tail removal after 30 min of treatment at doses of 1, 10 and 50 mg/kg, indicating an antinociceptive effect. In this test, the response to a thermal stimulus is driven by spinal mechanisms [34,35], demonstrating that SePB could act in the central nervous system (CNS).

The hot plate test is also a thermal test for nociception. This test assesses the central pain mechanisms [35,36] and some results indicate



**Fig. 8.** Effect of ketanserin (selective 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptor antagonist) on SePB antinociceptive action in the tail immersion test. Ketanserin was administered 15 min before SePB and the tail immersion was performed 30 min after SePB administration. N: 8–10 animals per group. The results are shown as mean ± S.E.M. \*\*\**p* < 0.001, when compared to the control group; ###*p* < 0.001 when compared with the vehicle:SePB group (two-way ANOVA/Newman-Keul's test).



**Fig. 9.** Effect of ondansetron (selective 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist) on SePB antinociceptive action in the tail immersion test. Ondansetron was administered 15 min before SePB and the tail immersion was performed 30 min after SePB administration. N: 9–11 animals per group. The results are shown as mean ± S.E.M. \*\*\**p* < 0.01 and *p* < 0.001 when compared to the control group (two-way ANOVA/Newman-Keul's test).

that the nociceptive response generated from hot plate test is supraspinal [34]. Our results showed that SePB at doses of 10 mg/kg and 50 mg/kg were effective in increasing the latency to the nociceptive response in mice. In this way, the effectiveness of SePB in the hot plate test indicates that this compound acts in the spinal medulla and/or at supraspinal level.

The glutamate test, in turn, was used as a chemical model of nociception. Glutamate in the peripheral endings of small diameter afferent fibers can contribute to the development and maintenance of pain. Nociception induced by intraplantar injection of glutamate seems to involve peripheral, spinal and supra-spinal sites and this action can be mediated by N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) and non-NMDA mechanisms [28,37]. Acute administration of SePB at doses of 10 mg/kg and 50 mg/kg significantly reduced the painful response induced by intraplantar injection of glutamate, also demonstrating its antinociceptive effect in this chemical model.

The versatility of organoselenium compounds allows them to be considered promising pharmacological agents, taking in account that



they have been reported to present many biological properties, such as anti-inflammatory, antidepressant, antioxidant and antinociceptive effects [16,17,21,38,39]. A recent study found that Se-[(2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl]4-chlorobenzoselenolate, an organoselenium compound, promoted a reduced response to nociceptive stimuli in chemical models applied to mice [38]. Another study suggested that 3,5-dimethyl-1-phenyl-4-(phenylselenanyl)-1H-pyrazole had a more significant antinociceptive and anti-inflammatory effect compared to a pyrazole containing sulfur in its chemical structure [40]. In addition, the administration of another molecule containing selenium, diphenyl diselenide ((PhSe)<sub>2</sub>), has been shown to decrease the thermal hypernociceptive behavior in mice treated with bisphenol A (BPA), a product widely applied in the plastics industry, and subsequently subjected to the immersion tail and hot plate tests [41].

Furthermore, several studies have found that the pharmacological effects of organoselenium compounds are associated with a modulation of the serotonergic system [14,21,22,42]. A study carried out in 1996 proved that the administration of p-chlorophenylalanine (pCPA) - a tryptophan hydroxylase inhibitor that causes marked depletion of cerebral 5-HT - reduces the antinociceptive effect caused by the systemic administration of paracetamol (acetaminophen) [43]. Since then, several studies have reported similar results, helping us to understand the critical role of the serotonergic system in modulating nociception [21,22,44,45]. The serotonergic neurons in the raphe nucleus send projections to various parts of the brain, where they are involved in controlling mood, movement, emotions and feeling of pleasure. However, in addition to these ascending pathways, serotonergic cell bodies located in the locus coeruleus and in the raphe nucleus also project into the spinal cord, an area responsible for processing nociceptive signals [46]. Activation of descending pathways from the raphe nucleus to the dorsal horn mediated by 5-HT inhibits nociceptive transmission [47].

Interestingly, in a recent study with mice, it was found that SePB presented an antidepressant-like effect, and this effect was related to a modulation of serotonergic system, since antagonists of 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A/2C</sub> and 5-HT<sub>3</sub> receptors blocked the effect of SePB [24], which shows that SePB could interact direct or indirectly with these receptors.

To elucidate whether the antinociceptive effect of SePB is related to a modulation of the serotonergic system, selective 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A/2C</sub>, and 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists were administered to mice before SePB at the dose of 10 mg/kg and the tail immersion test was performed. The injection of WAY100635 (an antagonist of the 5-HT<sub>1A</sub> receptor) blocked the reduction of latency induced by SePB in the tail immersion test, indicating that the 5-HT<sub>1A</sub> receptor may have a fundamental role in the antinociceptive effect demonstrated by SePB in this test. Studies have shown that activation of this receptor can promote an antinociceptive effect, and its analgesic effects are being widely researched in various types of pain, including neuropathic, inflammatory, and visceral pain [48]; Di et al., 2017.; [49].

Moreover, several studies also report that 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptors are involved in the modulation of nociception. While some studies show that these receptors have a pronociceptive role, others have shown that their activation can cause antinociception (Tao et al., 2019). Recently, a study found that 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptors, located in the spinal cord, contribute to somatic hyperalgesia induced by orofacial inflammation in mice [50], although some authors demonstrated that the activation of 5-HT<sub>2</sub> receptors at spinal level causes antinociception [51–53]. Another study found that by administering ketanserin, a 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptor antagonist, the acute antinociceptive effect of an organoselenium compound was blocked [42]. Our results revealed that blocking the 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptor with the administration of ketanserin prevented the antinociceptive effect demonstrated by SePB in the tail immersion test, indicating that the 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptors are also involved in the antinociception elicited by SePB.

The 5-HT<sub>3</sub> receptor plays an important role in facilitating the descending pain pathway, a critical modulator of nociception (Tao et al., 2019), however, the antinociceptive effect of SePB was not prevented by

the administration of ondansetron, a 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist, which demonstrates that this receptor is not involved in the acute antinociceptive effect of SePB.

None of the treatments with SePB and/or the antagonists caused alteration in the locomotor activity of mice in the OFT, which demonstrates that their performance in the behavioral tests of nociception was not influenced by any alteration of locomotor activity.

## 5. Conclusions

As an outcome, our results demonstrated that SePB presents acute antinociceptive effect in different mice models without affecting locomotor activity. This antinociceptive effect is closely related to the serotonergic system, more specifically the 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptors. Upon more studies evaluating SePB antinociceptive effects in chronic pain models and its toxicity, as well binding studies to determine if SePB directly interact with 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptors, this compound could be indicated as an interesting molecule to treat pain.

## Author statement

**Kauane Nayara Bahr Ledebuhr:** Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Writing - original draft. **Gustavo D'Ávila Nunes:** Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Writing - original draft, Writing - review & editing. **Evelyn Mianes Besckow:** Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Writing - original draft. **Maira Regina Giehl:** Data curation; Investigation; Methodology. **Benhur Godoi:** Conceptualization, Methodology, Funding acquisition, Resources; Writing - review & editing. **Cristiani Folharini Bortolatto:** Conceptualization, Data curation, Funding acquisition, Resources; Writing - review & editing. **César Augusto Brüning:** Conceptualization, Funding acquisition, Project administration, Resources; Supervision, Writing - review & editing.

## Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

## Acknowledgements

We gratefully recognize Universidade Federal de Pelotas, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, grant numbers 420386/2018-1 and 438384/2018-0) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS, grant numbers 21/2551-0000728-1 and 21/2551-0000614-5) for the financial support. K.N.B.L. and E.M.B. are recipients of the CAPES and CNPq fellowships, respectively.

## References

- [1] C.J. Woolf, What is this thing called pain? *J. Clin. Invest.* 120 (11) (2010) 3742–3744, <https://doi.org/10.1172/JCI45178>.
- [2] M.A.S. Silva, C.A.M. Pimenta, D.A.L.M. Cruz, Pain assessment and training: the impact on pain control after cardiac surgery, *Rev. Esc. Enferm. USP* 47 (1) (2013) 84–92, <https://doi.org/10.1590/S0080-62342013000100011>.
- [3] T.L. Yaksh, S.A. Woller, R. Ramachandran, L.S. Sorkin, The search for novel analgesics: targets and mechanisms, *F1000prime Rep.* 7 (2015) 56, <https://doi.org/10.12703/P7-56>.
- [4] E.J. Barreiro, C.A.M. Fraga, *Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos*, Artmed Editora, 2014.
- [5] H. Gurgu, D.C. Nuță, M.T. Căprioiu, C. Drăghici, M.C. Chifiriuc, A.V. Missir, C. Limban, Synthesis and biological evaluation of new N-(2-dimethylaminoethyl)-N-(un) substituted phenyl-2-(4-methyl/methoxy-phenoxy)methyl benzamides, *Metabolism* 12 (2017) 19, <https://doi.org/10.31925/farmacia.2018.6.6>.



- [6] A. Buchynsky, J.R. Gillespie, M.A. Hulverson, J. McQueen, S.A. Creason, R. M. Ranade, N.A. Duster, M.H. Gelb, F.S. Buckner, Discovery of N-(2-aminoethyl)-N-benzoyloxyphenyl benzamides: new potent *Trypanosoma brucei* inhibitors, *Bioorg. Med. Chem.* 25 (5) (2017) 1571–1584, <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.11.019>.
- [7] A.E. Conibear, J. Asghar, R. Hill, G. Henderson, E. Borbely, V. Tekus, Z. Helyes, J. Palandri, C. Bailey, I. Starke, B. Von Mentzer, D. Kendall, E. Kelly, A novel G protein-biased agonist at the  $\delta$  opioid receptor with analgesic efficacy in models of chronic pain, *J. Pharmacol. Exp. Therapeut.* 372 (2) (2020) 224–236, <https://doi.org/10.1124/jpet.119.258640>.
- [8] T.J. Donahue, T.M. Hillhouse, K.A. Webster, R. Young, E.O. De Oliveira, J. H. Porter, Discriminative stimulus properties of the atypical antipsychotic amisulpride: comparison to its isomers and to other benzamide derivatives, antipsychotic, antidepressant, and anti-anxiety drugs in C57BL/6 mice, *Psychopharmacology* 234 (23) (2017) 3507–3520, <https://doi.org/10.1007/s00213-017-4738-y>.
- [9] N.V. Dimitrov, M.B. Hay, S. Siew, D.A. Hudler, L.J. Charamella, D.E. Ullrey, Abrogation of adriamycin-induced cardiotoxicity by selenium in rabbits, *Am. J. Pathol.* 126 (2) (1987) 376. PMID: PMC1899583.
- [10] M.J. Parnham, E. Graf, E. Hoff, R. Niemann, Selenium, hydroperoxides and atherosclerosis, *Inflamm. Res.* 22 (3) (1987) 353–354, <https://doi.org/10.1007/BF02009074>.
- [11] H.G. Mautner, The synthesis and properties of some selenopurines and selenopyrimidines, *J. Am. Chem. Soc.* 78 (20) (1956) 5292–5294, <https://doi.org/10.1021/ja01601a037>.
- [12] J.A. Pasco, F.N. Jacka, L.J. Williams, M. Evans-Cleverdon, S.L. Brennan, M. A. Kotowicz, G.C. Nicholson, M.J. Ball, M. Berk, Dietary selenium and major depression: a nested case-control study, *Compl. Ther. Med.* 20 (3) (2012) 119–123, <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2011.12.008>.
- [13] A. Federico, E. Cardaioli, P. Da Pozzo, P. Formichi, G.N. Gallus, E. Radi, Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration, *J. Neurol. Sci.* 322 (1–2) (2012) 254–262, <https://doi.org/10.1016/j.jns.2012.05.030>.
- [14] M. Pinz, A.S. Reis, V. Duarte, M.J. Rocha, B.S. Goldani, D. Alves, L. Savegnago, C. Luchese, E.A. Wilhelm, 4-Phenylselenenyl-7-chloroquinoline, a new quinoline derivative containing selenium, has potential antinociceptive and anti-inflammatory actions, *Eur. J. Pharmacol.* 780 (2016) 122–128, <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.03.039>.
- [15] F. Sousa, N. Seus, D. Alves, H.D. Salles, P.H. Schneider, L. Savegnago, M. Castro, Evaluation of Se-phenylthiazolidine-4-carboselenoate protective activity against oxidative and behavioral stress in the mania model induced by ouabain in male rats, *Neurosci. Lett.* 651 (2017) 182–187, <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.04.030>.
- [16] C.A. Brünig, F. Martini, S.M. Soares, T.B. Sampaio, B.M. Gai, M.M. Duarte, C. W. Nogueira, m-Trifluoromethyl-diphenyl diselenide, a multi-target selenium compound, prevented mechanical allodynia and depressive-like behavior in a mouse comorbid pain and depression model, *Prog. Neuro Psychopharmacol. Biol. Psychiatr.* 63 (2015) 35–46, <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.05.011>.
- [17] C.W. Nogueira, G. Zeni, J.B. Rocha, Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology, *Chem. Rev.* 104 (2004) 6255–6285, <https://doi.org/10.1021/cr0406559>.
- [18] F. Martini, A.P. Pesarico, C.A. Brünig, G. Zeni, C.W. Nogueira, Elbsen inhibits the activity of acetylcholinesterase globular isoform G4 in vitro and attenuates scopolamine-induced amnesia in mice, *J. Cell. Biochem.* 119 (2018) 5598–5608, <https://doi.org/10.1002/jcb.26731>.
- [19] J.I. Gall, A.G. Alves, L.R. Carraro Jr., T.S.T. Rech, J.S.S. Neto, D. Alves, M.S. P. Soares, L. Spohr, R.M. Spanavello, C.A. Brünig, C.F. Bortolatto, Insights into serotonergic and antioxidant mechanisms involved in antidepressant-like action of 2-phenyl-3-(phenylselenenyl)benzofuran in mice, *Progress in neuro-psychopharmacol. Biol. Psychiatr.* 102 (2020) 109956, <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.109956>.
- [20] C.A. Brünig, M. Prigol, J.A. Roehrs, G. Zeni, C.W. Nogueira, Evidence for the involvement of  $\mu$ -opioid and  $\delta$ -opioid receptors in the antinociceptive effect caused by oral administration of m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide in mice, *Behav. Pharmacol.* 21 (7) (2010) 621–626, <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e32833e7e6d>.
- [21] C.A. Brünig, B.M. Gai, S.M. Soares, F. Martini, C.W. Nogueira, Serotonergic systems are implicated in antinociceptive effect of m-trifluoromethyl diphenyl diselenide in the mouse glutamate test, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 125 (2014) 15–20, <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2014.08.002>.
- [22] R.G. Anversa, F.S.S. Sousa, P.T. Birmann, D.B. Lima, E.J. Lenardão, C.A. Brünig, L. Savegnago, Antinociceptive and anti-inflammatory effects of 1, 2-bis-(4-methoxyphenylselenenyl) styrene in mice: involvement of the serotonergic system, *J. Pharm. Pharmacol.* 70 (7) (2018) 901–909, <https://doi.org/10.1111/jphp.12907>.
- [23] P.T. Birmann, F. Sousa, M. Domingues, C.A. Brünig, B.M. Vieira, E.J. Lenardão, L. Savegnago, 3-(4-Chlorophenylselenenyl)-1-methyl-1H-indole promotes recovery of neuropathic pain and depressive-like behavior induced by partial constriction of the sciatic nerve in mice, *J. Trace Elem. Med. Biol.: Organ Soc. Min. Trace Elements (GMS)* 54 (2019) 126–133, <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2019.04.014>.
- [24] E.M. Beskow, N.T. Nonemacher, C.S. Garcia, C.N. da Silva Espindola, É.B. Balbom, F. Gritzenco, L. Savegnago, B. Godoi, C.F. Bortolatto, C.A. Brünig, Antidepressant-like effect of a selenopropargylic benzamide in mice: involvement of the serotonergic system, *Psychopharmacology* 237 (2020) 3149–3159, <https://doi.org/10.1007/s00213-020-05600-1>.
- [25] M.J. Millan, Descending control of pain, *Prog. Neurobiol.* 66 (6) (2002) 355–474, [https://doi.org/10.1016/S0304-0082\(02\)00009-6](https://doi.org/10.1016/S0304-0082(02)00009-6).
- [26] M.M. Heinricher, I. Tavares, J.L. Leith, B.M. Lumb, Descending control of nociception: specificity, recruitment and plasticity, *Brain Res. Rev.* 60 (1) (2009) 214–225, <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2008.12.009>.
- [27] M.E. González-Trujano, C. Gutiérrez-Valentino, M.Y. Hernández-Arámbaro, M. I. Díaz-Reval, F. Pellicer, Identification of some bioactive metabolites and inhibitory receptors in the antinociceptive activity of *Tagetes lucida* Cav., *Life Sci.* 231 (2019) 116523, <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.05.079>.
- [28] A. Beirith, A. Santos, J.B. Calixto, Mechanisms underlying the nociception and paw oedema caused by injection of glutamate into the mouse paw, *Brain Res.* 924 (2) (2002) 219–228, [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)03240-1](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(01)03240-1).
- [29] R.N. Walsh, R.A. Cummins, The open-field test: a critical review, *Psychol. Bull.* 83 (3) (1976) 482, <https://doi.org/10.1037/0033-2909.83.3.482>.
- [30] P.A.J. Janssen, The inhibitory effect of fentanyl and other morphine-like analgesics on the warm water induced tactile withdrawal reflex in rat, *Arzneimittelforschung* 13 (1963) 502–507. PMID: 13957426.
- [31] G. Woolfe, A.D. Macdonald, The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol), *J. Pharmacol. Exp. Therapeut.* 80 (3) (1944) 300–307, <http://jpet.aspetjournals.org/content/80/3/300.abstract>.
- [32] L. Savegnago, C.R. Jesse, L.G. Pinto, J.B.T. Rocha, D.A. Barancelli, C.W. Nogueira, G. Zeni, Diphenyl diselenide exerts antidepressant-like and anxiolytic-like effects in mice: involvement of L-arginine-nitric oxide-soluble guanylate cyclase pathway in its antidepressant-like action, *Pharmacol., Biochem. Behav.* 88 (2008) 418–426, <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2007.09.015>.
- [33] L. Savegnago, L.G. Pinto, C.R. Jesse, D. Alves, J.B.T. Rocha, C.W. Nogueira, G. Zeni, Antinociceptive properties of diphenyl diselenide: evidences for the mechanism of action, *Eur. J. Pharmacol.* 555 (2007) 129–138, <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.10.003>.
- [34] J.R. Deuis, L.S. Dvorakova, I. Vetter, Methods used to evaluate pain behaviors in rodents, *Front. Mol. Neurosci.* 10 (2017) 284, <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00284>.
- [35] S.G. Rosa, C.B. Quines, J.T. Da Rocha, C.F. Bortolatto, T. Duarte, C.W. Nogueira, Antinociceptive action of diphenyl diselenide in the nociception induced by neonatal administration of monosodium glutamate in rats, *Eur. J. Pharmacol.* 758 (2015) 64–71, <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.03.060>.
- [36] R. Perlikowska, J. Piekielna, L. Gentilucci, R. De Marco, M.C. Cerlesi, G. Calo, R. Artali, C. Tömböly, A. Kluczyk, A. Janacka, Synthesis of mixed MOR/KOR efficacy cyclic opioid peptide analogs with antinociceptive activity after systemic administration, *Eur. J. Med. Chem.* 109 (2016) 276–286, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.12.012>.
- [37] K.E. Miller, E.M. Hoffman, M. Sutharshan, R. Schechter, Glutamate pharmacology and metabolism in peripheral primary afferents: physiological and pathophysiological mechanisms, *Pharmacol. Therapeut.* 130 (3) (2011) 283–309, <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2011.01.005>.
- [38] E.A. Wilhelm, P.S. Soares, A.S. Reis, A. Barth, B.G. Freitas, K.P. Motta, B.B. Lemos, A.G. Vogt, C. da Fonseca, D.R. Araujo, A.M. Barcellos, G. Perin, C. Luchese, Se - [(2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl) methyl] 4-chlorobenzoselenoate reduces the nociceptive and edematogenic response by chemical noxious stimuli in mice: implications of multi-target actions, *Pharmacol. Rep.* 71 (6) (2019) 1201–1209, <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2019.07.003>.
- [39] C.A. Brünig, F. Martini, S.M. Soares, L. Savegnago, T.B. Sampaio, C.W. Nogueira, Depressive-like behavior induced by tumor necrosis factor- $\alpha$  is attenuated by m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide in mice, *J. Psychiatr. Res.* 66 (2015) 75–83, <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2015.04.019>.
- [40] D.H. Oliveira, F.S. Sousa, P.T. Birmann, D. Alves, R.G. Jacob, L. Savegnago, Antinociceptive and anti-inflammatory effects of 4-(aryloxyphenyl)-1 H-pyrazoles containing selenium or sulfur, *Pharmacol. Rep.* 72 (1) (2020) 36–46, <https://doi.org/10.1007/s43440-019-00001-4>.
- [41] N.S. Jardim, S.G. Muller, M.H.M. Sari, C.W. Nogueira, Females are more susceptible than male mice to thermal hypernociceptive behavior induced by early-life bisphenol-A exposure: effectiveness of diphenyl diselenide, *Eur. J. Pharmacol.* 879 (2020) 173156, <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173156>.
- [42] V. Silva, A.S. Reis, M.P. Pinz, C. da Fonseca, L. Duarte, J.A. Roehrs, D. Alves, C. Luchese, E.A. Wilhelm, Further analysis of acute antinociceptive and anti-inflammatory actions of 4-phenylselenenyl-7-chloroquinoline in mice, *Fund. Clin. Pharmacol.* 31 (5) (2017) 513–525, <https://doi.org/10.1111/fcp.12295SOUSA>.
- [43] L.A. Pini, M. Sandrini, G. Vitale, The antinociceptive action of paracetamol is associated with changes in the serotonergic system in the rat brain, *Eur. J. Pharmacol.* 308 (1996) 31–40, [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(96\)00261-0](https://doi.org/10.1016/0014-2999(96)00261-0).
- [44] D. Li, J.H. Lee, C.W. Choi, J. Kim, S.K. Kim, W. Kim, The analgesic effect of venlafaxine and its mechanism on oxaliplatin-induced neuropathic pain in mice, *Int. J. Mol. Sci.* 20 (2019) 1652, <https://doi.org/10.3390/ijms20071652>.
- [45] Y. Xu, D. Lin, X. Yu, X. Xie, L. Wang, L. Lian, N. Fei, J. Chen, N. Zhu, G. Wang, X. Huang, J. Pan, The antinociceptive effects of ferulic acid on neuropathic pain: involvement of descending monoaminergic system and opioid receptors, *Oncotarget* 7 (15) (2016) 20455–20468, <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7973>.
- [46] S. Stahl, M. Briley, Understanding pain in depression, *Hum. Psychopharmacol.* 19 (Suppl 1) (2004) S9–S13, <https://doi.org/10.1002/hup.619>.
- [47] H.L. Fields, A.I. Basbaum, Central nervous system mechanisms of pain modulation, in: P.D. Wall, R. Melzack (Eds.), *Textbook of Pain*, third ed., Churchill Livingstone, Edinburgh, 1994, pp. 243–257.
- [48] O.A. Lyubashina, I.I. Busygina, S.S. Pantelev, A.D. Nozdachev, Antinociceptive effect of the agonist of 5-HT<sub>1A</sub> receptors buspirone in the model of abdominal pain in dogs, *Dokl. Biol. Sci.* 473 (1) (2017) 46–49, <https://doi.org/10.1134/S0012496617020119>.

- [49] K.X. Gao, Q. Zhao, G.R. Wang, L. Yu, J.Y. Wu, X. Zhao, Isorhynchophylline exerts antinociceptive effects on behavioral hyperalgesia and allodynia in a mouse model of neuropathic pain: evidence of a 5-HT<sub>1A</sub> receptor-mediated mechanism, *Front. Pharmacol.* 11 (2020) 318, <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00318>.
- [50] Y. Xue, S.Q. Wei, P.X. Wang, W.Y. Wang, E.Q. Liu, R.J. Traub, D.Y. Cao, Down-regulation of spinal 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors contributes to somatic hyperalgesia induced by orofacial inflammation combined with stress, *Neuroscience* 440 (2020) 196–209, <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.05.044>.
- [51] L. Bardin, J. Lavarenne, A. Eschali r, Serotonin receptor subtypes involved in the spinal antinociceptive effect of 5-HT in rats, *Pain* 86 (1–2) (2000) 11–18, [https://doi.org/10.1016/s0304-3959\(99\)00307-3](https://doi.org/10.1016/s0304-3959(99)00307-3).
- [52] H. Obata, S. Saito, M. Sasaki, K. Ishizaki, F. Goto, Antiallodynic effect of intrathecally administered 5-HT(2) agonists in rats with nerve ligation, *Pain* 90 (1–2) (2001) 173–179, [https://doi.org/10.1016/s0304-3959\(00\)00401-2](https://doi.org/10.1016/s0304-3959(00)00401-2).
- [53] M. Seyrek, S. Kahraman, M.S. Deveci, O. Yesilyurt, A. Dogrul, Systemic cannabinoids produce CB<sub>1</sub>-mediated antinociception by activation of descending serotonergic pathways that act upon spinal 5-HT(7) and 5-HT(2A) receptors, *Eur. J. Pharmacol.* 649 (1–3) (2010) 183–194, <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.09.039>.
- [54] E.B. Balbom, F. Grizzenko, A. Speran a, M. Godoi, D. Alves, T. Barcellos, B. Godoi, Copper-catalyzed Csp-chalcogen bond formation: versatile approach to N-(3-(organochalcogenyl)prop-2-yn-1-yl)amides, *Tetrahedron* 75 (2019) 4017–4023, <https://doi.org/10.1016/j.tet.2019.06.031>.

## 5 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que a administração da SePB proporcionou efeito antinociceptivo em todos os testes comportamentais de nocicepção realizados, sem modificar a atividade locomotora. Um envolvimento do sistema serotoninérgico na antinocicepção promovida por este composto, mais especificamente os receptores 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A/2C</sub>, foi observado.

Os testes baseados em modelos térmicos utilizados (teste da imersão da cauda e chapa quente) apresentaram a eficácia antinociceptiva do composto nas doses de 1, 10 e 50 mg/kg, demonstrando que há atuação sobre a medula espinhal e SNC (YAKSH E RUDY, 1977; HUNSKAAR E HOLE, 1987). Ademais, alguns resultados sugerem que a resposta nociceptiva produzida pelo teste da placa quente é supraespinhal (DEUIS, DVORAKOVA E VETTER, 2017). Outrossim, a eficácia de compostos antinociceptivos em modelos de dor relacionados com o envolvimento da medula espinhal é associada com a atenuação da dor em humanos (GRUMBACH, 1966).

Este resultado pode estar ligado a uma possível interação com os canais catiônicos do potencial receptor transitório das proteínas (TRPV), pois estes, são responsáveis por produzir potenciais de ação em temperaturas acima de 42°C. Os testes utilizados usavam como parâmetro a temperatura de 52°C, fazendo com que os animais submetidos tivessem os receptores do tipo TRPV<sub>2</sub> ativados e os estímulos térmicos transmitidos através dos canais TRPV<sub>3</sub> e TRPV<sub>4</sub>, causando nocicepção (CATERINA et al., 1999). Os canais iônicos termossensíveis do TRPV são alvos para o desenvolvimento de novas drogas, que atuam interferindo na sensação periférica de calor (HUANG et al., 2011).

O teste do glutamato na pata, por sua vez, foi utilizado como modelo nociceptivo químico e, do mesmo modo, apresentou bons resultados da SePB nas doses de 10 mg/kg e 50 mg/kg. A nocicepção induzida pela administração intraplantar de glutamato parece envolver locais periféricos, espinhais e supraespinhais, e esse efeito pode ser mediado por mecanismos N-metil-D-aspartato (NMDA) e não NMDA (BEIRITH et al., 2002; MILLER et al.,



2011). De acordo com Mujumdar e Misar (2004), o glutamato participa da modulação da dor, sendo o principal neurotransmissor excitatório e possuindo envolvimento com a transmissão nociceptiva através das fibras aferentes, bem como no desenvolvimento e manutenção da resposta à dor (PEREIRA et al., 2010).

Para avaliar os possíveis mecanismos de ação da SePB, foi realizado o teste da imersão da cauda em camundongos pré-tratados com diferentes antagonistas, sendo estes, a ondansetrona (um antagonista seletivo do receptor serotoninérgico 5-HT<sub>3</sub>), cetanserina (um antagonista seletivo do receptor serotoninérgico 5-HT<sub>2A/2C</sub>) e o WAY100635 (um antagonista seletivo do receptor serotoninérgico 5-HT<sub>1A</sub>). A administração de WAY100635 e cetanserina atuam bloqueando o efeito da SePB e consequentemente reduzindo a latência no teste nociceptivo, indicando que os receptores 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A/2C</sub> podem exercer um papel fundamental no efeito antinociceptivo demonstrado pelo composto. Os camundongos tratados não apresentaram alteração no comportamento de locomoção, no teste de campo aberto, sugerindo que a ação antinociceptiva desse composto não foi devido a distúrbios motores. Esse dado é importante, pois alterações na atividade locomotora pode interferir nos resultados dos testes de nocicepção (WALSH; CUMMINS, 1976; CAPIM et al., 2012).

As monoaminas, incluindo a 5-HT, estão relacionadas à excitabilidade talamocortical e modulação inibitória da dor, a partir da ativação de vias descendentes presentes no núcleo da rafe e corno dorsal (FIELDS; BASBAUM, 1994; BRUNING et al., 2014). O uso de antidepressivos que modulam o sistema serotoninérgico, como a imipramina, no tratamento da dor, corroboram com esta informação (FISHBAIN et al., 2000; DUMAN et al., 2004). Antagonistas de receptores da serotonina, são frequentemente usados para estudo da atividade analgésica dos fármacos, e apresentam resultados relevantes. Estudos demonstraram que a ondansetrona, bloqueou a analgesia induzida pela nifedipina (HUNT et al., 1996) e inibiu o efeito analgésico do tramadol na dor aguda em humanos (DE WITTE et al., 2001). Além disso, o tropisetron, um antagonista do receptor 5-HT<sub>3</sub>, apresentou inibição do efeito antinociceptivo do paracetamol (ALLOUI et al., 2002).

O receptor 5-HT<sub>1A</sub> tem sido implicado na promoção da analgesia, e sua relação está sendo extensivamente estudada com diversos tipos de dor, incluindo dor neuropática, inflamatória e visceral (LYUBASHINA et al, 2017; GAO et al., 2020). Um ensaio realizado por Robles e colaboradores (1996) demonstrou uma possível interação entre o sistema serotoninérgico e canais de potássio, pois, o efeito antinociceptivo central de agonistas do receptor 5-HT<sub>1A</sub> (8-OH-DPAT, buspirona, lesopitron e tandospirona) foi impedido pelas sulfoniluréias gliquidona e glipizide.

Os receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub>, por sua vez, possuem uma estreita relação com a nocicepção, possuindo uma atividade dual, pois ao mesmo tempo em que alguns estudos mostram que esses receptores têm um papel pró-nociceptivo, em contrapartida, outros demonstram que sua ativação pode causar antinocicepção (TAO et al., 2019). Evidências sugerem que os receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub>, localizados na medula espinhal, contribuem para a hiperalgesia (XUE et al. 2020), embora outros estudos afirmem que a ativação dos receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub> em nível espinhal cause antinocicepção (BARDIN et al., 2000; OBATA et al., 2001; SEYREK et al., 2010). Silva e colaboradores (2017) descobriram que o efeito analgésico agudo de um composto orgânico de selênio foi bloqueado quando o antagonista do receptor 5-HT<sub>2A/2C</sub> foi administrado. Nossos resultados corroboram com essa informação.

Em contrapartida, a administração da ondasetrona, o antagonista do receptor 5-HT<sub>3</sub>, não atuou sobre o efeito antinociceptivo da SePB. Segundo Tao et al. (2019), o receptor 5-HT<sub>3</sub> desempenha um papel primordial na facilitação do sistema descendente da dor, principalmente no processamento nociceptivo periférico, uma vez que, antagonistas seletivos desses receptores inibem a resposta nociceptiva induzida por formalina ou por outros estímulos inflamatórios em ratos (GIORDANO; ROGERS, 1989; OKAMOTO et al., 2004). Concluimos, com base na resposta fornecida em nossos testes, que a atividade antinociceptiva da SePB não possui associação com os receptores do tipo 5-HT<sub>3</sub>.

O sistema serotoninérgico e sua associação com o efeito farmacológico de compostos orgânicos vêm sendo amplamente estudado (BRÜNING et al., 2014; ANVERSA et al., 2018; SILVA et al., 2017; PINZ et al., 2016). Os neurônios serotoninérgicos estão associados a medula rostroventral e ao núcleo magno da

rafe, de onde se ramificam para a medula espinhal, fazendo parte da via inibitória descendente da dor (MILLAN, 2002). O núcleo da rafe detém do maior núcleo com fibras serotoninérgicas ascendentes que se projetam para o encéfalo e fibras descendentes que se estendem para o bulbo e medula espinhal (DAHLSTROEM; FUXE, 1964). Com isso em mente, diversos estudos têm sido elaborados com a intenção de elucidar melhor o envolvimento do sistema serotoninérgico e suas relações com a modulação da dor por fármacos com ação analgésica.

Como descrito anteriormente, os opioides apresentam efeito analgésico reconhecido. Evidências sugerem que existe uma forte interação entre os sistemas serotoninérgicos e opioide na via descendente analgésica (Peng et al., 1996). Trabalhos conduzidos durante os anos comprovam esta teoria. Foi constatado que a liberação de 5-HT induzida pela estimulação da substância cinzenta periaquedutal promoveu a ativação de receptores 5-HT<sub>2</sub> e 5-HT<sub>3</sub> presentes em interneurônios inibitórios, e atuava inibindo o corno dorsal da medula espinhal por mecanismos dependentes da liberação de opioides (REYNOLDS, 1969; PENG et al., 1996).

Taber e Latranyi (1981), do mesmo modo, evidenciaram que os opioides e a ação da 5-HT estava associada, pois a depleção central de serotonina bloqueou o efeito antinociceptivo de agonistas opioides. Neste trabalho foi avaliada a ação da p-clorofenilalanina (PCPA), um inibidor da síntese de 5-HT, usando como referência três classes de analgésicos, sendo eles, agonista opioide (morfina), agonista-antagonista opioide (pentazocina) e anti-inflamatórios não-esteroidais (aspirina e clonixina), no teste de retirada de pata de rato. O efeito analgésico de doses equivalentes de cada um dos fármacos foi anulado após a administração do PCPA. A administração da 5- hidroxitriptofano (5-HTP), precursor da serotonina, restaurou a atividade antinociceptiva de todas as drogas. Outro estudo realizado comprovou que a administração de pCPA também reduz o efeito antinociceptivo causado pela administração sistêmica de paracetamol (acetaminofeno) (PINI, SANDRINI E VITALE, 1996). Kimura e colaboradores (2014), por sua vez, atestaram que a administração sistêmica de morfina aumenta a liberação de 5-HT no corno dorsal da medula através de ativação dos neurônios serotoninérgicos na medula ventromedial rostral. Dessa forma, supomos que a SePB possui uma modulação

semelhante e intrínseca a outros sistemas relacionados com a analgesia.

À vista disso, sabemos que existe uma interação entre o sistema serotoninérgico e as vias descendentes da dor, sendo sustentado por outros trabalhos elaborados (LI et al., 2019; XU et al., 2016; ANVERSA et al., 2018; BRÜNING et al., 2014). Por este motivo o fato de a SePB demonstrar um efeito possivelmente modulado por receptores serotoninérgicos o torna um alvo farmacológico viável para o controle da dor.

Mais estudos devem ser realizados para melhor elucidar a relação dos efeitos analgésicos da SePB com outros sistemas, incluindo os sistemas dopaminérgico, adrenérgico, opioide e noradrenérgico. Esses resultados podem lançar luz sobre o possível perfil de múltiplos alvos do composto. Os compostos de múltiplos alvos são relevantes pois as drogas de alvo único nem sempre produzem o efeito desejado em todos os sistemas biológicos, mesmo que inibam ou ativem com sucesso um alvo específico. (CSERMELY et al., 2005; BORAN; IYENGAR, 2010).

## **6 CONCLUSÃO**

Nossos achados demonstram que a SePB tem efeitos analgésicos agudos em diferentes modelos de nocicepção em camundongos sem afetar a atividade motora. Este efeito analgésico está intimamente relacionado ao sistema serotoninérgico, e mais especificamente aos receptores 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A/2C</sub>. Mais estudos elucidando a modulação do efeito analgésico da SePB e sua toxicidade, além de uma avaliação com modelos de dor crônica, deverão ser elaborados. Todavia, o composto pode ser considerado uma molécula de interesse para o tratamento da dor.

## 7 REFERÊNCIAS

- ACKER C. I. et al. Antidepressant-like effect of diphenyl diselenide on rats exposed to malathion: involvement of Na<sup>+</sup> + K<sup>+</sup> + ATPase activity. **Neuroscience Letters**, v. 455, p. 168–172, 2009.
- AGARWAL, R.; BEHARI, J. R. Effect of selenium pretreatment in chronic mercury intoxication in rats. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 79, n. 3, p. 306-310, 2007.
- ALFORD, D. P. et al. Primary care patients with drug use report chronic pain and self-medicate with alcohol and other drugs. **Journal of general internal medicine**, v. 31, n. 5, p. 486-491, 2016.
- ALLOUI, A. et al. Ondansetron inhibits the analgesic effects of tramadol: a possible 5-HT<sub>3</sub> spinal receptor involvement in acute pain in humans. **Anesthesia and Analgesia**, v. 94, p. 1553–1557, 2002.
- ANDERSON, F. et al. Cyclooxygenase-2 selective nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the risk of ischemic stroke: a nested case-control study. **Stroke**, v. 37, n. 7, p. 1725-1730, 2006.
- ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. **Animais de laboratório: criação e experimentação**. Editora Fiocruz, 2006.
- ANTI, S. M. A.; GIORGI, R. D. N.; CHAHADE, W. H. Antiinflamatórios hormonais: glicocorticóides. **Einstein**, v. 6, n. 1, p. 159-165, 2008.
- ANTMAN, E. M.; DEMETS, D.; LOSCALZO, J. Cyclooxygenase inhibition and cardiovascular risk. **Circulation**, v. 112, n. 5, p. 759-770, 2005.
- ANVERSA, R. G. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of 1, 2-bis-(4 methoxyphenylselanyl) styrene in mice: involvement of the serotonergic system. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 70 (7), p. 901-909, 2018.
- APKARIAN, A. Vania; HODGE, Charles J. A dorsolateral spinothalamic tract in macaque monkey. **Pain**, v. 37, n. 3, p. 323-333, 1989.

ARAUJO, P. C. O. et al. Effect of m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide on acute and subchronic animal models of inflammatory pain: behavioral, biochemical and molecular insights. **Chemico-Biological Interactions**, v. 317, p. 108941, 2020.

BALDO, M.V.C. Somestesia. In: AIRES, M. M. et al. Fisiologia. 2.ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1999.

BALIKI, M.N.; APKARIAN, A.V. Nociception, Pain, Negative Moods, and Behavior Selection. **Neuron**, v. 87, n. 3, p. 474-491, 2015.

BARDIN, L.; LAVARENNE, J.; ESCHALIER, A. Serotonin receptor subtypes involved in the spinal antinociceptive effect of 5-HT in rats. **Pain**, v. 86 (1-2), p. 11–18, 2000.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. Química Medicinal-: As bases moleculares da ação dos fármacos. **Artmed Editora**, 2014.

BASBAUM, A. I. et al. Cellular and molecular mechanisms of pain. **Cell**, v. 139, n. 2, p. 267-284, 2009.

BATLOUNI, M. Anti-inflamatórios não esteroides: efeitos cardiovasculares, cerebrovasculares e renais. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 94, n. 4, p. 556-563, 2010.

BAUMANS, V. et al. Pain and distress in laboratory rodents and lagomorphs: Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) Working Group on Pain and Distress accepted by the FELASA Board of Management November 1992. **Laboratory animals**, v. 28, n. 2, p. 97-112, 1994.

BEECHER, H. K. The measurement of pain: prototype for the quantitative study of subjective responses. **Pharmacological reviews**, v. 9, n. 1, p. 59-209, 1957.

BEHNE, D.; WOLTERS, W. Distribution of selenium and glutathione peroxidase in the rat. **The Journal of nutrition**, v. 113, n. 2, p. 456-461, 1983.

BEIRITH, A. et al. Mechanisms underlying the nociception and paw edema caused by injection of glutamate into the mouse paw. **Brain Research**, v. 924, p. 219–28, 2002.

BEIRITH, A.; SANTOS, A.R.S.; CALIXTO, J.B. Mechanisms underlying the nociception an paw oedema caused by injection of glutamate into the mouse paw. **Brain Research**, v. 924, p. 219-228. 2002.

BENNETT, G. J.; XIE, Y. K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. **Pain**, v. 33, n. 1, p. 87-107, 1988.

BERGERON, D. et al. Deep brain stimulation of the posterior insula in chronic pain: A theoretical framework. **Brain Sciences**, v. 11, n. 5, p. 639, 2021.

BESCKOW E. M. et al. Antidepressant-like effect of a selenopropargylic benzamide in mice: involvement of the serotonergic system. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 237(10), p. 3149-3159, 2020.

BLAIR, R. W.; AMMONS, W. S.; FOREMAN, R. D. Responses of thoracic spinothalamic and spinoreticular cells to coronary artery occlusion. **Journal of neurophysiology**, v. 51, n. 4, p. 636-648, 1984.

BLIESENER, N. et al. Plasma testosterone and sexual function in men receiving buprenorphine maintenance for opioid dependence. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 90, n. 1, p. 203-206, 2005.

BONICA, J. J. The management of pain of cancer. **Journal – Michigan State Medical Society**, 52, 284-290, 1953.

BORAN, A.D.; IYENGAR, R. Systems approaches to polypharmacology and drug discovery. **Current Opinion in Drug Discovery and Development**, v. 13, p. 297-309, 2010.

BORITZKI, T. J. et al. Biochemical and antitumor activity of tiazofurin and its selenium analog (2- $\beta$ -d-ribofuranosyl-4-selenazolecarboxamide). **Biochemical pharmacology**, v. 34, n. 7, p. 1109-1114, 1985.

BOURNE, S.; MACHADO, A. G.; NAGEL, S. J. Basic Anatomy and Physiology of Pain Pathways. **Neurosurgery Clinics of North America**, v. 25, n. 4, p. 629-638, 2014.



BOWKER, R. M. et al. Organization of descending serotonergic projections to the spinal cord. **Progress in brain research**, v. 57, p. 239-265, 1982.

BRIDGESTOCK, C.; RAE, P. R. Anatomy, physiology and pharmacology of pain. **Anaesthesia and Intensive Care Medicine**, v. 14, n. 11, p. 480-483, 2013.

BRITISH National Formulary– BNF 57. London: **British Medical Association and The Royal Pharmaceutical Society of Great Britain**, 2009.

BROOME, C. S. et al. An increase in selenium intake improves immune function and poliovirus handling in adults with marginal selenium status. **The American journal of clinical nutrition**, v. 80, n. 1, p. 154-162, 2004.

BROWN, R. T. et al. Adverse effects and cognitive function among primary care patients taking opioids for chronic nonmalignant pain. **Journal of Opioid Management**, v. 2, n. 3, p. 137-146, 2006.

BRUNE K, HINZ B. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors: similarities and differences. **Scandinavian journal of rheumatology**, v. 33, p.1-6, 2004.

BRUNING, C. A. et al. Serotonergic systems are implicated in antinociceptive effect of m-trifluoromethyl diphenyl diselenide in the mouse glutamate test. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.125, p. 15-20, 2014.

BRUNING, C. A. et al. Antidepressant-like effect of m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide in the mouse forced swimming test involves opioid and serotonergic systems. **European journal of pharmacology**, v. 658, n. 2-3, p. 145-149, 2011.

BRUNING, C. A. et al. Involvement of the serotonergic system in the anxiolytic-like effect caused by m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide in mice. **Behavioural brain research**, v. 205, n. 2, p. 511-517, 2009.

BRUNING, C. A. et al. m-Trifluoromethyl-diphenyl diselenide, a multi-target selenium compound, prevented mechanical allodynia and depressive-like behavior in a mouse comorbid pain and depression model. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 63, p. 35-46, 2015.

BRÜNING, C.A. et al. Serotonergic systems are implicated in antinociceptive effect of m-trifluoromethyl diphenyl diselenide in the mouse glutamate test. **Pharmacology and Biochemistry Behavior**. v.125, p.15-20, 2014.

BRUNING, C. A. et al. Evidence for the involvement of mu-opioid and delta-opioid receptors in the antinociceptive effect caused by oral administration of m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide in mice. **Behaviour Pharmacology**, v. 21, p. 621-626, 2010.

BRUNTON L. L.; LAZO J. S; PARKER K. L. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th Edition. McGraw-Hill, New York: 2006.

BURUKOGLU, D. et al. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory meloxicam on stomach, kidney, and liver of rats. **Toxicology and Industrial Health**, v. 32, n. 6, p. 980-986, 2016.

BYAS-SMITH, M. G. et al. The effect of opioids on driving and psychomotor performance in patients with chronic pain. **The Clinical journal of pain**, v. 21, n. 4, p. 345-352, 2005.

CADENAS, E.; SIES, H. Oxidative stress: excited oxygen species and enzyme activity. **Advances in enzyme regulation**, v. 23, p. 217-237, 1985.

CAPIM, S.L. et al. Design, Prins-cyclization reaction promoting diastereoselective synthesis of 10 new tetrahydropyran derivatives and in vivo antinociceptive evaluations. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 58, p. 1-11, 2012.

CARDOSO, B. R. et al. Selenium, selenoproteins and neurodegenerative diseases. **Metallomics**, v. 7, n. 8, p. 1213-1228, 2015.

CASARIL, A. M. et al. Evaluation of the toxicity of  $\alpha$ - (phenylselanyl) acetophenone in mice. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 73, p. 868–874, 2015.

CATELA IVKOVIĆ, T. I. N. A. Cyclooxygenase isoforms in tumorigenesis. **Periodicum biologorum**, v. 112, n. 4, p. 441-449, 2010.

CATERINA, M. J. et al. Capsaicin-receptor homologue with a high threshold for

noxious heat. **Nature**, v. 398, p. 436-441, 1999.

CAVALCANTI, I. L.; MADDALENA, M. L. Dor. **Dor**, p. 299-299, 2003.

CHADRASEKHARAN, N. V. et al. Cox-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic / antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. **Proceedings of the National academy of sciences of the United States of America**, v. 99, n. 21, p. 13926-13931, 2002.

CLAUSEN, J. Demential syndromes and the lipid metabolism. **Acta neurologica scandinavica**, v. 70, n. 5, p. 345-355, 1984.

COLLETT B. J. Opioid tolerance: The clinical perspective. **British Journal of Anaesthesia**, v. 81, p. 58- 68, 1998.

COLVILLE-NASH, P. R. et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase by peroxisome proliferator-activated receptor agonists: correlation with induction of heme oxygenase 1. **The Journal of Immunology**, v. 161, n. 2, p. 978-984, 1998.

COMBS JR, G. F. et al. The role of selenium in nutrition. **Academic Press**, Inc., 1986.

COWEN, R.; STASIOWSKA, M.K.; LAYCOCK, H.; BANTEL, C. Assessing pain objectively: the use of physiological markers. **Anaesthesia**, v. 70, n. 7, p. 828-847, 2015.

CSERMELY, P.; AGOSTON, V.; PONGOR, S. The efficiency of multi-target drugs: the network approach might help drug design. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 26, p. 178-182, 2005.

CURY, Y.; PICOLO, G.; GUTIERREZ, V.P.; FERREIRA, S.H. Pain and analgesia: The dual effect of nitric oxide in the nociceptive system. **Nitric Oxide: Biology and Chemistry**, v. 25, n. 3, p. 243-254, 2011.

DADO, R. J.; KATTER, J. T.; GIESLER JR, G. J. Spinothalamic and spinohypothalamic tract neurons in the cervical enlargement of rats. I. Locations of antidromically identified axons in the thalamus and hypothalamus. **Journal of**

**neurophysiology**, v. 71, n. 3, p. 959-980, 1994.

DAHLSTRÖM, A.; FUXE, K. A method for the demonstration of adrenergic nerve fibres in peripheral nerves. **Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie**, v. 62, n. 5, p. 602-607, 1964.

DAMIANI, D. et al. Corticoterapia e suas repercussões: a relação custo- benefício. **Pediatria (São Paulo)**, v. 23, p. 71-82, 2001.

DANIELL, H. W. DHEAS deficiency during consumption of sustained-action prescribed opioids: evidence for opioid-induced inhibition of adrenal androgen production. **The Journal of Pain**, v. 7, n. 12, p. 901-907, 2006.

DANIELL, H. W. Hypogonadism in men consuming sustained-action oral opioids. **The Journal of Pain**, v. 3, n. 5, p. 377-384, 2002.

DANIELL, H. W. Opioid endocrinopathy in women consuming prescribed sustained-action opioids for control of nonmalignant pain. **The Journal of Pain**, v. 9, n. 1, p. 28-36, 2008.

DANIELL, H. W.; LENTZ, R.; MAZER, N. A. Open-label pilot study of testosterone patch therapy in men with opioid-induced androgen deficiency. **The Journal of Pain**, v. 7, n. 3, p. 200-210, 2006.

DAVIES, K. M. et al. Copper pathology in vulnerable brain regions in Parkinson's disease. **Neurobiology of aging**, v. 35, n. 4, p. 858-866, 2014.

DE WITTE, J.L.; SCHOENMAEKERS, B.; SESSLER, D.I.; DELOOF, T. The analgesic efficacy of tramadol is impaired by concurrent administration of ondansetron. **Anesthesia and Analgesia**, v. 92, p. 1319–1321, 2001.

DEUIS, J. R.; DVORAKOVA, L. S.; VETTER, I. 2017. Methods used to evaluate pain behaviors in rodents. **Frontiers in molecular neuroscience**, v.10, p.284, 2017.

DIMITROV, V. et al. Abrogation of adriamycin-induced cardiotoxicity by selenium in rabbits. **The American journal of pathology**, v. 126, n. 2, p. 376, 1987.

DJOUHRI, L. A $\delta$ -fiber low threshold mechanoreceptors innervating mammalian hairy skin: A review of their receptive, electrophysiological and cytochemical properties in relation to A $\delta$ -fiber high threshold mechanoreceptors. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 61, n. 1, p. 225-238, 2016.

D'MELLO, R.; DICKENSON, A. H. Spinal cord mechanisms of pain. **British journal of anaesthesia**, v. 101, n. 1, p. 8-16, 2008.

DOGRUL A.; OSSIPOV M. H.; PORRECA F. Differential mediation of descending pain facilitation and inhibition by spinal 5HT-3 and 5HT-7 receptors. **Brain Research**, v. 1280, p. 52–59, 2009.

DOUGHERTY, P. M.; WILLIS, W. D. Modification of the responses of primate spinothalamic neurons to mechanical stimulation by excitatory amino acids and an N-methyl-D-aspartate antagonist. **Brain research**, v. 542, n. 1, p. 15-22, 1991.

DREWES, A. M. The physiology of pain. **Ugeskrift for Laeger**, v. 168, n. 20, p. 1941- 1943, 2006.

DUBIN, A. E.; PATAPOUTIAN, A. Nociceptors: the sensors of the pain pathway. **The Journal of clinical investigation**, v. 120, n. 11, p. 3760-3772, 2010.

DUMAN, E. N. et al. Possible involvement of opioidergic and serotonergic mechanisms in antinociceptive effect of paroxetine in acute pain. **Journal of Pharmacological Sciences**, v.94, p.161-165, 2004.

DUTHIE, D. J. R.; NIMMO, W. S. Adverse effects of opioid analgesic drugs. **BJA: British Journal of Anaesthesia**, v. 59, n. 1, p. 61-77, 1987.

EJAZ, P.; BHOJANI, K.; JOSHI, V. R. NSAIDs and kidney. **Japi**, v. 52, n. 632-640, p. 371, 2004.

ERNBERG, M.; LUNDEBERG, T.; KOPP S. Pain and allodynia/hyperalgesia induced by intramuscular injection of serotonin in patients with fibromyalgia and healthy individuals. **Pain**, v. 85, p. 31–39, 2000.

- FACCHINETTI, F. et al. Reduced estriol and dehydroepiandrosterone sulphate plasma levels in methadone-addicted pregnant women. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 23, n. 1-2, p. 67-73, 1986.
- FAGUNDES, D. J.; TAHA, M. O. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 19, n. 1, p. 59-65, 2004.
- FAVERO, A. M. et al. Diphenyl diselenide changes behavior in female pups. **Neurotoxicology and teratology**, v. 28, n. 5, p. 607-616, 2006.
- FEDERICO, A. et al. Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration. **Journal of the neurological sciences**, v. 322, n. 1-2, p. 254-262, 2012.
- FIELDS, H. L.; HEINRICHER, M. M.; MASON, P. Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits, **Annual Review of Neuroscience**, v.14, p. 219 – 245, 1991.
- FIELDS, H.L.; BASBAUM, A.I. Central nervous system mechanisms of pain modulation. **Wall PD, Melzack R. Textbook of pain. 3ed**, Edinburgh, 1994.
- FISHBAIN, D. A.; ROSOMOFF, H. L.; ROSOMOFF, R. Steele. Drug abuse, dependence, and addiction in chronic pain patients. **The Clinical journal of pain**, v. 8, n. 2, p. 77-85, 1992.
- FISHBAIN, D.A., CUTLER R.R., ROSOMOFF, H.L., ROSOMOFF, R.S. Evidence-based data from animal and human experimental studies on pain relief with antidepressants: a structured review. **Pain Medicine**, v.1, p.310-316, 2000.
- FITZGERALD, G. A. Coxibs and cardiovascular disease. **New England Journal of Medicine**, v. 351, n. 17, p. 1709-1711, 2004.
- GAO, K. X. et al. Isorhynchophylline Exerts Antinociceptive Effects on Behavioral Hyperalgesia and Allodynia in a Mouse Model of Neuropathic Pain: Evidence of a 5-HT<sub>1A</sub> Receptor-Mediated Mechanism. **Frontiers in pharmacology**, v. 11, p. 318, 2020.

GARCIA, C. S. et al. Effect of m-Trifluoromethyl-diphenyl diselenide on the Pain–Depression Dyad Induced by Reserpine: Insights on Oxidative Stress, Apoptotic, and Glucocorticoid Receptor Modulation. **Molecular Neurobiology**, v. 58, n. 10, p. 5078-5089, 2021.

GARLAND, E. L. Pain processing in the human nervous system: a selective review of nociceptive and biobehavioral pathways. **Primary Care**, v. 39, n. 3, p. 561-571, 2012.

GE, K. et al. Keshan disease-an endemic cardiomyopathy in China. **Virchows Archiv A**, v. 401, n. 1, p. 1-15, 1983.

GERZSON, M. F. B. et al. 2012. In vitro antioxidant activity and in vivo antidepressant-like effect of  $\alpha$ -(phenylselanyl) acetophenone in mice. *Pharmacology Biochemical Behaviour*, v. 102, p. 21–29, 2012.

GIORDANO, J.; ROGERS, L. V. Peripherally administered serotonin 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists reduce inflammatory pain in rats. **European Journal of Pharmacology**, v.170, n.1-2, p.83- 6, 1989.

GODINEZ-CHAPARRO B. et al. Role of peripheral 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>6</sub>, and 5-HT<sub>7</sub> receptors in development and maintenance of secondary mechanical allodynia and hyperalgesia. **Pain**, v. 152, p. 687–697, 2011.

GREENSPAN, J. D. et al. Studying sex and gender differences in pain and analgesia: a consensus report. **Pain**, v. 132, p. S26-S45, 2007.

GROSSER, T.; FRIES, S.; FITZGERALD, G. A. Biological basis for the cardiovascular consequences of COX-2 inhibition: therapeutic challenges and opportunities. **The Journal of clinical investigation**, v. 116, n. 1, p. 4-15, 2006.

GRUMBACH, L. The prediction of analgesic activity in man by animal testing. In: **Knighton, R.S., Dumke, P.R. (Eds.), Pain**. Little Brown and Co., Boston, p. 163–182, 1966.

GUO, D.; HU. J. Spinal presynaptic inhibition in pain control. **Neuroscience**, v. 283,n.

1, p. 95-106, 2014.

GURGU, H. et al. Synthesis and biological evaluation of new N-(2-DIMETHYLAMINOETHYL)-N-((UN) substituted PHENYL-2-(4-METHYL/METHOXY-PHENOXYMETHYL) BENZAMIDES. **Metabolism**, v. 12, p. 19, 2017.

HALL, G. M. et al. Site of action of fentanyl in inhibiting the pituitary-adrenal response to surgery in man. **British Journal of Anaesthesia**, v. 65, n. 2, p. 251-253, 1990.

HARDEN, N., COHEN, M. Unmet needs in the management of neuropathic pain. **J PainSymptom Manage**, 25, S12-17, 2003.

HATFIELD, D. L.; BERRY, M. J.; GLADYSHEV, V. N. **Selenium: its molecular biology and role in human health**. Springer Science & Business Media, 2011.

HELLYER, P. et al. AAHA/AAFP pain management guidelines for dogs and cats. **Journal of Feline Medicine & Surgery**, v. 9, n. 6, p. 466-480, 2007.

HENSCHKE N., KAMPER S. J., MAHER C. G. The epidemiology and economic consequences of pain. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 90, p. 139–47, 2015.

HEYWOOD, R. The use of animals in testing. **Alternatives to Laboratory Animals**, v. 14, n. 4, p. 329-333, 1987.

HIGGINS, D. M. et al. The relationship between chronic pain and neurocognitive function: a systematic review. **The Clinical journal of pain**, v. 34, n. 3, p. 262, 2018.

HITT, H. C. et al. Comorbidity of obesity and pain in a general population: results from the Southern Pain Prevalence Study. **The Journal of Pain**, v. 8, n. 5, p. 430-436, 2007.

HODGE JR, C. J.; APKARIAN, A. V. The spinothalamic tract. **Critical Reviews in Neurobiology**, v. 5, n. 4, p. 363-397, 1990.

HOSOBUCHI, Y.; ADAMS, J. E.; LINCHITZ, R. Pain relief by electrical stimulation of the central gray matter in humans and its reversal by naloxone. **Science**, v. 197, n.



4299, p. 183-186, 1977.

HUANG, S.M.; XIAOXIN, L.; YU, Y.Y.; WAND, J.; CATERINA, M.J. TRPV3 and TRPV4 ion channels are not major contributors to mouse heat sensation. **Molecular Pain**, v.7, p.37-48, 2011.

HUBER, P. C. et al. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Química Nova**, 2008.

HUNSKAAR S.; HOLE K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v. 30, p.103–114, 1987.

HUNT, T.E., WU, W.H., ZBUZEK, V.K. 1996. Ondansetron blocks nifedipine-analgesia induced in rats. **Anesthesia and Analgesia**, v. 82, p. 498–500, 1996.

HUSE, E. et al. The effect of opioids on phantom limb pain and cortical reorganization. **Pain**, v. 90, n. 1-2, p. 47-55, 2001.

HYLDEN, J. L. K. et al. Characterization of lamina I projection neurons: physiology and anatomy. In: **Processing of Sensory Information in the Superficial Dorsal Horn of the Spinal Cord**. Springer, Boston, MA, 1989. p. 113-128.

JAGGI, A. S.; JAIN, V.; SINGH, N. Animal models of neuropathic pain. **Fundamental & clinical pharmacology**, v. 25, n. 1, p. 1-28, 2011.

JANEVIC, M. R. et al. Racial and socioeconomic disparities in disabling chronic pain: findings from the health and retirement study. **The Journal of Pain**, v. 18, n. 12, p. 1459-1467, 2017.

JANEWAY C. A. et al. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 5<sup>th</sup> Ed, New York, Garland Publishing/Churchill Livingstone, 2001.

JANSSEN, P. A. J. The inhibitory effect of fentanyl and other morphine-like analgesics on the warm water induced tactile withdrawal reflex in rat. **Arzneimittelforschung**, v. 13, p. 502-507, 1963.

JESSE C. R. et al. Further analysis of the antinociceptive action caused by p-

methoxyl-diphenyl diselenide in mice. **Pharmacology Biochemical Behaviour**, v. 91 (4), p. 573–580, 2009.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M. Principles of Neural Science. 4<sup>a</sup> ed. New York: McGraw Hill, 2000.

KATZ, N.; MAZER, N. A. The impact of opioids on the endocrine system. **The Clinical journal of pain**, v. 25, n. 2, p. 170-175, 2009.

KIMURA, M.; OBATA, H.; SAITO, S. Peripheral nerve injury reduces analgesic effects of systemic morphine via spinal 5-hydroxytryptamine 3 receptors. **Anesthesiology**, v.121(2), p.362-71. 2014.

KLAUMANN, P. R.; WOUK, A. F. P. F.; SILLAS, T. Patofisiologia da dor. **Archives of Veterinary Science**, v. 13, n. 1, p. 1-12, 2008.

KLAYMAN, D. L. Selenium compounds as potential chemotherapeutic agents. Organic selenium compounds: Their chemistry and biology. **New York: John Wiley & Sons**, p. 727-761, 1973.

KOREN, G. et al. Pharmacogenetics of morphine poisoning in a breastfed neonate of a codeine-prescribed mother. **The Lancet**, v. 368, n. 9536, p. 704, 2006.

KRÖTZ, F. et al. Selective COX-2 inhibitors and risk of myocardial infarction. **Journal of vascular research**, v. 42, n. 4, p. 312-324, 2005.

KRYUKOV, G. V. et al. Characterization of mammalian selenoproteomes. **Science**, v. 300, n. 5624, p. 1439-1443, 2003.

KURZ, A.; SESSLER, D. I. Opioid-induced bowel dysfunction. **Drugs**, v. 63, n. 7, p. 649-671, 2003.

LAINE, L. et al. Double-blind randomized trials of single-tablet ibuprofen/high-dose famotidine vs. ibuprofen alone for reduction of gastric and duodenal ulcers. **The American journal of gastroenterology**, v. 107, n. 3, p. 379, 2012.

LAMONT, L. A.; TRANQUILLI, W. J.; GRIMM, K. A. Physiology of pain. **Veterinary**

**Clinics: Small Animal Practice**, v. 30, n. 4, p. 703-728, 2000.

LANG, P. M. et al. Activity-dependent modulation of axonal excitability in unmyelinated peripheral rat nerve fibers by the 5-HT (3) serotonin receptor. **Journal of neurophysiology**, v. 96, n. 6, p. 2963-2971, 2006.

LAW, Public. Be it enacted hy the Senate and House of Representatives of the United States of America in Congress assernbled^ That this Act may be cited as the" Animal Welfare Act of 1970". SEC. 2. The first section of the Act of August 24, 1966 (Public Law 89-544; 80 Stat. 350), as amended, is amended to read as follows. **Public Law**, v. 91, p. 579, 1970.

LEDOUX, J. E. et al. Topographic organization of convergent projections to the thalamus from the inferior colliculus and spinal cord in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 264, n. 1, p. 123-146, 1987.

LEWIS, V. A.; GEBHART, G. F. Evaluation of the periaqueductal central gray (PAG) as a morphine-specific locus of action and examination of morphine-induced and stimulation-produced analgesia at coincident PAG loci. **Brain research**, v. 124, n. 2, p. 283-303, 1977.

LI, D. The analgesic effect of venlafaxine and its mechanism on oxaliplatin-induced neuropathic pain in mice. **International journal of molecular sciences**, v. 20, p.1652, 2019.

LINEBERRY C. G. Laboratory animals in pain research. In: GAY, W. **Methods in animal experimentation**, volume VI, Academic Press, 1981. p. 237-311.

LISCHETZKI, G. et al. Nociceptor activation and protein extravasation induced by inflammatory mediators in human skin. **European Journal of Pain**, v. 5, p. 49–57, 2001.

LOESER, J. D., TREEDE, R. D. The Kyoto protocol of IASP Basic Pain Terminology. **Pain**, 137, 473-477, 2008.

LOESER, J. D.; MELZACK, R. Pain: an overview. **The lancet**, v. 353, n. 9164, p.

1607- 1609, 1999.

LOPES J. M. C. Fisiopatologia da dor. Portugal: Permanyer, 2003.

LUCHESE, C. et al. 2,2'-Dipyridyl diselenide is a better antioxidant than other disubstituted diaryl diselenides. **Molecular and Cellular Biochemistry**, 367, 153–163, 2012.

LÚCIO, M. et al. Binding of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs to DPPC: Structure and Thermodynamic Aspects. **Langmuir**, v. 24, p. 4132-4139, 2008.

LYUBASHINA, O. A.; BUSYGINA, I. I.; PANTELEEV, S. S.; NOZDRACHEV, A. D., 2017. Antinociceptive effect of the agonist of 5-HT<sub>1A</sub> receptors buspirone in the model of abdominal pain in dogs. **Doklady Biological Sciences**, v. 473 (1), p. 46-49, 2017.

MA, W.; PESCHANSKI, M.; RALSTON III, H. J. Fine structure of the spinothalamic projections to the central lateral nucleus of the rat thalamus. **Brain research**, v. 414, n. 1, p. 187-191, 1987.

MACFARLANE, G. J. et al. Can large surveys conducted on highly selected populations provide valid information on the epidemiology of common health conditions? An analysis of UK Biobank data on musculoskeletal pain. **British journal of pain**, v. 9, n. 4, p. 203-212, 2015.

MACHADO M. S. et al. 3,3-Ditrifluoromethyldiphenyl diselenide: a new organoselenium compound with interesting antigenotoxic and antimutagenic activities. **Mutation Research**, v. 673, p. 133–140, 2009.

MACHADO M. S. et al. An organic selenium compound attenuates apomorphine-induced stereotypy in mice. **Neuroscience Letters**, v. 410, p. 198–202, 2006.

MAGNI, D. V. et al. m-trifluoromethyl diphenyl diselenide attenuates glutaric acid-induced seizures and oxidative stress in rat pups: Involvement of the γ-aminobutyric acidergic system. **Journal of Neuroscience Research**, v. 90, n. 9, p. 1723-1731,

2012.

MANCHIKANTI, L. et al. A comparative evaluation of illicit drug use in patients with or without controlled substance abuse in interventional pain management. **Pain Physician**, v. 6, n. 3, p. 281-285, 2003.

MANCHIKANTI, L. et al. Does random urine drug testing reduce illicit drug use in chronic pain patients receiving opioids?. **Pain Physician**, v. 9, n. 2, p. 123, 2006.

MANCHIKANTI, L. et al. Patterns of illicit drug use and opioid abuse in patients with chronic pain at initial evaluation: a prospective, observational study. **Pain physician**, v. 7, n. 4, p. 431-437, 2004.

MANCHIKANTI, L. National drug control policy and prescription drug abuse: facts and fallacies. 2007.

MAO, J. et al. Neuronal apoptosis associated with morphine tolerance: evidence for an opioid-induced neurotoxic mechanism. **Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 17, p. 7650-7661, 2002.

MARCONDES SARI, M. H. et al. p,p'-Methoxyl-diphenyl diselenide-loaded polymeric nanocapsules are chemically stable and do not induce toxicity in mice. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 117, p. 39–48, 2017.

MARCONDES SARI, M. H. et al. Enhanced pharmacological actions of p,p'-methoxyl- diphenyl diselenide-loaded polymeric nanocapsules in a mouse model of neuropathic pain: Behavioral and molecular insights. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 46, p. 17–25, 2018.

MARKESBERY, W. R. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 23, n. 1, p. 134-147, 1997.

MARTIN, L. L. et al. Dibenz [b, c] oxepinalkanoic acids as nonsteroidal antiinflammatory agents. 4. Synthesis and evaluation of 4-(4, 10-dihydro-10-oxothieno [3, 2-c][1] benzoxepin-8-yl) butanol and-butyric acid and

related derivatives. **Journal of medicinal chemistry**, v. 27, n. 3, p. 372-376, 1984.

MARZINIAK, M. et al. A functional serotonin transporter gene polymorphism is associated with migraine with aura. **Neurology**, v. 64, n. 1, p. 157-159, 2005.

MAUTNER, H. G. The synthesis and properties of some selenopurines and selenopyrimidines. **Journal of the American Chemical Society**, v. 78, n. 20, p. 5292- 5294, 1956.

MELZACK R.; WALL P. O desafio da dor. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1987. 425 p.

MELZACK, R.; WALL, P.D. Pain mechanisms: a new theory. **Science**, v. 150, n.3699, p. 971-999, 1965.

MENDES, R. T. et al. Inibição seletiva da ciclo-oxigenase-2: riscos e benefícios. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 52, n. 5, p. 774-782, 2012.

MEOTTI F. C. et al. Protective role of aryl and alkyl diselenide on lipid peroxidation. **Environmental Research**, v. 94, p. 276–282, 2004.

MERCADANTE, S.; ARCURI, E. Hyperalgesia and opioid switching. **American Journal of Hospice and Palliative Medicine®**, v. 22, n. 4, p. 291-294, 2005.

MERCADANTE, S.; VILLARI, P.; FERRERA, P. Burst ketamine to reverse opioid tolerance in cancer pain. **Journal of pain and symptom management**, v. 25, n. 4, p. 302-305, 2003.

MERTENS, Patrick et al. Anatomy, physiology and neurobiology of the nociception: a focus on low back pain (part A). **Neurochirurgie**, v. 61, p. S22-S34, 2015.

MEYER, R. A. et al. Peripheral mechanisms of cutaneous nociception, chapter 1. **Wall and Melzack's textbook of pain. 5th ed. Amsterdam: Elsevier**, p. 1, 2006.

MILLAN, M. J. Descending control of pain. **Progress in Neurobiology**, v. 66(6), p. 355–474, 2002.

MILLAN, M. J. The induction of pain: an integrative review. **Progress in**

**Neurobiology**, 57, 1-164, 1999.

MILLER, K. E.; HOFFMAN, E. M.; SUTHARSHAN, M.; SCHECHTER, R. Glutamate pharmacology and metabolism in peripheral primary afferents: physiological and pathophysiological mechanisms. **Pharmacology and therapeutics**, v.130 (3), p.283– 309, 2011.

MOALEM G.; GRAFE P.; TRACEY D. J. Chemical mediators enhance the excitability of unmyelinated sensory axons in normal and injured peripheral nerve of the rat. **Neuroscience**, v. 134, p. 1399–1411, 2005.

MONTINARI, M. R.; MINELLI, S.; DE CATERINA, R. The first 3500 years of aspirin history from its roots—A concise summary. **Vascular pharmacology**, v. 113, p. 1-8, 2019.

MORGAN G.; MIKHAIL M. Anestesiologia clínica (2ª ed.). Rio de Janeiro: Revinter, 2003.

MORTON, D. B.; GRIFFITHS, P. H. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment. **Vet Rec**, v. 116, n. 16, p. 431-6, 1985.

MUJUMDAR, A.M.; MISAR, A.V. Anti-inflammatory activity of *Jatropha curcas* roots in mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.90, p.1-5, 2004.

MUSU, M. et al. Acute nephrotoxicity of NSAID from the foetus to the adult. 2011.

NAGAKURA, Y. et al. Biogenic amine depletion causes chronic muscular pain and tactile allodynia accompanied by depression: A putative animal model of fibromyalgia. **Pain**, v. 146, n. 1-2, p. 26-33, 2009.

NAIDU, R. K.; PHAM, T. M. Pain management. In: SIKKA, P. K.; BEAMAN, S. T.; STREET, J. A. **Basic Clinical Anesthesia**. New York: Springer, 2015. p. 265-296.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL et al. Recognition and alleviation of pain in laboratory animals. 2010.

NÈGVE, J. et al. SELENIUM AND GLUTATHIONE PEROXIDASE IN PLASMA AND ERYTHROCYTES OF DOWNS SYNDROME (TRISOMY 21) PATIENTS. **Journal of Intellectual Disability Research**, v. 28, n. 4, p. 261-268, 1984.

NOGUEIRA C. W. et al. Antiinflammatory and antinociceptive activity of diphenyl diselenide. **Inflammatory Research**, v. 52, p. 56–63, 2003.

NOGUEIRA C. W. et al. Investigations into the potential neurotoxicity induced by diselenides in mice and rats. **Toxicology**, v. 183, p. 29–37, 2003.

NOGUEIRA C. W.; ZENI G.; ROCHA J. B. T. Organoselenium and organotellurium compounds: pharmacology and toxicology. **Chemical Review**, v. 104, p. 6255–6286, 2004.

NOGUEIRA, C. W.; ROCHA, J. B. Toxicology and pharmacology of selenium: emphasis on synthetic organoselenium compounds. **Archives Toxicology**, v. 85 (11) p. 1313–1359, 2011.

OBATA, H. et al. 2001. Antiallodynic effect of intrathecally administered 5-HT(2) agonists in rats with nerve ligation. **Pain**, v.90 (1-2), p.173–179, 2001.

OKAMOTO, K. et al. Blockade of peripheral 5HT3 receptor attenuates the formalin-induced nocifensive behavior in persistent temporomandibular joint inflammation of rat. **Neuroscience Letters**, v.367, n.2, p.259-63. 2004.

OLIVEIRA, C. E. Pain-depression dyad induced by reserpine is relieved by p,p'-methoxydiphenyl diselenide in rats. **European Journal Pharmacology**, v. 791, p. 794–802, 2016.

OLTMANN, K. M.; FEHM, H. L.; PETERS, A. Chronic fentanyl application induces adrenocortical insufficiency. **Journal of internal medicine**, v. 257, n. 5, p. 478-480, 2005.

ORHURHU, V. J.; PITTELKOW, T. P.; HOOTEN, W. M. Prevalence of smoking in adults with chronic pain. **Tobacco induced diseases**, v. 13, n. 1, p. 1-6, 2015.



PANI, L.; GESSA, G. L. The substituted benzamides and their clinical potential on dysthymia and on the negative symptoms of schizophrenia. **Molecular psychiatry**, v. 7, n. 3, p. 247-253, 2002.

PASCO, J. A. et al. Dietary selenium and major depression: a nested case-control study. **Complementary therapies in medicine**, v. 20, n. 3, p. 119-123, 2012.

PENG, Y. B.; LIN, Q.; WILLIS, W. D. The role of 5-HT<sub>3</sub> receptors in periaqueductal gray-induced inhibition of nociceptive dorsal horn neurons in rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.276, n.1, p.116-24, 1996.

PEREIRA, R. J.; MUNECHIKA, M.; SAKATA, R. K. Pain management after outpatient surgical procedure. **Revista Dor**, v. 14, n. 1, p. 61-67, 2013.

PEREIRA, S.S.; LOPES, L.S.; MARQUES, S.B. Antinociceptive effect of *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. (Rutaceae) in models of acute pain in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v.129, p.227-231, 2010.

PERRAULT, G. H. et al. Psychopharmacological profile of amisulpride: an antipsychotic drug with presynaptic D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> dopamine receptor antagonist activity and limbic selectivity. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 280, n. 1, p. 73-82, 1997.

PESCHANSKI, M.; MANTYH, P. W.; BESSON, J. M. Spinal afferents to the ventrobasal thalamic complex in the rat: an anatomical study using wheat-germ agglutinin conjugated to horseradish peroxidase. **Brain research**, v. 278, n. 1-2, p. 240-244, 1983.

PETERSON, P. K.; MOLITOR, T. W.; CHAO, C. C. The opioid–cytokine connection. **Journal of neuroimmunology**, v. 83, n. 1-2, p. 63-69, 1998.

PETRAGLIA, F. et al. Opioid control of LH secretion in humans: menstrual cycle, menopause and aging reduce effect of naloxone but not of morphine. **Life sciences**, v. 38, n. 23, p. 2103-2110, 1986.

PINI, L. A.; SANDRINI, M.; VITALE, G. 'The antinociceptive action of paracetamol is

associated with changes in the serotonergic system in the rat brain'. **European journal of pharmacology**, v.308, p.31-40, 1996.

PINZ, M. et al. 4-phenylselenyl-7 chloroquinoline, a new quinoline derivative containing selenium, has potential antinociceptive and anti-inflammatory actions. **European journal of pharmacology**, v. 780, p. 122–128, 2016.

POSSER T. et al. Diphenyl diselenide confers neuroprotection against hydrogen peroxide toxicity in hippocampal slices. **Brain Research**, v. 1199, p. 138–147, 2008.

POUNTOS, I. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: prostaglandins, indications, and side effects. **International Journal of Interferon, Cytokine and Mediator Research**, v. 3, p. 19, 2011.

PRIGOL M.; BRUNING C. A.; ZENI G.; NOGUEIRA C. W. Protective effect of disubstituted diaryl diselenides on cerebral oxidative damage caused by sodium nitroprusside. **Biochemical Engineering Journal**, v. 45, p. 94–99, 2009.

RAMSAY, R. G. et al. Transcriptional regulation of cyclo-oxygenase expression: three pillars of control. **International journal of immunopathology and pharmacology**, v. 16, n. 2, p. 59-67, 2003.

RANDALL, L. O. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissues. **Arch Int Pharmacodyn**, v. 111, p. 409-419, 1957.

REYNOLDS, D. V. Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation. **Science**, v. 164, n. 3878, p. 444-445, 1969.

RIBEIRO, A. Q.; SEVALHO, G.; CÉSAR, C. C. Prevalência e fatores associados ao uso de antiinflamatórios não-esteróides por pacientes submetidos a endoscopia digestiva alta, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2000. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 8, n. 3, p. 306-315, 2005.

RICHARDSON, D. E.; AKIL, H. Long term results of periventricular gray self-stimulation. **Neurosurgery**, v. 1, n. 2, p. 199-202, 1977.

RIDDERIKHOF, M. L. et al. The PanAM study: a multi-center, double-blinded, randomized, non-inferiority study of paracetamol versus non-steroidal anti-inflammatory drugs in treating acute musculoskeletal trauma. **BMC Emergency Medicine**, v. 13, n. 1, p. 1-9, 2013.

RIVERA, E. A. B. Analgesia em animais de experimentação. **Animais de laboratório: criação e experimentação**, p. 247, 2006.

ROBLES, L. I. et al. M. Effects of K<sup>+</sup> channel blockers and openers on antinociception induced by agonists of 5-HT<sub>1A</sub> receptors. **European journal of pharmacology**, v.81- 8, 1996.

ROCHA-GONZALEZ H. I et al. Pronociceptive role of peripheral and spinal 5-HT<sub>7</sub> receptors in the formalin test. **Pain**, v. 117, p. 182–192, 2005.

ROLLIN, B. E. The experimental animal in biomedical research: care, husbandry, and well-being-an overview by species. 1995.

ROSA R. M. et al. Facilitation of long-term object recognition memory by pretraining administration of diphenyl diselenide in mice. **Neuroscience Letters**, v. 341, p. 217–220, 2003.

ROSA S. G. et al. Opioid system contribution to the antidepressant-like action of m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide in mice: a compound devoid of tolerance and withdrawal syndrome. **Journal of Psychopharmacology**, v. 31, p. 1250-1262, 2017.

ROSA, S. G. et al. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of 2,2'-dipyridyl diselenide through reduction of inducible nitric oxide synthase, nuclear factor-kappa B and c-Jun N-terminal kinase phosphorylation levels in the mouse spinal cord. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 48, p. 38–45, 2018.

ROTRUCK, J. T. Discovery of the role of selenium in glutathione peroxidase. **Selenium in biology and medicine**, p. 10-16, 1981.

RUAN, X. Drug-related side effects of long-term intrathecal morphine therapy. **Pain**

**Physician**, v. 10, n. 2, p. 357, 2007.

SALGARELLO, M.; VISCONTI, G.; BARONE-ADESI, L. Interlocking circumareolar suture with undyed polyamide thread: a personal experience. **Aesthetic plastic surgery**, v. 37, n. 5, p. 1061-1062, 2013.

SANDOVAL, A. C. et al. O uso indiscriminado dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINES). **Revista Científica Da Faculdade De Educação E Meio Ambiente**, v.8(2), p.165–176. 2017.

SARI, M. H. M. et al. p,p'-Methoxyl-diphenyl diselenide incorporation into polymeric nanocapsules improves its antinociceptive action: physicochemical and behavioral studies. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 157, p. 464–472, 2017.

SAUER, A. C. et al. Synthesis and antioxidant properties of organosulfur and organoselenium compounds derived from 5-substituted-1, 3, 4-oxadiazole/thiadiazole- 2-thiols. **Tetrahedron letters**, v. 58, n. 1, p. 87-91, 2017.

SAUL, C. et al. Redução da prevalência de úlcera duodenal: um estudo brasileiro (análise retrospectiva na última década: 1996-2005). **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 44, p. 320-324, 2007.

SAVEGNAGO L. et al. Antinociceptive properties of diphenyl diselenide: evidences for the mechanism of action. **European Journal Pharmacology**, v. 555, p. 129–138, 2007.

SAVEGNAGO, L. et al. Diphenyl diselenide exerts antidepressant-like and anxiolytic-like effects in mice: involvement of l-arginine-nitric oxide-soluble guanylate cyclase pathway in its antidepressant-like action. **Pharmacology Biochemical Behaviour**, v. 88, p. 418–426, 2008.

SCHEIMAN, J. M.; HINDLEY, C. E. Strategies to optimize treatment with NSAIDs in patients at risk for gastrointestinal and cardiovascular adverse events. **Clinical therapeutics**, v. 32, n. 4, p. 667-677, 2010.

SCHWARZ, K.; FOLTZ, C. M. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary

necrotic liver degeneration. **Journal of the American Chemical Society**, v. 79, n. 12, p. 3292-3293, 1957.

SCOTT, A. J. The longevity society. **The Lancet Healthy Longevity**, v. 2, n. 12, p. e820-e827, 2021.

SEYREK, M. et al. Systemic cannabinoids produce CB1- mediated antinociception by activation of descending serotonergic pathways that act upon spinal 5-HT(7) and 5-HT(2A) receptors. **European journal of pharmacology**, v. 649, p.183-94, 2010.

SHAMBERGER, R. J. Synthetic forms of selenium and their chemotherapeutic uses. In: **Biochemistry of selenium**. Springer, Boston, MA. p. 273-310.1983.

SILVA, M. A. S. et al. Pain assessment and training: the impact on pain control after cardiac surgery. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 47, n. 1, p. 84-92, 2013.

SILVA, V. D. G. et al. Further analysis of acute antinociceptive and antiinflammatory actions of 4-phenylselenyl-7-chloroquinoline in mice. **Fundamental and Clinical Pharmacology**, v. 31, p. 513-525, 2017.

SINDRUP, S. H. et al. The selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine is effective in the treatment of diabetic neuropathy symptoms. **Pain**, v. 42, n. 2, p. 135-144, 1990.

SLATKIN, N.; RHINER, M. Treatment of opioid-induced delirium with acetylcholinesterase inhibitors: a case report. **Journal of pain and symptom management**, v. 27, n. 3, p. 268-273, 2004.

SOMMER, C. Is serotonin hyperalgesic or analgesic?. **Current Pain and Headache Reports**, v. 10, p. 101–106, 2006.

SOMMER, C. Serotonin in pain and analgesia. **Molecular neurobiology**, v. 30, n. 2, p. 117-125, 2004.

SOMVANSI, R. K. et al. Surface plasmon resonance studies and biochemical evaluation of a potent peptide inhibitor against cyclooxygenase-2 as an anti-

inflammatory agent. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 361, n. 1, p. 37-42, 2007.

SOUSA, F. S. S. et al. Lipopolysaccharide-induced depressive-like, anxiogenic-like and hyperalgesic behavior is attenuated by acute administration of  $\alpha$ -(phenylselanyl) acetophenone in mice. **Neuropharmacology**, v. 146, p. 128-137, 2019.

SOUSA, F. S. S. et al.  $\alpha$ -(phenylselanyl) acetophenone abolishes acute restraint stress induced-comorbid pain, depression and anxiety-related behaviors in mice. **Neurochemistry International**, v. 120, p. 112-120, 2018.

STANGHERLIN E. C. et al. Subchronical exposure to diphenyl diselenide enhances acquisition and retention of spatial memory in rats. **Brain Research**, v. 1201, p. 106– 113, 2008.

STEEDS, C.E. The anatomy and physiology of pain. **Surgery**, v.31. n. 2, p. 49-53, 2013.

STEIN, C.; MILLAN, M. J.; HERZ, A. Unilateral inflammation of the hindpaw in rats as a model of prolonged noxious stimulation: alterations in behavior and nociceptive thresholds. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 31, n. 2, p. 445-451, 1988.

Substance Abuse and Mental Health Services Administration. **Results from the 2005 National Survey on Drug Use and Health: National Findings**. Office of Applied Studies, NSDUH Series H-30, DHHS Publication No. SMA 06- 4194, 2006.

SUFKA K. J.; SCHOMBURG F. M.; GIORDANO J. Receptor mediation of 5-HTinduced inflammation and nociception in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 41, p. 53–56, 1992.

SWEGLE, J. M.; LOGEMANN, C. D. Management of common opioid-induced adverse effects. **American family physician**, v. 74, n. 8, p. 1347-1354, 2006.

TABER, R. I.; LATRANYI, M. B. Antagonism of the analgesic effect of opioid and non-opioid agents by p-chlorophenylalanine (PCPA). **European Journal of**

**Pharmacology**, v.75, n.4, p.215-222, 1981.

TAIWO Y. O.; LEVINE J. D. Serotonin is a directly-acting hyperalgesic agent in the rat. **Neuroscience**, v. 48, p. 485–490, 1992.

TANIURA, S. et al. Transcriptional regulation of cyclooxygenase-1 by histone deacetylase inhibitors in normal human astrocyte cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 19, p. 16823-16830, 2002.

TEIXEIRA, M. J. Fisiopatologia da nocicepção e da supressão da dor. JBA, v. 1, n. 4, p. 329-334, 2001.

TERMAN, G. W.; BONICA, J. J. Spinal mechanisms and their modulation. **Bonica's management of pain**, v. 3, p. 73-152, 2001.

THOMAS, E. et al. The prevalence of pain and pain interference in a general population of older adults: cross-sectional findings from the North Staffordshire Osteoarthritis Project (NorStOP). **Pain**, v. 110, n. 1-2, p. 361-368, 2004.

TOPPER, J. N. et al. Identification of vascular endothelial genes differentially responsive to fluid mechanical stimuli: cyclooxygenase-2, manganese superoxide dismutase, and endothelial cell nitric oxide synthase are selectively up-regulated by steady laminar shear stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, n. 19, p. 10417-10422, 1996.

TRESCOT, A. M. et al. Opioid guidelines in the management of chronic non-cancer pain. **Pain physician**, v. 9, n. 1, p. 1, 2006.

TSOU, K.; JANG C. S. Studies on the site of analgesic action of morphine by intracerebral micro-injection. **Survey of Anesthesiology**, v. 9, n. 6, p. 570, 1965.

URSINI, F.; BINDOLI, A. The role of selenium peroxidases in the protection against oxidative damage of membranes. **Chemistry and physics of lipids**, v. 44, n. 2-4, p. 255-276, 1987.

VALENTE, O.; ATALLAH, A. N.; SUSTOVICH, D. R. Efeitos metabólicos e manuseio

clínico dos corticosteróides. **Atualização terapêutica: manual prático de diagnóstico e tratamento**. Prado FC, et al. 20<sup>a</sup> ed. São Paulo: Artes Médicas, p. 1521-1523, 2001.

VANE, J. R.; BOTTING, R. M. Mechanism of action of anti-inflammatory drugs. **Scandinavian Journal of Rheumatology**, v. 25, n. sup102, p. 9-21, 1996.

VANE, J. R.; BOTTING, R. M. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **The American journal of medicine**, v. 104, n. 3S1, p. 2S-8S, 1998.

VEINANTE, P.; YALCIN, I.; BARROT, M. The amygdala between sensation and affect: a role in pain. **Journal of Molecular Psychiatry**, v. 1, n. 1, p. 1-14, 2013.

VOGEL, C. et al. Absence of thermal hyperalgesia in serotonin transporter-deficient mice. **Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 2, p. 708–715, 2003.

VOS, T. et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **The Lancet**, v. 390, n. 10100, p. 1211-1259, 2017.

VOSCOPOULOS, C.; LEMA, M. When does acute pain become chronic?. **British Journal of Anaesthesia**, v. 105, n. 1, p. 69-85, 2010.

WALKER, C.; BIASUCCI, L. M. Cardiovascular safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs revisited. **Postgraduate medicine**, v. 130, n. 1, p. 55-71, 2018.

WALSH, R.N., CUMMINS, R.A. 1976. The open-field test: a critical review. **Psychological Bulletin**, v. 83, p. 482, 1976.

WANG, X.; MICHAELIS, E. K. Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain. **Frontiers in aging neuroscience**, v. 2, p. 12, 2010.

WESTERMARCK, T.; SANTAVUORI, P. Principles of antioxidant therapy in neuronal ceroid lipofuscinosis. **Medical biology**, v. 62, n. 2, p. 148-151, 1984.

WESTLUND, K.N. The dorsal and hyperalgesia. In: AMINOFF, M.J; BOLLER, F.; SWAAB, D.F. **Pain**. Elsevier: Amsterdam, p. 117, 2016.



WHELTON A. Nephrotoxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: physiologic foundations and clinical implications. **The American journal of medicine**, v. 106, n. 5, p. 13S-24S, 1999.

WOOLF, C. J. What is this thing called pain?. **The Journal of clinical investigation**, v. 120, n. 11, p. 3742-3744, 2010.

WOOLFE, G.; MACDONALD, A. D. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol). **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 80, n. 3, p. 300-307, 1944.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Model Formulary**. Geneva, 2008.

XU, Y. et al. 2016. The antinociceptive effects of ferulic acid on neuropathic pain: involvement of descending monoaminergic system and opioid receptors. **Oncotarget**, v.7 (15), p.20455–20468, 2016.

XUE, Y. et al. Down-regulation of Spinal 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> Receptors Contributes to Somatic Hyperalgesia induced by Orofacial Inflammation Combined with Stress. **Neuroscience**, v.440, p.196–209, 2020.

YAKSH T. L.; RUDY T. A. Studies on the direct spinal action of narcotics in the production of analgesia in the rat. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 202, p.411–428, 1977.

YAQUB, S. et al. Regulatory T cells in colorectal cancer patients suppress anti-tumor immune activity in a COX-2 dependent manner. **Cancer immunology, immunotherapy**, v. 57, n. 6, p. 813-821, 2008.

YEUNG, J. C.; YAKSH, T. L.; RUDY, T. A. Concurrent mapping of brain sites for sensitivity to the direct application of morphine and focal electrical stimulation in the production of antinociception in the rat. **Pain**, v. 4, p. 23-40, 1977.

YOUNG, R. F.; BRECHNER, T. Electrical stimulation of the brain for relief of intractable pain due to cancer. **Cancer**, v. 57, n. 6, p. 1266-1272, 1986.

ZASSO, F. B. et al. On the mechanisms involved in antinociception induced by diphenyl diselenide. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 19, n. 2, p. 283-289, 2005.

ZHANG, R.; REN, K. Animal models of inflammatory pain. In: **Animal models of pain**. Humana Press, Totowa, NJ, 2011. p. 23-40.

ZIMMERMANN M. Behavioural investigations of pain in animals. In: DUNCAN I. J. H.; MOLONY V. **Assessing pain in farm animals: proceedings of a workshop held in Roslin, Scotland, 25 and 26 October 1984**. p. 16-29.

## **ANEXOS**

## ANEXO I



Pelotas, 05 de outubro de 2017

### Certificado

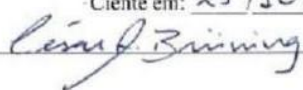
Certificamos que a proposta intitulada “**Avaliação do potencial farmacológico de benzamidas selenopropargílicas em modelos de dor e depressão em camundongos**” processo número 23110.004903/2017-74, de responsabilidade de **César Augusto Bruning** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua complementação pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de 02/10/2017.

| Finalidade              | ( X ) Pesquisa ( ) Ensino  |
|-------------------------|----------------------------|
| Vigência da autorização | 05/10/2017 a 15/09/2020    |
| Espécie/linhagem/raça   | <i>Mus musculus</i> /Swiss |
| Nº de animais           | 656                        |
| Idade                   | 60 dias                    |
| Sexo                    | 650 machos e 6 fêmeas      |
| Origem                  | Biotério Central - UFPel   |

**Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.**

Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao **COBALTO** para posterior registro no **COCEPE** (código para cadastro nº **CEEA 4903-2017**).

  
\_\_\_\_\_  
**M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix**  
Presidente da CEEA

Assinatura do Professor Responsável:  Ciente em: 25/10/2017

## ANEXO II



### Antinociceptive effect of N-(3-(phenylselanyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide in mice: Involvement of 5-HT1A and 5-HT2A/2C receptors

**Author:**

Kauane Nayara Bahr Ledebuhr, Gustavo D'Avila Nunes, Evelyn Mianes Besckow, Maira Regina Giehl, Benhur Godoi, Cristiani Folharini Bortolatto, César Augusto Brüning

**Publication:** Chemico-Biological Interactions

**Publisher:** Elsevier

**Date:** 25 May 2022

© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.

#### Journal Author Rights

Please note that, as the author of this Elsevier article, you retain the right to include it in a thesis or dissertation, provided it is not published commercially. Permission is not required, but please ensure that you reference the journal as the original source. For more information on this and on your other retained rights, please visit: <https://www.elsevier.com/about/our-business/policies/copyright#Author-rights>