

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos**  
**Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção**



**Dissertação**

**Efeito tipo antidepressivo da benzamida *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB) em camundongos: implicações no sistema dopaminérgico.**

**Evelyn Mianes Besckow**

**Pelotas, 2024**

**Evelyn Mianes Besckow**

**Efeito tipo antidepressivo da benzamida *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB) em camundongos: implicações no sistema dopaminérgico.**

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Bioquímica e Bioprospecção).

Orientador: Prof. Dr. César Augusto Brüning  
Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiani Folharini Bortolatto.

Pelotas, 2024  
Evelyn Mianes Besckow

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação da Publicação

B554e Besckow, Evelyn Mianes

Efeito tipo antidepressivo da benzamida *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB) em camundongos [recurso eletrônico] : implicações no sistema dopaminérgico / Evelyn Mianes Besckow ; César Augusto Brüning, orientador ; Cristiani Folharini Bortolatto., coorientadora. — Pelotas, 2024.

98 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2024.

1. Depressão. 2. SePB. 3. Selênio. 4. Sistema dopaminérgico. 5. Benzamida. I. Brüning, César Augusto, orient. II. Bortolatto., Cristiani Folharini, coorient. III. Título.

CDD 616.8528

Elaborada por Ubirajara Buddin Cruz CRB: 10/901

Efeito tipo antidepressivo da benzamida *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB) em camundongos: implicações no sistema dopaminérgico.

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

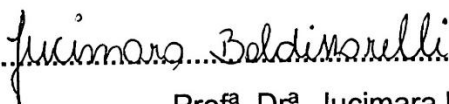
Data de defesa: 05 de março de 2024.

Banca examinadora:

.....  

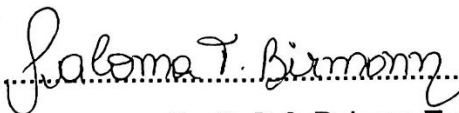

Prof. Dr. César Augusto Brüning (Orientador)

Doutor em Ciências Biológicas (Bioquímica Toxicológica) pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

.....  


Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jucimara Baldissarelli

Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica Toxicológica) pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

.....  


Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Paloma Taborda Birmann

Doutora em Ciências: Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

## **Agradecimentos**

Agradeço ao meu namorado William, por todo o apoio e incentivo, sua presença tem sido fundamentais em minha jornada. Em cada desafio enfrentado, você esteve ao meu lado, oferecendo seu suporte e compartilhando alegrias e conquistas. Sua presença ajudou a superar os momentos difíceis e é sempre muito bom celebrar e compartilhar os momentos bons com você. Agradeço por ser não apenas meu namorado, mas também meu companheiro de vida.

Agradeço à minha mãe, Alessandra, por seu constante incentivo, por sempre acreditar em mim e por ser uma presença amorosa e constante em minha vida. Suas orientações e apoio foram fundamentais em minha trajetória, contribuindo para as minhas conquistas. Sou imensamente grata por ter uma mãe tão incrível e dedicada ao meu lado.

Agradeço à minha tia Silene, cuja presença constante em minha vida sempre foi uma fonte de inspiração. Sua dedicação e apoio significaram muito para mim, e sou grata por ter uma tia tão especial e presente ao meu lado.

Agradeço ao César, por abrir as portas do LABIONEM para mim e por me incentivar e confiar no meu potencial. A parceria que construímos, que inclui alguns puxões de orelha e muitos aprendizados, foi fundamental para o meu desenvolvimento pessoal e profissional. Admiro imensamente o pesquisador e a pessoa inspiradora que ele é. Trabalhar ao seu lado foi transformador, tornando-me uma pessoa e uma profissional melhor. Obrigado por tudo!

Agradeço à Cris por ser um exemplo inspirador de mulher na ciência. Sua dedicação é fontes de motivação para nós, cientistas mais jovens. Obrigado por ser um exemplo notável no mundo científico!

Agradeço aos meus colegas de laboratório pela colaboração e parceria. Trabalhar com uma equipe tão dedicada tem sido uma experiência enriquecedora. Cada um de vocês contribuiu de maneira única para este trabalho. Em especial agradeço a Tais, por toda a amizade e apoio ao longo dos anos. Obrigada por me apoiar nos momentos que eu mais precisei, admiro muito a cientista, mãe e amiga que ela é.

Agradeço à Juci e a Paloma pela disponibilidade em avaliar este trabalho e contribuir para melhorar este estudo.

Agradeço a UFPel e ao PPGBBio por tornar este trabalho possível.

Agradeço ao Biotério Central da UFPel pelo fornecimento dos animais e pelos cuidados dedicados a eles.

Agradeço a CAPES pelo financiamento.

*A arte de viver é simplesmente a arte de conviver...*  
*simplesmente, disse eu?*  
*Mas como é difícil!*  
*(Mário Quintana)*

## Resumo

Besckow, Evelyn Mianes. **Efeito tipo antidepressivo da benzamida *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB) em camundongos: implicações no sistema dopaminérgico.** Orientador: César Augusto Brüning. 2024. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção – Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2024.

Devido à sua complexidade e heterogeneidade, os transtornos depressivos (TDs) apresentam desafios significativos aos tratamentos convencionais, destacando a necessidade de inovações terapêuticas na área. A *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica tem sido objeto de estudos pré-clínicos devido ao seu efeito tipo antidepressivo, o qual foi demonstrado em camundongos. Embora a influência serotoninérgica neste efeito já tenha sido demonstrada, outros sistemas de transmissão associados aos TDs, como o dopaminérgico e o noradrenérgico, ainda não foram investigados. Este estudo buscou aprofundar a compreensão do mecanismo subjacente ao efeito tipo antidepressivo da SePB, utilizando o teste da suspensão pela cauda (TSC) para investigar a participação dos sistemas dopaminérgico e noradrenérgico. Adicionalmente, procedeu-se à avaliação do perfil farmacocinético *in silico* da SePB. A administração de antagonistas dopaminérgicos (sulpirida 50 mg/kg, intraperitoneal, um antagonista seletivo dos receptores D<sub>2/3</sub>; SCH23390 0,01 mg/kg, subcutânea, um antagonista dos receptores D<sub>1</sub>; e haloperidol 0,05 mg/kg, i.p., um antagonista não seletivo de receptores de dopamina) antes da administração de SePB (10 mg/kg, intragástrica) impediu o efeito anti-imobilidade demonstrado pela SePB no TSC, evidenciando o envolvimento desses receptores no efeito tipo antidepressivo da SePB. Já a pré-administração de antagonistas noradrenérgicos (prazosina 1 mg/kg, i.p., um antagonista  $\alpha_1$ -adrenérgico; yohimbina 1 mg/kg, i.p., um antagonista  $\alpha_2$ -adrenérgico; e propranolol 2 mg/kg, i.p., um antagonista  $\beta$ -adrenérgico) e SePB (10 mg/kg) não bloqueou o efeito tipo antidepressivo observado no TSC, sugerindo que os receptores noradrenérgicos não contribuem para a ação terapêutica demonstrada pela SePB. A coadministração de SePB e bupropiona (um inibidor de recaptção de noradrenalina/dopamina) em doses subefetivas (0,1 e 3 mg/kg, respectivamente) produziu efeitos tipo antidepressivos, corroborando com os resultados anteriores e demonstrando que o sistema dopaminérgico parece estar implicado no efeito tipo antidepressivo da SePB. O perfil farmacocinético da SePB demonstrou boa biodisponibilidade oral e baixa toxicidade, sugerindo sua viabilidade como candidato a possível fármaco. Esses resultados sugerem que o mecanismo de ação da SePB, um novo composto com efeito tipo antidepressivo, está relacionado à modulação do sistema dopaminérgico e pode representar uma nova alternativa farmacológica a ser explorada nos TDs.

Palavras-chave: depressão; selênio; benzamida; SePB; sistema dopaminérgico.



## Abstract

Besckow, Evelyn Mianes. **Antidepressant-like effect of N-(3-(phenylselenyl)prop-2-in-1-yl) benzamide (SePB) in mice: implications on the dopaminergic system.** Advisor: César Augusto Brüning. 2024. 95f. Dissertation (Master of Science) - *Biochemistry and Bioprospecting Postgraduate Program* - Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2024.

Owing to their complexity and heterogeneity, depressive disorders present significant challenges to conventional treatments, highlighting the need for therapeutic innovations in this area. N-(3-(phenylselenyl)prop-2-in-1-yl) (SePB) has been the subject of preclinical studies owing to its antidepressant-like effects, as demonstrated in mice. Although the serotonergic influence on this effect has already been demonstrated, other transmission systems associated with DDs, such as the dopaminergic and the noradrenergic systems, have not yet been investigated. This study sought to deepen the understanding of the mechanism underlying the antidepressant-like effect of SePB using the tail suspension test (TSC) to investigate the involvement of the dopaminergic and noradrenergic systems. Additionally, the *in silico* pharmacokinetic profile of SePB was evaluated. Administration of dopaminergic antagonists (sulpiride 50 mg/kg, intraperitoneal injection, a selective D<sub>2/3</sub> receptor antagonist; SCH23390 0.01 mg/kg, subcutaneous route, a D<sub>1</sub> receptor antagonist; and haloperidol 0.05 mg/kg/kg, intraperitoneal injection, a non-selective dopamine receptor antagonist) before the administration of SePB (10 mg/kg, intragastric) prevented the anti-immobility effect demonstrated by SePB in the TSC, highlighting the involvement of these receptors in the antidepressant-like effect of SePB. Meanwhile, pre-administration of noradrenergic antagonists (prazosin 1 mg/kg, i.p., an  $\alpha_1$ -adrenergic antagonist; yohimbine 1 mg/kg, i.p., an  $\alpha_2$ -adrenergic antagonist; and propranolol 2 mg/kg, i.p., a  $\beta$ -adrenergic antagonist) and SePB (10 mg/kg) did not block the antidepressant-like effect observed in TSC, suggesting that noradrenergic receptors do not contribute to the therapeutic action demonstrated by SePB. Co-administration of SePB and bupropion (a norepinephrine/dopamine reuptake inhibitor) at ineffective doses (0.1 and 3 mg/kg, respectively) produced antidepressant-like effects, corroborating previous results and demonstrating that the dopaminergic system appears to be implicated in the antidepressant-like effect of SePB. The pharmacokinetic profile of SePB demonstrated good oral bioavailability and low toxicity, suggesting its viability as a potential drug candidate. These results suggest that the mechanism of action of SePB, a novel compound with antidepressant-like effects, is related to modulation of the dopaminergic system and may represent a new pharmacological alternative to be explored in DDs.

Keywords: depression; selenium; benzamide; SePB; dopaminergic system.

## Lista de Figuras

Figura 1 - Representação esquemática do circuito de recompensa área tegmental ventral – núcleo accumbens em cérebro de camundongo .....	22
Figura 2 - Metabolismo da DA em neurônios dopaminérgicos. ....	26
Figura 3 - Representação das respostas comportamentais de camundongos no TNF: A) comportamento de imobilidade; B) comportamento de mobilidade/natação. ....	35
Figura 4 - Representação das respostas comportamentais de camundongos no TSC: A) comportamento de imobilidade; B) comportamento de mobilidade. ....	36
Figura 5 - Representação esquemática do TCA. ....	37
Figura 6 - Estrutura química do núcleo benzamida. ....	39
Figura 7 – Estrutura química da benzamida N-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB). ....	40

### **Lista de abreviaturas e siglas**

5-HT	5-Hidroxitriptamina (Serotonina)
CID -11	Classificação Internacional de doenças, 11ª edição
DA	Dopamina
DOPA	Dihidroxifenilalanina
DSM-5	Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais, 5ª edição
GC	Glicocorticoides
HHA	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
ISRSNs	Inibidores seletivos da recaptação de noradrenalina e serotonina
ISRSs	Inibidores seletivos da recaptação de serotonina
MSNs	Neurônios espinhosos médios
NA	Noradrenalina
NMDA	N-Metil-D-Aspartato
SNc	Sistema nervoso central
TDM	Transtorno Depressivo Maior
TDs	Transtornos Depressivos
TH	Tirosina hidroxilase
TNF	Teste do nado forçado
TSC	Teste da suspensão pela cauda

## Sumário

1	Introdução .....	13
2	Objetivos .....	16
2.1	Objetivo geral .....	16
2.2	Objetivos específicos .....	16
3	Revisão bibliográfica .....	17
3.1	Transtornos depressivos .....	17
3.2	O sintoma de anedonia nos TDs .....	21
3.3	O sistema dopaminérgico como perspectiva terapêutica para os TDs.....	25
3.4	O sistema noradrenérgico como perspectiva terapêutica para os TDs .....	30
3.5	Explorando a utilização de animais na Investigação dos TDs.....	33
3.6	Explorando o Potencial Terapêutico dos compostos orgânicos contendo selênio e do núcleo benzamida nos TDs .....	37
4	Manuscrito.....	42
5	Discussão.....	80
6	Conclusão .....	85
7	Perspectivas.....	86
	Referências .....	87
	ANEXOS .....	97
	ANEXO A - Carta de aprovação no Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) .....	98

## 1 Introdução

A significativa prevalência global dos transtornos depressivos (TDs), que afetam aproximadamente 280 milhões de pessoas em todo o mundo (constituindo 3,8% da população), destaca a necessidade de uma compreensão aprofundada desses transtornos (WHO, 2019). A complexidade dessas condições, marcada por uma diversidade de sintomas, sugere a presença de várias explicações para sua fisiopatologia (Athira; Bandopadhyay; Samudrala; Naidu *et al.*, 2020).

A compreensão da origem da depressão evoluiu conceitualmente ao longo das décadas, transitando desde a visão inicial, associada a um estado de baixo ânimo, até teorias mais contemporâneas que incorporam alterações bioquímicas, fisiológicas e ambientais (Billings; Cronkite; Moos, 1983; Rousseau, 2000). Dentre as teorias fisiopatológicas dos TDs destaca-se a hipótese monoaminérgica, a qual desempenhou um papel central ao fundamentar os tratamentos farmacológicos atuais. No entanto, embora a deficiência de monoaminas seja relevante, não parece ser a única causa dos TDs (Coppin, 1967; Li; Frye; Shelton, 2012). O estresse emerge como um fator significativo, impactando o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) (Leistner; Menke, 2020). Adicionalmente, a diminuição do fator neurotrófico derivado do cérebro, o qual regula a plasticidade neuronal (Nunes; Nascimento; Kim; Andreazza *et al.*, 2018); a hiperativação do sistema imunológico (Rhie; Jung; Shim, 2020); e a disfunção na via mesolímbica dopaminérgica associada à recompensa (Cox; Witten, 2019) surgem como outras teorias relevantes.

O sistema de recompensa desempenha um papel importante no controle motivacional, e sua disfunção está relacionada ao sintoma de anedonia, que se caracteriza pela incapacidade de experimentar prazer em atividades normalmente gratificantes, sendo prevalente nos TDs (WHO, 2021). A anedonia parece estar associada tanto à gravidade dos TDs quanto à resistência aos tratamentos antidepressivos convencionais (Belujon; Grace, 2017; Zimmerman; Balling; Chelminski; Dalrymple, 2018). Diante dessa condição, têm sido exploradas estratégias terapêuticas que se concentram na modulação do sistema dopaminérgico, considerando o papel central desse neurotransmissor no processamento de recompensas (Zhao; Cheng; Piao; Cui *et al.*, 2022).

De fato, a estimulação do receptor D<sub>1</sub> foi associada a efeitos tipo antidepressivos em animais. Além disso, a inibição do receptor D<sub>2</sub> parece aumentar a

transmissão dopaminérgica, melhorando sintomas depressivos (Admon; Kaiser; Dillon; Beltzer *et al.*, 2017; Desormeaux; Demars; Davenas; Jay *et al.*, 2020). Também há indícios da relevância dos receptores D<sub>3</sub> e D<sub>4</sub> na fisiopatologia dos TDs (Hui; Du; Xu; Zhang *et al.*, 2020; Leggio; Salomone; Bucolo; Platania *et al.*, 2013). Estes receptores parecem representar opções promissoras para inovações terapêuticas nos TDs.

A regulação do sistema noradrenérgico também emerge como uma perspectiva promissora no tratamento dos TDs, conforme evidenciado por estudos pré-clínicos que revelam efeito tipo antidepressivos em animais (Du; Yin; Yuan; Zhang *et al.*, 2020; Li; Feng; Zhou; Zhang *et al.*, 2018). Além disso, a modulação desse sistema pode trazer vantagens significativas no manejo dos sintomas somáticos associados aos TDs, como a dor neuropática (Bravo; Llorca-Torralba; Berrocoso; Mico, 2019; Liu; Zhao; Fan; Guo, 2019). Assim, torna-se interessante explorar o potencial terapêutico do sistema noradrenérgico para desenvolver novas abordagens clínicas relacionadas aos TDs.

A inclusão de animais em pesquisas farmacêuticas desempenha um papel importante no progresso científico (Garattini; Grignaschi, 2017). Ratos e camundongos, devido às suas semelhanças genéticas e fisiológicas com os humanos, são escolhas comuns como modelos animais (Gibbs; Weinstock; Metzker; Muzny *et al.*, 2004; Mouse Genome Sequencing; Waterston; Lindblad-Toh; Birney *et al.*, 2002). Apesar dos desafios na replicação de estados emocionais, a utilização de animais no estudo dos TDs permite investigar aspectos comportamentais, neuroquímicos e moleculares relacionados à depressão. Isso não apenas proporciona uma compreensão mais abrangente da doença, como também possibilita o desenvolvimento e estudo de novas terapias farmacológicas (Wang; Timberlake; Prall; Dwivedi, 2017).

Os compostos orgânicos de selênio têm sido alvo de estudos relacionados à depressão, buscando compreender tanto seu potencial terapêutico quanto os mecanismos subjacentes (Da Rocha; Pires; Presa; Besckow *et al.*, 2023; Da Silva Teixeira Rech; Goncalves Alves; Nornberg Strelow; Devantier Kruger *et al.*, 2021; Papp; Gruca; Lason; Niemczyk *et al.*, 2019; Posser; Kaster; Barauna; Rocha *et al.*, 2009). Dentre esses compostos, destaca-se a benzamida *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB), evidenciando efeito tipo antidepressivo em ensaios pré-clínicos com

camundongos (Besckow; Nonemacher; Garcia; Da Silva Espindola *et al.*, 2020b; Besckow; Pires; Giehl; Godoi *et al.*, 2023). Apesar de seu efeito estar associado ao sistema serotoninérgico, ainda não foram exploradas interações com outros sistemas de transmissão (Besckow; Nonemacher; Garcia; Da Silva Espindola *et al.*, 2020b). Considerando que alguns compostos de selênio interagem com o sistema dopaminérgico (Da Silva Teixeira Rech; Goncalves Alves; Nornberg Strelow; Devantier Kruger *et al.*, 2021; Sampaio; Bilheri; Zeni; Nogueira, 2020), a SePB, além de modular o sistema serotoninérgico, pode apresentar ação no sistema dopaminérgico, podendo ser um candidato inovador a um novo fármaco que preencha as lacunas terapêuticas dos antidepressivos atuais.

## **2 Objetivos**

### **2.1 Objetivo geral**

O objetivo deste estudo foi avaliar a contribuição do sistema dopaminérgico e noradrenérgico na ação terapêutica demonstrada pela benzamida *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB) além de investigar parâmetros farmacocinéticos *in silico*.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Explorar a participação dos sistemas dopaminérgico e noradrenérgico na ação tipo antidepressiva da SePB em camundongos machos por meio da administração de antagonistas de receptores dopaminérgicos e noradrenérgicos;
- Investigar o efeito do tipo antidepressivo proveniente da interação entre doses subefetivas de SePB e bupropiona (um fármaco inibidor de recaptação de NA/DA);
- Prever e analisar parâmetros farmacocinéticos da SePB através de uma plataforma computacional.



### **3 Revisão bibliográfica**

#### **3.1 Transtornos depressivos**

De acordo com o *Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais*, 5ª edição (DSM-5), e a Classificação Internacional de Doenças, 11ª edição (CID-11), os Transtornos Depressivos (TDs) são categorizados para fins de diagnóstico (American Psychiatric Association, 2013; WHO, 2021). No DSM-5, elaborado pela Associação Psiquiátrica Americana, os TDs são divididos em: transtorno disruptivo da desregulação do humor; transtorno depressivo maior (TDM) (incluindo episódio depressivo maior); transtorno depressivo persistente (distímia); transtorno disfórico pré-menstrual; transtorno depressivo induzido por substância/medicamento; transtorno depressivo devido a outra condição médica; outro transtorno depressivo especificado e transtorno depressivo não especificado (American Psychiatric Association, 2013). Já no CID-11, redigido pela Organização Mundial da Saúde, os TDs são divididos em: transtorno depressivo de episódio único; transtorno depressivo recorrente; transtorno distímico; transtorno misto depressivo e de ansiedade; transtorno disfórico pré-menstrual; outros transtornos depressivos especificados e transtornos depressivos não especificados (WHO, 2021).

Apesar de ambos categorizarem os TDs para fins de diagnóstico, existem algumas diferenças entre tais classificações. O CID-11 e o DSM-5 apresentam abordagens distintas no diagnóstico de episódios depressivos. O CID-11 estabelece critérios mais específicos, exigindo a presença simultânea de pelo menos cinco de dez sintomas, como humor deprimido, perda de interesse ou prazer, e alterações no sono, por no mínimo duas semanas (WHO, 2021). Por outro lado, o DSM-5 requer a presença de cinco ou mais sintomas, incluindo humor deprimido ou perda de interesse ou prazer, durante a mesma quinzena (American Psychiatric Association, 2013).

Distinções também ocorrem em relação ao diagnóstico de depressão na presença de luto. O CID-11 orienta a fazer um diagnóstico de episódio depressivo apenas se os sintomas não forem melhor explicados pelo luto (WHO, 2021). Já o DSM-5 não exclui o diagnóstico de depressão na presença de luto (American Psychiatric Association, 2013). Além disso, o CID-11 possui uma categoria separada para transtorno distímico, caracterizado por humor deprimido persistente acompanhado de sintomas depressivos adicionais durante a maior parte do dia, na maioria dos dias, sem episódios depressivos completos durante os primeiros dois

anos (WHO, 2021). Em contraste, o DSM-5 combina transtorno distímico e transtorno depressivo maior crônico em uma única categoria, o transtorno depressivo persistente, dando prioridade ao tempo de duração dos sintomas sobre a gravidade dos sintomas (American Psychiatric Association, 2013).

A categorização dos TDs é crucial para proporcionar diagnósticos adequados, dada a sua expressiva prevalência. Aproximadamente 280 milhões de pessoas em todo o mundo são afetadas por TDs, correspondendo a 3,8% da população, englobando 5% dos adultos (4% entre os homens e 6% entre as mulheres) e 5,7% dos adultos com mais de 60 anos (WHO, 2019). Apesar de serem bastante prevalentes, ainda não compreendemos completamente como ocorrem os TDs. Para encontrar tratamentos mais eficazes, é fundamental aprofundar o estudo sobre a origem desses transtornos. Entretanto, devido à diversidade de sintomas, parece que há mais de uma explicação para a sua fisiopatologia (Athira; Bandopadhyay; Samudrala; Naidu *et al.*, 2020).

O termo "depressão" foi inicialmente associado ao estado de baixo ânimo por Samuel Johnson na década de 1750 (Rousseau, 2000). Ao longo dos anos, várias teorias com diferentes enfoques foram propostas, emergindo a visão da depressão como uma adaptação evolutiva a um ambiente social desfavorável, incorporando elementos ambientais, sociais e evolutivos. (Billings; Cronkite; Moos, 1983). A complexa interação entre fatores genéticos e ambientais na predisposição aos TDs foi estudada ao longo do tempo, sugerindo que os fatores hereditários representam uma contribuição menor para o risco de desenvolvimento de TDs, sendo a influência ambiental mais significativa (Machlitt-Northen; Keers; Munroe; Howard *et al.*, 2022). As interações gene-ambiente podem ter impactos significativos no cérebro, alterando estruturas como áreas límbicas e corticais, resultando em anormalidades funcionais associadas a alerta, comportamento, pensamentos, aprendizado e memória. Mecanismos epigenéticos, que envolvem mudanças na cromatina capazes de modificar a expressão gênica sem alterar a sequência do DNA, são considerados mediadores dessas interações (Penner-Goeke; Binder, 2019).

Paralelamente, as alterações bioquímicas e fisiológicas são extensivamente estudadas nos TDs, abrangendo modificações nos níveis e funções de neurotransmissores, neuromoduladores, fatores neurotróficos, componentes do eixo HHA e do sistema imunológico (Athira; Bandopadhyay; Samudrala; Naidu *et al.*, 2020).

Parece existir uma estreita relação entre os TDs e disfunções na excitabilidade neural e nos sistemas neurotransmissores (Mcgrath; Baskerville; Rogero; Castell, 2022).

A disfunção de neurotransmissores como a 5-hidroxitriptamina (5-HT), noradrenalina (NA) e dopamina (DA) foi associada à patogênese da depressão (Coppen, 1967). Esta é a hipótese fisiopatológica mais amplamente aceita para os TDs, conhecida como hipótese monoaminérgica. Ela postula que os sintomas dos TDs podem surgir devido à deficiência na concentração sináptica de neurotransmissores, como 5-HT, NA e DA. Essa deficiência pode ser ocasionada pelo aumento da degradação desses neurotransmissores pela enzima monoamina oxidase ou pelo aumento de sua recaptação. (Coppen, 1967). É importante destacar que esta teoria deu origem à maioria dos tratamentos farmacológicos atualmente utilizados para os TDs, como inibidores da monoamina oxidase, antidepressivos tricíclicos, Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina (ISRSs) e antidepressivos atípicos, como a bupropiona, um inibidor da recaptação de NE e DA (Li; Frye; Shelton, 2012). Embora os antidepressivos sejam amplamente prescritos, podem acarretar uma série de efeitos colaterais como náuseas, boca seca, ganho de peso, sonolência ou insônia, tonturas e constipação (Carvalho, Sharma, Brunoni, Vieta et al., 2016). Também apresentam eficácia reduzida no tratamento de certos tipos de transtorno depressivo, como o Transtorno Depressivo Maior (TDM) (Naber, Bullinger, 2018), além de demandarem um período de 7 a 10 dias para que a ação terapêutica se inicie (Malhi, Bell, Morris, Hamilton, 2020).

A deficiência de monoaminas não pode ser considerada como a única causa dos TDs, uma vez que, isoladamente, não consegue elucidar completamente os fenótipos clínicos desses transtornos. Estudos de cérebros *post-mortem* de pacientes com depressão revelaram diminuições na ramificação dendrítica, resultando na redução de áreas cerebrais como o hipocampo e o córtex pré-frontal (CPF). Essas alterações parecem estar relacionadas à diminuição do fator neurotrófico derivado do cérebro, que regula a plasticidade dos neurônios, indicando uma outra teoria relacionada à fisiopatologia dos TDs (Nunes; Nascimento; Kim; Andreazza et al., 2018). O fator neurotrófico derivado do cérebro desempenha papéis fundamentais no cérebro, incluindo a regulação de mecanismos em níveis transcricional, translacional e pós-translacional, a promoção da manutenção de neurônios no sistema nervoso

central (SNc) ao se ligar aos receptores de tirosina quinase B e a estimulação da neurogênese adulta (Bathina; Das, 2015).

Por outro lado, fatores que desencadeiam estresse parecem estar relacionados aos sintomas dos TDs. O estresse ativa circuitos neuronais que estimulam o núcleo paraventricular do hipotálamo a liberar o hormônio liberador de corticotropina (HLBC), o qual, por sua vez, estimula a síntese de ACTH (hormônio adrenocorticotrófico) na hipófise anterior. O ACTH estimula a produção de corticosteroides pelo córtex adrenal, os quais interagem com os receptores de glicocorticóides (GC) em células por todo o corpo, incluindo neurônios e glia. O GC ativado regula negativamente o eixo HHA por meio de um feedback inibitório (Leistner; Menke, 2020). Em pacientes deprimidos, observa-se uma desregulação desse mecanismo, com aumento nos níveis de cortisol e alterações no tamanho e atividade das glândulas supra-renais e hipófise (Sahu; Dubey; Chandrakar; Kumar *et al.*, 2022).

Além disso, na década de 1990, Maes *et al.* observaram um aumento nas citocinas pró-inflamatórias em pacientes com TDM (Maes; Bosmans; Suy; Vandervorst *et al.*, 1990). Isso levou à proposição da hipótese macrofágica da depressão (ou hipótese citocínica da depressão), segundo a qual estressores externos e internos desencadeiam o desenvolvimento de comportamento depressivo por meio de hiperativação imune, caracterizada pelo aumento nos níveis de citocinas pró-inflamatórias interleucina-1, interleucina-6, fator de necrose tumoral-alfa e proteína C-reativa. Também podem ocorrer alterações na função e no número de células natural killer, com ativação da imunidade mediada por células, apresentando aumento na proporção de células T CD4+/CD8+ (Rhie; Jung; Shim, 2020).

Por fim, a recompensa e a aversão representam dois componentes fundamentais no controle motivacional, e a disfunção nesses processos está correlacionada aos TDs (Mackin; Nelson; Klein, 2021), caracterizando o déficit no processamento de recompensas como outra hipótese para a fisiopatologia dos TDs. O sistema de recompensa é composto pela via mesolímbica dopaminérgica, a qual se estende desde a área tegmental ventral (ATV) até o núcleo accumbens no estriado ventral, abrangendo também a amígdala e o hipocampo. Uma disfunção nesse sistema pode influenciar a atividade dos neurônios dopaminérgicos, resultando em prejuízo para a motivação e sintomas depressivos (Zhao; Cheng; Piao; Cui *et al.*, 2022).

Em suma, os TDs são condições multifatoriais, em que cada componente contribui para os fenótipos desses transtornos. A diversidade nas vias de sinalização, nas áreas cerebrais e nos neurocircuitos estão associadas aos TDs. Portanto, é essencial que o diagnóstico e o tratamento desses transtornos considerem a ampla variedade de sistemas envolvidos (Athira; Bandopadhyay; Samudrala; Naidu *et al.*, 2020).

### **3.2 O sintoma de anedonia nos TDs**

A maioria dos indivíduos afetados pelos TDs manifestam sintomas semelhantes, incluindo humor deprimido, diminuição da energia e anedonia (WHO, 2021). Destes, a anedonia se destaca, pois é caracterizada pela redução da capacidade de sentir prazer em resposta a estímulos positivos, aparentando estar intimamente relacionada tanto à gravidade dos TDs quanto à resistência aos tratamentos antidepressivos convencionais (WHO, 2021).

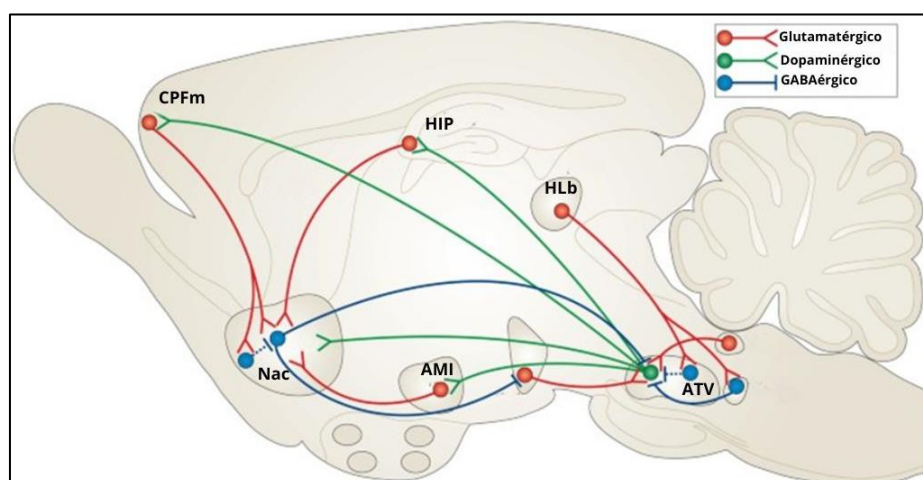
A anedonia parece ser um sintoma refratário aos tratamentos antidepressivos, há evidências crescentes indicando que antidepressivos de segunda geração, como os ISRSs, não são eficazes no tratamento dos sintomas desmotivacionais dos TDs (Belujon; Grace, 2017). Essa questão tem sido explorada desde 2012, quando um estudo com 334 adolescentes depressivos, com idades entre 12 e 18 anos, tratados por 17 semanas com ISRSs, concluiu que pacientes com sintomas anedônicos demonstraram um tempo mais longo de recuperação em comparação com pacientes que apresentavam sintomas de humor deprimido, somático e pensamentos mórbidos. Além disso, a remissão da anedonia parece estar diretamente relacionada ao tempo de remissão dos sintomas depressivos (Mcmakin; Olino; Porta; Dietz *et al.*, 2012). Um estudo mais recente, de 2018, que avaliou 48 pacientes com depressão e relacionou seus sintomas com a gravidade da depressão, demonstrou que o sintoma de anedonia estava associado a quadros depressivos mais graves (Zimmerman; Balling; Chelminski; Dalrymple, 2018). Para investigar novas alternativas farmacológicas que possam preencher essa lacuna terapêutica no contexto dos TDs, é fundamental compreender as bases neurobiológicas que parecem conectar os TDs e a anedonia.

A anedonia tem sido associada a disfunções no sistema de recompensa e, em particular, ao sistema dopaminérgico (Zhao; Cheng; Piao; Cui *et al.*, 2022). A recompensa é um processo natural, no qual o cérebro associa diversos estímulos – como substâncias, situações, eventos ou atividades – a um resultado positivo ou

desejável (Mackin; Nelson; Klein, 2021). O processamento de recompensas envolve várias etapas: inicialmente, ocorre a associação entre um estímulo e uma recompensa; Em seguida, desenvolve-se o interesse, o desejo e a antecipação, definidos como o "estado de prontidão para uma recompensa". Posteriormente, há a ponderação entre o valor esperado de um determinado estímulo e o esforço esperado para obter essa recompensa. Com base nesta ponderação, forma-se a motivação a favor ou contra o início do comportamento direcionado a um objetivo. Quando a motivação para a recompensa esperada supera o esforço necessário, um plano de ação é construído para obter a recompensa desejada. Caso o objetivo seja alcançado, ocorre a fase consumatória do processamento de recompensas, levando à resposta hedônica que representa a resposta prazerosa a um estímulo positivo (Hoflich; Michenthaler; Kasper; Lanzenberger, 2019).

A nível neuronal, o processamento de recompensas parece ser mediado pelo aumento ou diminuição na liberação de DA no sistema mesolímbico cerebral (Saunders; Richard; Margolis; Janak, 2018). A DA é uma catecolamina produzida na substância negra e na área tegmental ventral do mesencéfalo. Os neurônios dopaminérgicos da área tegmental ventral projetam-se para o córtex pré-frontal, para o Núcleo accumbens, para a amígdala e para o hipocampo. Além disso, outras projeções dopaminérgicas partem da substância negra em direção ao estriado (Figura 1).

Figura 1 - Representação esquemática do circuito de recompensa *área tegmental ventral – núcleo accumbens* em cérebro de camundongo



Fonte: Adaptado de Russo e Nestler (2013).

A via mesolímbica, que se estende da área tegmental ventral ao núcleo accumbens, desempenha um papel fundamental no processamento de recompensas e no aprendizado baseado na resposta hedônica, sendo mediada pelos neurônios dopaminérgicos (Zhao; Chen; Liu; Li, 2020). O núcleo accumbens, além das projeções dopaminérgicas, recebe projeções glutamatérgicas do córtex pré-frontal, hipocampo e amígdala, e envia projeções gabaérgicas de volta à área tegmental ventral (Figura 1). Essas projeções gabaérgicas são conhecidas como neurônios espinhosos médios (MSNs) e expressam os receptores de DA D<sub>1</sub> (D1-MSNs) e D<sub>2</sub> (D2-MSNs), bem como os receptores N-Metil-D-Aspartato (NMDA). Os neurônios D1-MSNs e D2-MSNs seguem caminhos distintos para agirem na ATV, denominados via direta e via indireta. Na via direta, os D1-MSNs partem do núcleo accumbens e se projetam diretamente até a área tegmental ventral, enquanto que na via indireta os D2-MSNs se projetam para o Pálido Ventral e, em seguida, se conectam com neurônios gabaérgicos que são projetados para a área tegmental ventral (Zhao; Chen; Liu; Li, 2020).

A combinação das projeções dos neurônios dopaminérgicos, glutamatérgicos e gabaérgicos forma o processamento de recompensas. Através dos componentes sensoriais relacionados a valores atribuídos pelo cérebro, ocorre um impacto nos receptores sensoriais, resultando em uma resposta física dos neurônios dopaminérgicos que conectam a área tegmental ventral ao núcleo accumbens. A DA é, então, liberada no núcleo accumbens, onde age nos receptores D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> dos MSNs (Soares-Cunha; De Vasconcelos; Coimbra; Domingues *et al.*, 2020). O Receptor D<sub>1</sub> está acoplado à proteína G estimulatória e, quando a DA se liga a este receptor, a enzima adenilato ciclase é ativada, resultando no aumento da concentração de adenosina monofosfato cíclico (AMPc), desencadeando a ativação da proteína cinase dependente de AMPc (PKA). Essa ativação, por sua vez, leva à fosforilação de diversas estruturas intracelulares, aumentando a excitabilidade dos D1-MSNs. Além disso, as projeções glutamatérgicas são estimuladas, atuando nos receptores de NMDA dos D1-MSN, o que igualmente resulta em uma maior excitabilidade desses neurônios (Nagai; Yoshimoto; Kannon; Kuroda *et al.*, 2016). Aparentemente, essa excitabilidade resultante é capaz de reduzir o tônus inibitório dos neurônios gabaérgicos sobre os neurônios dopaminérgicos na área tegmental ventral, levando a uma maior liberação de DA (Cox; Witten, 2019).

Já a ativação do receptor D<sub>2</sub>, associado aos D2-MSNs, resulta na diminuição da atividade nestes neurônios devido à inibição da enzima adenilato ciclase, o que culmina na redução da produção de AMPc e na inativação da PKA. Esse processo provoca a diminuição da excitabilidade dos D2-MSNs, que continuam a inibir a liberação de DA (Nagai; Yoshimoto; Kannon; Kuroda *et al.*, 2016). Em suma, teoriza-se que quando os níveis de DA estão baixos durante o repouso, os D1-MSNs parecem ser menos excitáveis do que os D2-MSNs, tornando a via D2-MSN mais predominante em condições basais. No entanto, se um aumento substancial na DA for induzido pela associação à recompensa, a via D1-MSN torna-se mais dominante que a via D2-MSN (Nagai; Yoshimoto; Kannon; Kuroda *et al.*, 2016).

Ainda existem muitas dúvidas sobre o mecanismo dos neurônios D1-MSN e D2-MSN. Um novo estudo demonstrou que a estimulação dos D2-MSNs parece provocar reforço positivo em camundongos, sugerindo que esses neurônios podem estar associados a estímulos positivos mediados pela recompensa, contradizendo a teoria anterior (Cox; Witten, 2019).

A associação dos TDs com disfunções no sistema de recompensa é amplamente investigada através de estudos de neuroimagem. Uma revisão destes estudos demonstra que, nos TDs com sintomas relacionados à motivação, a via área tegmental ventral - núcleo accumbens pode estar desregulada, visto que identificou-se uma redução na atividade do núcleo accumbens em pacientes com TDM em resposta à recompensa. Além disso, notou-se uma atenuação mais rápida da atividade do núcleo accumbens durante a resposta à recompensa e uma menor liberação de DA (Borsini; Wallis; Zunszain; Pariente *et al.*, 2020). Essas regiões cerebrais estão geralmente ativadas em resposta a estímulos associados à recompensa em circunstâncias normais (Cox; Witten, 2019).

Nos TDs, parece existir uma disfunção nos erros de previsão dos neurônios dopaminérgicos que conectam a área tegmental ventral - núcleo accumbens. Essa questão foi principalmente elucidada em alguns estudos clínicos (Kumar; Goer; Murray; Dillon *et al.*, 2018; Reinen; Whitton; Pizzagalli; Slifstein *et al.*, 2021). Os erros de previsão envolvem a atribuição de um valor gratificante a um estímulo; Os neurônios dopaminérgicos são ativados por recompensas maiores do que o previsto, o que representa um erro de previsão positivo. No entanto, eles mantêm atividade basal quando as recompensas são completamente previsíveis, e exibem atividade



deprimida quando a recompensa é menor do que o previsto, caracterizando um erro de previsão negativo (Rizvi; Lambert; Kennedy, 2018). Dessa forma, uma disfunção nos neurônios dopaminérgicos pode resultar na diminuição das respostas decorrentes dos erros de previsão, inibindo a capacidade de aprendizagem, prejudicando a motivação e resultando em anedonia (Mackin; Nelson; Klein, 2021).

A anedonia, um sintoma significativo nos TDs, parece estar correlacionada a disfunções no sistema de recompensa (Rizvi; Lambert; Kennedy, 2018). A DA desempenha um papel crucial nesse cenário, atuando como mediadora no sistema mesolímbico cerebral, particularmente na via que se estende da área tegmental ventral ao núcleo accumbens (Cox; Witten, 2019). O processamento de recompensas envolve uma complexa interação entre neurônios dopaminérgicos, glutamatérgicos e gabaérgicos, culminando na modulação da liberação de DA no núcleo accumbens (Cox; Witten, 2019). Neste contexto, a modulação do sistema dopaminérgico parece emergir como um alvo promissor para o desenvolvimento de novos fármacos mais eficazes direcionados aos TDs.

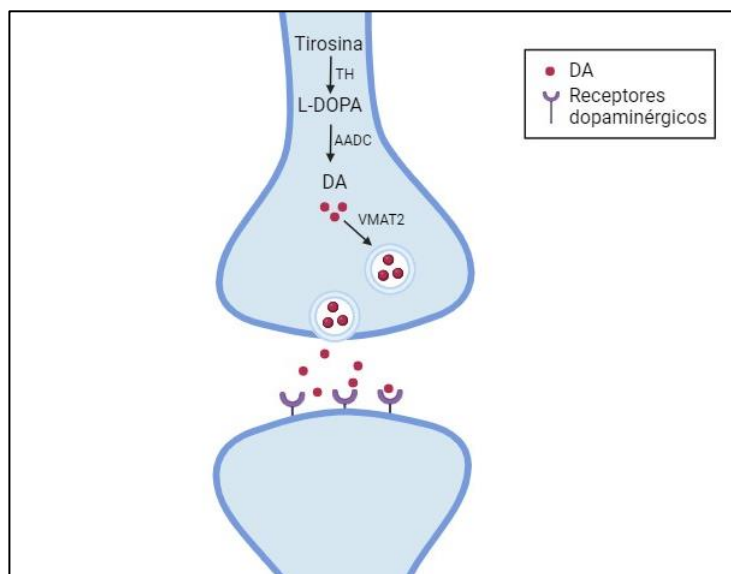
### **3.3 O sistema dopaminérgico como perspectiva terapêutica para os TDs**

A DA é um neurotransmissor monoaminérgico que desempenha funções essenciais em diversos processos fisiológicos, incluindo a consolidação da memória, motivação, prazer, regulação de neurônios motores, lactação e comportamento sexual (Xu; Yang, 2022). Os neurônios produtores de DA têm sua origem em núcleos no tronco cerebral, com projeções que inervam várias regiões corticais e subcorticais cerebrais (Taylor; Zald; Felger; Christman *et al.*, 2022). Entre as principais vias, destacam-se a via mesocortical, que parte da área tegmental ventral em direção ao CPF, desempenhando um papel crucial na atenção e memória de trabalho. A via mesolímbica projeta-se da área tegmental ventral para o estriado Ventral/ núcleo accumbens e está envolvida nos processos de motivação e recompensa. Já a via nigroestriatal, originada da substância negra, parte em direção ao caudado e putâmen do estriado dorsal, desempenhando um papel na programação e execução de funções motoras (Schultz, 2002; Taylor; Zald; Felger; Christman *et al.*, 2022).

A síntese da DA ocorre no citosol por meio de reações enzimáticas catalisadas pela tirosina hidroxilase (TH) e pela descarboxilase de aminoácidos aromáticos. A TH converte a tirosina em di-hidroxifenilalanina, que é posteriormente convertida em DA

pela descarboxilase de aminoácidos aromáticos, utilizando a piridoxal fosfato como cofator (Xu; Yang, 2022). Após esse processo, a DA é incorporada nas vesículas sinápticas pelo transportador vesicular de monoamina-2 e armazenada nos neurônios catecolaminérgicos (Miesenbock; De Angelis; Rothman, 1998) (Figura 2).

Figura 2 - Metabolismo da DA em neurônios dopaminérgicos.



Fonte: Figura do autor.

Quando a DA é liberada das vesículas neuronais por meio de um potencial de ação, ela interage com receptores metabotrópicos pós-sinápticos ou pré-sinápticos, que são subdivididos em D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub> e D<sub>5</sub> (Zhao; Cheng; Piao; Cui *et al.*, 2022). A família de receptores semelhantes ao D<sub>1</sub> consiste em dois tipos de receptores acoplados à proteína G, incluindo os receptores D<sub>1</sub> e D<sub>5</sub>, com maior densidade no corpo estriado ou caudo-putâmen, núcleo accumbens, substância negra e bulbo olfatório (Zhao; Cheng; Piao; Cui *et al.*, 2022).

A interação da DA com receptores D<sub>1</sub> desempenha um papel importante na modulação do sistema de recompensa, atividade locomotora, aprendizagem, memória, emoção e percepção (Mishra; Singh; Shukla, 2018). Devido ao antagonismo do receptor D<sub>1</sub> na influência de uma variedade de funções relacionadas com os sintomas dos TDs, este receptor emerge como um alvo terapêutico interessante a ser explorado. Um estudo pré-clínico conduzido por Shuto; Kuroiwa; Sotogaku; Kawahara *et al.* (2020) revelou que o tratamento crônico com fluoxetina em camundongos, combinado com a administração de um agonista do receptor D<sub>1</sub>,

resultou no aumento da expressão do receptor D<sub>1</sub> em células granulares maduras no giro denteado (Shuto; Kuroiwa; Sotogaku; Kawahara *et al.*, 2020). Além disso, este protocolo reverteu os comportamentos tipo depressivos induzidos pelo estresse de restrição severa, os quais demonstravam resistência ao tratamento crônico com fluoxetina. (Shuto; Kuroiwa; Sotogaku; Kawahara *et al.*, 2020).

Outro estudo conduzido em ratos demonstrou que a administração de um agonista seletivo do receptor D<sub>1</sub> foi capaz de induzir efeitos tipo antidepressivos, conforme avaliado no teste do nado forçado (TNF) (Desormeaux; Demars; Davenas; Jay *et al.*, 2020). Estes resultados indicam que a estimulação dos receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub> pode apresentar propriedades terapêuticas interessantes para o tratamento dos TDs.

A família de receptores de DA tipo D<sub>2</sub> é classificada nas subfamílias D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> e D<sub>4</sub>. O receptor D<sub>2</sub> e seus subtipos são expressos no cérebro, principalmente no corpo estriado, globo pálido externo, núcleo accumbens, amígdala, córtex cerebral, hipocampo e hipófise (Mishra; Singh; Shukla, 2018). Os receptores D<sub>2</sub> podem desempenhar funções pós-sinápticas, influenciando o sistema motor extrapiramidal. Além disso, esses receptores podem atuar de maneira pré-sináptica, assumindo duas formas: como autoreceptores somatodendríticos, onde reduzem a excitabilidade neuronal, e como autoreceptores terminais, onde contribuem para a diminuição da síntese, empacotamento e liberação de DA. (Zhao; Cheng; Piao; Cui *et al.*, 2022).

Inibir os autoreceptores D<sub>2</sub> parece resultar no aumento da transmissão dopaminérgica, podendo melhorar quadros de TDs, como demonstrado em um estudo clínico conduzido por Admon; Kaiser; Dillon; Beltzer *et al.* (2017). Utilizando uma abordagem duplo-cega, o estudo examinou pacientes deprimidos que receberam placebo ou uma única dose (50 mg) do antagonista D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub>, amisulprida, que parece aumentar a sinalização de DA por meio do bloqueio pré-sináptico de autoreceptores D<sub>2</sub>. Em suma, os participantes deprimidos que receberam amisulprida demonstraram um aumento da ativação do estriado e uma potencialização da conectividade corticoestriatal entre o núcleo accumbens e o córtex cingulado médio em resposta às recompensas. Isso evidencia que o aumento agudo da transmissão dopaminérgica parece intensificar a ativação do estriado, uma região cerebral envolvida no sistema de recompensas. Este estudo demonstra o potencial terapêutico da modulação de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> para atenuar sintomas depressivos.

Entretanto, outro estudo conduzido por Thiele; Sorensen; Weis; Braun *et al.* (2020) evidenciou que o bloqueio dos receptores D<sub>2</sub> no corpo estriado cerebral de ratos machos parece ter induzido um comportamento tipo depressivo, e a estimulação cerebral profunda reverteu esse fenótipo. Essa dicotomia nos resultados dos estudos pode ser resultado da diferença do organismo analisado e das localizações distintas dos receptores D<sub>2</sub>, considerando que este receptor possui mais de uma função considerando a sua localização no sistema nervoso (Zhao; Cheng; Piao; Cui *et al.*, 2022).

Fatima; Ahmad; Srivastav; Rizvi *et al.* (2020) investigaram os efeitos do estresse pré-natal crônico imprevisível leve em ratos Wistar adultos e sua reversão pelo agonista seletivo do receptor de DA D<sub>2</sub>, ropinirole. Os resultados demonstraram que o modelo foi capaz de induzir comportamentos tipo depressivos, aumentando o estresse oxidativo e reduzindo a expressão da TH, enzima fundamental para a síntese de DA (Xu; Yang, 2022). Eles também observaram diminuição da neurogênese hipocampal e da expressão de fator neurotrófico derivado do cérebro na prole adulta. O tratamento crônico com ropinirole foi capaz de reverter esses efeitos. Assim, o estudo sugere que agonistas do receptor de DA D<sub>2</sub> podem ser úteis no tratamento dos TDs (Fatima; Ahmad; Srivastav; Rizvi *et al.*, 2020).

Os receptores de DA D<sub>3</sub> e D<sub>4</sub> também parecem estar implicados na fisiopatologia dos TDs. Moraga-Amaro; Gonzalez; Pacheco e Stehberg (2014) investigaram o papel do receptor de DA D<sub>3</sub> no fenótipo depressivo. Para avaliar isso, foram utilizados camundongos knockout para o receptor D<sub>3</sub>. Os animais exibiram sintomas tipo depressivos em testes comportamentais, evidenciados pelo aumento do tempo de imobilidade no TNF e no teste da suspensão pela cauda (TSC), bem como anedonia no teste de preferência a sacarose. Assim, a deficiência do receptor D<sub>3</sub> resultou em sintomas tipo depressivos, sugerindo a relevância do deste receptor neste contexto. De fato, parece que a expressão e a função do receptor D<sub>3</sub> são reguladas negativamente durante os TDs, e a terapia com agonista parcial dos receptores D<sub>3</sub> pode reverter essas alterações, sugerindo que o aumento da neurotransmissão dopaminérgica pode resultar em atividade antidepressiva. Além disso, a indução de fator neurotrófico derivado do cérebro parece regular a expressão de receptor D<sub>3</sub> em determinadas regiões cerebrais, resultando em efeito tipo antidepressivo em animais (Leggio; Salomone; Bucolo; Platania *et al.*, 2013).

Um estudo de Hui; Du; Xu; Zhang *et al.* (2020) investigou os efeitos dos receptores de DA D<sub>4</sub> na região habênula lateral em comportamentos tipo depressivos induzidos por lesões unilaterais de 6-hidroxidopamina no cérebro de ratos. A habênula lateral é considerada um centro anti-recompensa do cérebro, envolvida na aversão e na regulação do humor por meio da modulação do sistema de DA. Durante eventos aversivos, indivíduos saudáveis demonstram aumento de atividade da habênula lateral (Liang; Wu; Hanxiaoran; Greenshaw *et al.*, 2022).

A lesão na região da habênula lateral em ratos resultou em um efeito tipo depressivo, ocasionando a redução da preferência por sacarose e o aumento do tempo de imobilidade quando comparada ao grupo de ratos submetidos a uma simulação de lesão. A administração de doses baixas de agonista D<sub>4</sub> (A412997) produziu efeitos tipo antidepressivos, enquanto doses baixas do antagonista D<sub>4</sub> (L741742) induziram respostas tipo depressiva no grupo simulado. Entretanto, essas doses não tiveram efeitos no grupo com lesão no SNc. Curiosamente, a administração de doses elevadas de A412997 induziu respostas tipo depressiva, enquanto doses médias e altas de L741742 produziram efeitos tipo-antidepressivos no grupo simulado. Através de resultados eletrofisiológicos, foi elucidado que doses baixas de A412997 e L741742 agem nos receptores pós-sinápticos D<sub>4</sub>, enquanto doses altas agem em receptores pré-sinápticos. Por esse motivo, parece haver distinção nos efeitos observados nos animais dependente das doses (Hui; Du; Xu; Zhang *et al.*, 2020). Estes resultados destacam o papel dos receptores D<sub>4</sub> na habênula lateral na regulação de comportamentos tipo depressivo em ratos.

Em suma, a DA parece emergir como um protagonista na fisiopatologia dos TDs, influenciando uma variedade de processos fisiológicos e comportamentais (Xu; Yang, 2022). A modulação dos receptores dopaminérgicos, especialmente os do tipo D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub>, revela um potencial terapêutico promissor para o tratamento dos TDs (Desormeaux; Demars; Davenas; Jay *et al.*, 2020; Papp; Gruca; Lason; Niemczyk *et al.*, 2019). Agonistas do receptor D<sub>1</sub> e antagonistas dos receptores D<sub>2</sub> têm mostrado potencial na atenuação de fenótipos depressivos (Admon; Kaiser; Dillon; Beltzer *et al.*, 2017; Desormeaux; Demars; Davenas; Jay *et al.*, 2020). No entanto, é necessário considerar a diversidade desses receptores em termos de funções e localizações para o desenvolvimento de novos medicamentos (Admon; Kaiser; Dillon; Beltzer *et al.*, 2017; Thiele; Sorensen; Weis; Braun *et al.*, 2020). Adicionalmente, há evidências que

sugerem uma possível relação entre os receptores D<sub>3</sub> e D<sub>4</sub> e a fisiopatologia dos TDs, destacando que a modulação desses receptores podem resultar em efeitos tipo antidepressivos. (Hui; Du; Xu; Zhang *et al.*, 2020; Leggio; Salomone; Bucolo; Platania *et al.*, 2013). Com base nessas descobertas, novos compostos que possam modular o sistema dopaminérgico surgem como opções promissoras para abordagens terapêuticas inovadoras nos TDs.

### **3.4 O sistema noradrenérgico como perspectiva terapêutica para os TDs**

A NA é um neurotransmissor presente nos corpos celulares de regiões cerebrais como a ponte e a medula (Ranjbar-Slamloo; Fazlali, 2019). A partir dessas áreas, os neurônios noradrenérgicos projetam-se para outras regiões cerebrais, como o hipotálamo, tálamo, sistema límbico e córtex cerebral, desempenhando um papel importante na modulação de diversas funções fisiológicas e comportamentais, que incluem: regulação do humor, modulação da atenção e alerta, controle do ciclo sono-vigília e regulação da atividade autonômica (Liu; Zhao; Guo, 2018).

A síntese da NA nos neurônios ocorre a partir dos aminoácidos tirosina ou fenilalanina (Schwarz; Luo, 2015). Inicialmente, a tirosina é convertida em dihidroxifenilalanina (DOPA) pela ação da enzima TH. Posteriormente, a DOPA é transformada em DA no citoplasma neuronal (Schwarz; Luo, 2015). A DA, é então transportada para vesículas sinápticas, onde é convertida em norepinefrina pela enzima dopamina β-hidroxilase (Ranjbar-Slamloo; Fazlali, 2019).

Após a ocorrência de um potencial de ação no terminal pré-sináptico neuronal, canais de cálcio voltagem dependente são ativados, permitindo um influxo de cálcio do espaço extracelular para o intracelular (Rho; Kim; Lee, 2018). Esse influxo desencadeia a fusão das vesículas contendo NA com a membrana celular, resultando na liberação da NA na fenda sináptica através de exocitose (Rho; Kim; Lee, 2018). Uma vez na fenda sináptica, a NA pode se ligar a cinco tipos principais de receptores: os receptores α<sub>1</sub>, α<sub>2</sub>, β<sub>1</sub>, β<sub>2</sub> e β<sub>3</sub> (Strosberg, 1993). Estes receptores são classificados como receptores acoplados à proteína G, apresentando efeitos tanto inibitórios quanto excitatórios (Strosberg, 1993).

Os receptores α<sub>1</sub> estão localizados pós-sinapticamente em regiões do cérebro, incluindo o locus coeruleus, bulbo olfatório, córtex cerebral, giro denteado, amígdala e tálamo (Ranjbar-Slamloo; Fazlali, 2019). Já os receptores α<sub>2</sub> estão localizados pré

e pós-sinápticamente em regiões do cérebro, incluindo locus coeruleus, amígdala e hipotálamo (Rho; Kim; Lee, 2018). Os receptores  $\beta$  subdividem-se em receptores  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e  $\beta_3$ , sendo os receptores  $\beta_1$  e  $\beta_2$  mais prevalentes no córtex cerebral (Schwarz; Luo, 2015).

A interação do sistema noradrenérgico com regiões cerebrais responsáveis pelo processamento emocional, como o córtex pré-frontal e o hipotálamo, destaca NA como um neurotransmissor importante na regulação do humor (Schwarz; Luo, 2015). A NA exerce influência sobre a resposta do organismo a estímulos emocionais, facilitando a adaptação a situações estressantes e contribuindo para a manutenção de um estado emocional equilibrado (Liu; Zhao; Guo, 2018).

Níveis adequados de NA são essenciais para o equilíbrio emocional, enquanto desregulações podem estar associadas a transtornos de humor, como depressão e ansiedade (Liu; Zhao; Guo, 2018). Já é bem estabelecido que a exposição repetida ao estresse aumenta o risco de desenvolver TDs (Vinkers; Joels; Milaneschi; Kahn *et al.*, 2014; Weber; Giannakopoulos; Herrmann; Bartolomei *et al.*, 2013). É sugerido que a resposta ao estresse emocional envolve a facilitação da liberação NA no cérebro (Tanaka; Yoshida; Emoto; Ishii, 2000). Um estudo realizado em camundongos e conduzido por Li; Feng; Zhou; Zhang *et al.* (2018) indicou resultados semelhantes. Os pesquisadores constataram que um protocolo de estresse induziu um fenótipo depressivo nos camundongos e ativou a expressão de c-Fos nos neurônios do locus coeruleus. A c-Fos é um fator de transcrição importante para a transcrição do gene da TH e sua expressão aumentada pode indicar um maior aporte de NA (Sun; Tank, 2003).

Du; Yin; Yuan; Zhang *et al.* (2020) investigaram o efeito da redução da transmissão de NA, por meio da diminuição da expressão do transportador de norepinefrina, no comportamento tipo depressivo induzido por estresse crônico em ratos. Os resultados demonstraram que a redução do transportador de norepinefrina no locus coeruleus levou a uma diminuição significativa no comportamento tipo depressivo em ratos, como evidenciado pela redução no tempo de imobilidade no TNF e aumento na preferência por sacarose. Esses resultados sugerem que a redução da expressão do transportador de norepinefrina no locus coeruleus pode ter efeitos tipo antidepressivo significativo, indicando o potencial terapêutico de abordagens que

visam essa via específica da neurotransmissão noradrenérgica para o tratamento da depressão.

Outro papel terapêutico que a modulação do sistema noradrenérgico pode desempenhar nos TDs é a atenuação de sintomas somáticos (Liu; Zhao; Fan; Guo, 2019). Os sintomas somáticos incluem dor musculoesquelética, dor abdominal, fadiga, tontura e sintomas gastrointestinais. Entre esses sintomas, a dor musculoesquelética destaca-se como uma condição prevalente entre os pacientes diagnosticados com TDs (Simon; Vonkorff; Piccinelli; Fullerton *et al.*, 1999). Um estudo de revisão uniu resultados de avaliações pré-clínicos que revelaram que a estimulação química ou elétrica do locus coeruleus, pode desencadear analgesia por meio da medula espinhal, e este efeito foi bloqueado por antagonistas de receptores noradrenérgicos  $\alpha_2$  (Bravo; Llorca-Torralba; Berrocoso; Mico, 2019).

Hajhashemi; Banafshe; Minaiyan; Mesdaghinia *et al.* (2014) investigaram os efeitos da venlafaxina (um inibidor da recaptação de 5-HT e NA) na dor neuropática em ratos. A dor neuropática foi induzida em ratos através da lesão do nervo ciático, resultando em hipersensibilidade térmica, mecânica e fria. A administração crônica de venlafaxina reduziu a hipersensibilidade tátil e a hiperalgesia térmica. Além disso, o efeito da venlafaxina na hiperalgesia térmica foi revertido pelo pré-tratamento com ioimbina, um antagonista dos receptores adrenérgicos  $\alpha_2$ . Esses resultados sugerem que a venlafaxina pode atenuar a dor neuropática e que os receptores noradrenérgicos  $\alpha_2$  estão envolvidos nos efeitos antinociceptivos da venlafaxina. Estes resultados evidenciam a modulação do sistema noradrenérgico como estratégia de tratamento para sintomas somáticos dos TDs, como a dor.

Atualmente, não existem medicamentos específicos aprovados direcionados ao tratamento dos sintomas somáticos nos TDs. Os medicamentos comumente utilizados para abordar esses sintomas incluem antidepressivos, antiepilépticos, antipsicóticos e produtos naturais (Kleinstaubler; Witthoft; Steffanowski; Van Marwijk *et al.*, 2014). A eficácia de muitos destes tratamentos tem apoio limitado, sendo necessário a administração de mais de um medicamento para obter um efeito significativo (Henningesen, 2018).

A falta de tratamentos eficazes para os sintomas somáticos TDs é um desafio significativo (Henningesen, 2018). No entanto, os resultados promissores obtidos através da modulação do sistema noradrenérgico destacam sua importância como um



alvo terapêutico promissor para tratar os sintomas dos TDs (Bravo; Llorca-Torralba; Berrocoso; Mico, 2019; Hajhashemi; Banafshe; Minaiyan; Mesdaghinia *et al.*, 2014).

### **3.5 Explorando a utilização de animais na Investigação dos TDs**

A utilização de animais em pesquisas para a descoberta de novos fármacos desempenha um papel fundamental no avanço da ciência farmacêutica (Garattini; Grignaschi, 2017). Os modelos animais servem como ferramentas valiosas para entender os efeitos potenciais de novos compostos em organismos vivos antes de sua aplicação em seres humanos (Ramaker; Dulawa, 2017). Ao empregar modelos animais, os pesquisadores podem avaliar a eficácia, toxicidade e possíveis efeitos colaterais de novos fármacos, proporcionando uma compreensão mais abrangente de seu impacto no organismo (Garattini; Grignaschi, 2017).

A seleção do modelo animal é uma etapa crucial para o sucesso e relevância translacional dos resultados obtidos, estabelecendo-se com base em três critérios importantes: validade aparente (fenótipo semelhante aos humanos com a doença), validade de construção (processos que resultam na patologia humana são mimetizados pelo modelo) e validade preditiva (sensibilidade a intervenções farmacológicas e não farmacológicas eficazes para a doença em humanos) (Nestler; Hyman, 2010).

A escolha de organismos cobaias é outra etapa fundamental para estabelecer um modelo animal adequado; nesse contexto, ratos e camundongos surgem como modelos animais apropriados devido às suas semelhanças anatômicas e fisiológicas com os humanos (Bryda, 2013). Tanto ratos quanto camundongos compartilham aproximadamente 30.000 genes com os humanos, sendo cerca de 95% desses genes comuns entre as três espécies (Gibbs; Weinstock; Metzker; Muzny *et al.*, 2004; Mouse Genome Sequencing; Waterston; Lindblad-Toh; Birney *et al.*, 2002). Além disso, os roedores apresentam vantagens econômicas, demandando pouco espaço e recursos para manutenção, possuindo gestações curtas, grande número de descendentes e rápido desenvolvimento até a maturidade sexual (Bryda, 2013).

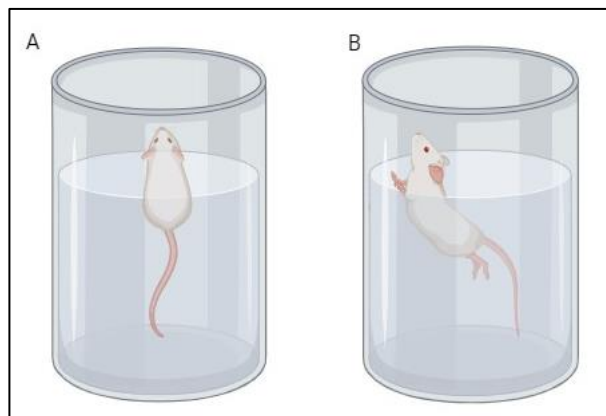
Embora muitos animais compartilhem sistemas neurais e neurotransmissores semelhantes aos humanos, como é o caso dos roedores, a validade aparente representa um desafio para os modelos animais relacionados à depressão (Wang; Timberlake; Prall; Dwivedi, 2017). A interpretação precisa dos estados emocionais de

animais permanece desafiadora (Ramaker; Dulawa, 2017). Nesse sentido, a replicação dos aspectos cognitivos e emocionais associados à depressão em animais é subjetiva, uma vez que sentimentos de tristeza profunda, desesperança e perda de interesse são sintomas difíceis de traduzir para comportamentos observáveis em modelos animais (Nestler; Hyman, 2010). Devido a essas limitações, os modelos animais para o estudo dos TDs foram refinados e, atualmente, abrangem diversos aspectos do comportamento depressivo e cognitivo que se assemelham à depressão humana. Esses modelos são capazes de examinar circuitos neurais e vias moleculares e celulares que podem desempenhar um papel crítico na patogênese da depressão (Wang; Timberlake; Prall; Dwivedi, 2017).

A aplicação de estressores tem desempenhado um papel central nos testes comportamentais para triagem de comportamentos tipo antidepressivo, dada a documentada relação entre os TDs e o estresse (Krishnan; Nestler, 2008; Torres-Berrio; Issler; Parise; Nestler, 2019; Yang; Zhao; Wang; Liu *et al.*, 2015). Esses testes visam a triagem de novos compostos com potencial antidepressivo (Wang; Timberlake; Prall; Dwivedi, 2017).

O TNF tem sido amplamente utilizado para avaliar comportamentos tipo antidepressivo e tipo depressivo (Nestler; Hyman, 2010; Wang; Timberlake; Prall; Dwivedi, 2017). Desenvolvido por Porsolt, Le Pichon e Jalfre (1977), o teste consiste em submeter um camundongo ou rato a uma situação considerada inescapável. O animal é colocado em um cilindro com 50 cm de altura e 20 cm de diâmetro, preenchido com água à temperatura de 25°C. Após um período inicial de luta, natação e escalada, o animal eventualmente assume uma postura flutuante ou imóvel. A ausência de comportamento relacionado à fuga é considerada imobilidade, e esse tempo é contabilizado (Figura 3). O comportamento de flutuação ou imobilidade está associado a um fenótipo depressivo no animal (Porsolt; Le Pichon; Jalfre, 1977).

Figura 3 - Representação das respostas comportamentais de camundongos no TNF: A) comportamento de imobilidade; B) comportamento de mobilidade/natação.

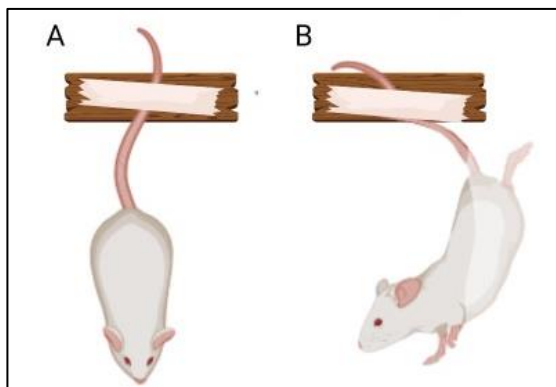


Fonte: Figura do autor.

Este teste apresenta algumas limitações, como o risco de hipotermia devido à submersão em água. Além disso, a interpretação do comportamento imóvel como indicativo de desespero pode ser complexa, pois diversos fatores, como genética, ambiente e manipulações experimentais, podem influenciar os resultados (Yankelevitch-Yahav; Franko; Huly; Doron, 2015). Apesar dessas limitações, esses testes fornecem informações robustas sobre comportamentos relacionados à depressão em modelos animais, permitindo investigações mais amplas sobre os efeitos de agentes antidepressivos (Wang; Timberlake; Prall; Dwivedi, 2017).

Outro teste existente para avaliar o fenótipo depressivo é o TSC. Desenvolvido por Steru; Chermat; Thierry e Simon (1985) e baseado no TNF, os camundongos são colocados em uma situação moderadamente estressante e inescapável, ficando suspensos pela cauda. Com uma fita adesiva, os animais são suspensos pela cauda e colocados em uma posição onde não é possível escapar ou se agarrar às superfícies próximas (Figura 4). Durante o teste, que normalmente dura seis minutos, o comportamento de imobilidade é contabilizado e relacionado ao fenótipo depressivo (Steru; Chermat; Thierry; Simon, 1985).

Figura 4 - Representação das respostas comportamentais de camundongos no TSC: A) comportamento de imobilidade; B) comportamento de mobilidade.

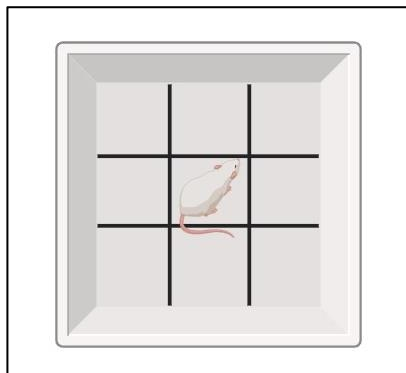


Fonte: Figura do autor.

Limitações deste teste foram observadas em alguns camundongos, especialmente da cepa C57BL/6, que têm a capacidade de escalar a própria cauda. Os animais que conseguem escalar a cauda aprendem que escapar é possível, desqualificando os resultados do teste (Mayorga; Lucki, 2001). O TSC também não é adequado para roedores mais pesados, como ratos, devido ao potencial desconforto em sustentar seu peso apenas pela cauda (Can; Dao; Terrillion; Piantadosi *et al.*, 2012). Apesar dessas limitações, o TSC tem se mostrado útil na triagem de potenciais medicamentos antidepressivos, sendo acessível em termos de custo, fácil de manipular e com a possibilidade de automação na coleta de dados (Wang; Timberlake; Prall; Dwivedi, 2017).

Além dos testes específicos para triagem do fenótipo depressivo e antidepressivo, é importante avaliar a influência do tratamento recebido na saúde geral e no bem-estar do animal. Neste sentido, o teste do campo aberto (TCA) torna-se útil para a pesquisa de novos fármacos. O TCA foi desenvolvido pela primeira vez por Hall (1934), sendo empregado para analisar a atividade locomotora espontânea dos animais (Prut; Belzung, 2003). O teste consiste em colocar o animal no centro de uma caixa de 42x42x42 cm e monitorar o movimento do animal durante um determinado tempo (Figura 5) (Prut; Belzung, 2003). Alterações na locomoção podem indicar processos neurológicos modificados e, portanto, refletir função cerebral anormal (Kraeuter; Guest; Sarnyai, 2019). Além disso, este teste pode ser usado para avaliar a saúde geral e o bem-estar do animal, pois animais não saudáveis tendem a se movimentar menos na área (Kraeuter; Guest; Sarnyai, 2019).

Figura 5 - Representação esquemática do TCA.



Fonte: Figura do autor.

Em suma, a utilização de animais em pesquisas para a descoberta de novos fármacos desempenha um papel importante para o avanço de terapias farmacológicas (Garattini; Grignaschi, 2017). Ratos e camundongos emergem como modelos animais adequados devido às suas semelhanças anatômicas e fisiológicas com os humanos, além das vantagens econômicas que oferecem (Bryda, 2013). A replicação de aspectos cognitivos e emocionais associados à depressão em animais, embora desafiadora devido à natureza subjetiva desses estados, tem sido aprimorada ao longo dos anos (Wang; Timberlake; Prall; Dwivedi, 2017). Testes comportamentais como o TNF e o TSC têm desempenhado um papel fundamental na triagem de comportamentos depressivos e antidepressivos, proporcionando *insights* para o desenvolvimento de novos medicamentos (Wang; Timberlake; Prall; Dwivedi, 2017).

### **3.6 Explorando o Potencial Terapêutico dos compostos orgânicos contendo selênio e do núcleo benzamida nos TDs**

O isolamento do elemento selênio, realizado por Jacob Berzelius em 1817, desencadeou uma intensa investigação sobre seus possíveis efeitos, tanto em animais quanto em plantas (Rocha; Piccoli; Oliveira, 2017). Ao longo dos anos, as propriedades benéficas do selênio foram exploradas. Inicialmente, foram identificados efeitos positivos do selênio em casos de carcinoma inoperável (Watson-Williams, 1919). Além disso, a importância do selênio para mamíferos foi definida em 1957, quando se observou que o selenito e o selenato poderiam prevenir a necrose hepática causada por uma dieta deficiente em vitamina E em ratos (Schwarz; Foltz, 1999).

O selênio mostrou-se essencial para a bioquímica celular, desempenhando um papel importante como componente da glutathione peroxidase, uma enzima envolvida na proteção das membranas celulares contra a peroxidação lipídica (Flohe; Gunzler; Schock, 1973). Além disso, estudos destacam que uma ingestão adequada de selênio é crucial para o funcionamento do sistema imunológico e pode reduzir o risco de doenças cardiovasculares. Há também evidências que sugerem efeitos benéficos do selênio na proteção contra infecções virais, como o vírus da imunodeficiência humana e, mais recentemente, contra a gravidade da infecção por SARS-CoV-2 (Guillin; Vindry; Ohlmann; Chavatte, 2019; Moghaddam; Heller; Sun; Seelig *et al.*, 2020). Esses aspectos benéficos ressaltam a relevância do selênio na manutenção da saúde e na prevenção de diversas condições patológicas.

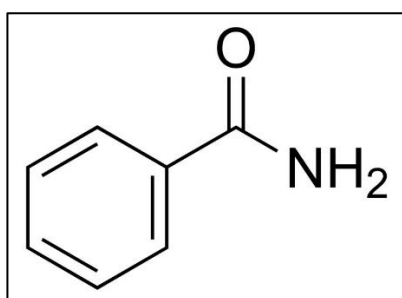
O selênio também tem sido amplamente estudado em relação às doenças neuropsiquiátricas, destacando a depressão (Antoniadou; Kouskou; Arsiwala; Singh *et al.*, 2018; Fink; Anastasio; Fox; Rice *et al.*, 2015; Posser; Kaster; Barauna; Rocha *et al.*, 2009; Sharpley; Williams; Holder; Godlewska *et al.*, 2020). Neste contexto, o composto Ebselen se destacou como um organoselênio seguro e bem tolerado (Lynch; Kil, 2009). Inicialmente identificado como um inibidor da inositol monofosfatase, o Ebselen demonstrou potencial como estabilizante de humor. Um estudo indicou que essa substância é capaz de induzir efeitos semelhantes ao do lítio em camundongos, uma característica interessante no tratamento de distúrbios de humor, como o transtorno bipolar (Antoniadou; Kouskou; Arsiwala; Singh *et al.*, 2018). Além disso, o Ebselen demonstrou efeito tipo antidepressivo em animais (Posser; Kaster; Barauna; Rocha *et al.*, 2009). Estudos destacam sua capacidade de cruzar a barreira hematoencefálica, afetar receptores serotoninérgicos, inibir a enzima glutamina sintetase, modular a concentração de mio-inositol no cérebro humano e modular os sistemas noradrenérgico e dopaminérgico (Antoniadou; Kouskou; Arsiwala; Singh *et al.*, 2018; Posser; Kaster; Barauna; Rocha *et al.*, 2009; Singh; Sharpley; Emir; Masaki *et al.*, 2016).

Devido aos efeitos demonstrados pelo Ebselen, outros compostos contendo selênio passaram a ser explorados em pesquisas de base, buscando compreender as aplicações deste átomo unido a estruturas orgânicas nos TDs (Besckow; Nonemacher; Garcia; Da Silva Espindola *et al.*, 2020a; Besckow; Pires; Giehl; Godoi *et al.*, 2023; Da Rocha; Pires; Presa; Besckow *et al.*, 2023; Da Silva Teixeira Rech;

Goncalves Alves; Nornberg Strelow; Devantier Kruger *et al.*, 2021). Para sintetizar compostos inovadores que possam agir nos TDs, foi considerada a criação de novas estruturas orgânicas que possam agir sinergicamente com átomos de selênio, resultando no efeito terapêutico desejado. Neste contexto, o núcleo benzamida foi explorado.

O núcleo benzamida (Figura 6) é um composto aromático bicíclico estruturalmente semelhante ao benzeno com diversas aplicações farmacológicas, tais como analgésicas, anti-inflamatórias, antidepressivas e antioxidantes (Perin; Roskaric; Sovic; Bocek *et al.*, 2018; Sakr; Kothayer; Ibrahim; Baraka *et al.*, 2019; Zhang; Wang; Li; Otani *et al.*, 2023). A sulpirida é o membro mais antigo e clinicamente mais estabelecido das benzamidas, aprovado pela *Food and Drug Administration* para ser utilizado como antipsicótico. Além disso, sua ação como antidepressivo já foi evidenciada em alguns estudos, nos quais é estabelecido o bloqueio do sistema dopaminérgico e uma possível sensibilização dos receptores de DA D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> na região mesolímbica como o principal mecanismo de ação antidepressivo (Kishimoto; Hagi; Kurokawa; Kane *et al.*, 2023; Tsukamoto; Asakura; Tsuneizumi; Satoh *et al.*, 1994; Van Rooijen; Vermeulen; Ruhe; De Haan, 2019).

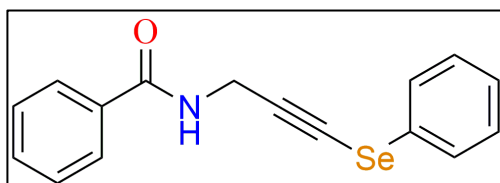
Figura 6 - Estrutura química do núcleo benzamida.



Fonte: Figura do autor.

Assim, a combinação do átomo de selênio com o núcleo benzamida em uma estrutura orgânica parece representar uma estratégia promissora para o desenvolvimento de compostos inovadores nos TDs. De fato, a benzamida N-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB) (Figura 7), um composto que contém essas duas estruturas, vem demonstrando efeito tipo antidepressivo em ensaios pré-clínicos com camundongos (Besckow; Nonemacher; Garcia; Da Silva Espindola *et al.*, 2020a; Besckow; Pires; Giehl; Godoi *et al.*, 2023).

Figura 7 – Estrutura química da benzamida N-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB).



Fonte: Figura do autor.

Em uma primeira avaliação, a SePB demonstrou possuir efeito tipo antidepressivo em camundongos quando avaliados no TNF e no TSC. A SePB induziu um aumento na latência para o primeiro episódio de imobilidade, bem como uma redução no tempo total de imobilidade dos camundongos em ambos os testes, em comparação ao grupo controle (Besckow; Nonemacher; Garcia; Da Silva Espindola *et al.*, 2020a). Este estudo também demonstrou um efeito anti-imobilidade da SePB em camundongos fêmeas no TSC, evidenciando sua ação tipo antidepressiva em ambos os sexos. Além disso, o efeito tipo antidepressivo demonstrado pela SePB foi correlacionado com o sistema serotoninérgico. A depleção de 5-HT em camundongos resultou no bloqueio do efeito tipo antidepressivo causado pelo SePB no TSC, indicando que sua ação terapêutica requer colaboração do sistema serotoninérgico (Besckow; Nonemacher; Garcia; Da Silva Espindola *et al.*, 2020a). A administração de antagonistas dos receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A/2C</sub> e 5-HT<sub>3</sub> em camundongos bloquearam o efeito anti-imobilidade da SePB no TSC, demonstrando que esses receptores estão relacionados à ação tipo antidepressiva da SePB (Besckow; Nonemacher; Garcia; Da Silva Espindola *et al.*, 2020a).

Outro estudo amplia as descobertas anteriores, relacionando o efeito tipo antidepressivo da SePB ao receptor serotoninérgico 5-HT<sub>4</sub>. A administração do antagonista do receptor 5-HT<sub>4</sub>, GR113808, bloqueou o efeito anti-imobilidade demonstrado pelo SePB no TSC em camundongos (Besckow; Pires; Giehl; Godoi *et al.*, 2023). Além disso, a análise de docking revelou uma alta pontuação de docking de -7,9 kcal/mol entre o SePB e o receptor 5-HT<sub>4</sub>, indicando uma forte afinidade e elucidou também as interações intramoleculares entre essas moléculas (Besckow; Pires; Giehl; Godoi *et al.*, 2023).

Em suma, os resultados destes estudos destacam o efeito tipo antidepressivo da SePB em camundongos e exploram que o mecanismo de ação deste efeito parece



dependem do sistema serotoninérgico (Besckow; Nonemacher; Garcia; Da Silva Espindola *et al.*, 2020a; Besckow; Pires; Giehl; Godoi *et al.*, 2023). A combinação do átomo de selênio e do núcleo benzamida na estrutura orgânica da SePB parece ser uma abordagem promissora no tratamento dos TDs. No entanto, são necessários novos estudos para investigar quais outros sistemas de transmissão fazem parte do efeito terapêutico demonstrado pela SePB. Neste contexto, o presente estudo visa avaliar se o efeito tipo antidepressivo da SePB possui contribuição dos sistemas dopaminérgico e noradrenérgico, através da administração de antagonistas específicos para esses sistemas. Essa abordagem busca aprofundar nossa compreensão do mecanismo de ação da SePB, oferecendo insights para o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes e direcionados para os transtornos depressivos.

#### **4 Manuscrito**

A elaboração desta dissertação adota a forma de um manuscrito científico, organizado em seções que incluem: introdução, resultados e discussões, materiais e métodos e conclusão, seguindo as diretrizes estabelecidas pela revista à qual foi submetido. O manuscrito também apresenta material suplementar e *graphical abstract*, conforme as normas editoriais específicas. As referências utilizadas para a composição do manuscrito estão no próprio documento.

## Dopaminergic Modulation and Computational ADMET Insights for the Antidepressant-like Effect of *N*-(3-(Phenylselanyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide

Evelyn Mianes Beschow<sup>1</sup>, Kauane Nayara Bahr Ledebuhr<sup>1</sup>, Camila Simões Pires<sup>1</sup>, Marcia Juciele da Rocha<sup>1</sup>, Natália Emanuele Biolosor Kuntz<sup>2</sup>; Benhur Godoi<sup>2</sup>, Cristiani Folharini Bortolatto<sup>1\*</sup>, César Augusto Brüning<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>*Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Graduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences Center (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel), Pelotas, RS, 96010-900, Brazil.*

<sup>2</sup>*Nucleus of Synthesis and Application of Organic and Inorganic Compounds (NUSAACOI), Federal University of Fronteira Sul (UFFS), Cerro Largo, RS, Brazil.*

\*Corresponding authors:

**Cristiani Folharini Bortolatto** - Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Graduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences Center (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel), Capão do Leão Campus, Pelotas, RS, 96010-900, Brazil. Phone: 55-53-32757355. Electronic address: [cbortolatto@gmail.com](mailto:cbortolatto@gmail.com). ORCID: 0000-0002-9509-4446

**César Augusto Brüning** - Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Graduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences Center (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel), Capão do Leão Campus, Pelotas, RS, 96010-900, Brazil. Phone: 55-53-32757355. Electronic address: [cesar.bruning@ufpel.edu.br](mailto:cesar.bruning@ufpel.edu.br). ORCID: 0000-0003-0814-0203

## Abstract

The compound *N*-(3-(phenylselanyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide (SePB), which combines a selenium atom and a benzamide nucleus in an organic structure, has demonstrated a fast antidepressant-like effect in mice. This action is influenced by the serotonergic system and represents a promising development in the search for novel antidepressant drugs to treat Major Depressive Disorder (MDD), which often resists conventional treatments. This study aimed to further explore the mechanism underlying the antidepressant-like effect of SePB by investigating the involvement of the dopaminergic and noradrenergic systems in the tail suspension test (TST) in mice and evaluating its pharmacokinetic profile *in silico*. Preadministration of the dopaminergic antagonists haloperidol (0.05 mg/kg, intraperitoneally (i.p.)), a non-selective antagonist of dopamine receptors, SCH23390 (0.01 mg/kg, subcutaneously (s.c.)), a D<sub>1</sub> receptor antagonist, and sulpiride (50 mg/kg, i.p.), a D<sub>2/3</sub> receptor antagonist, before SePB (10 mg/kg, intragastrically (i.g.)) prevented the anti-immobility effect of SePB in the TST, demonstrating that these receptors are involved in the antidepressant-like effect of SePB. Administration of the noradrenergic antagonists prazosin (1 mg/kg, i.p.), an  $\alpha_1$ -adrenergic antagonist, yohimbine (1 mg/kg, i.p.), an  $\alpha_2$ -adrenergic antagonist, and propranolol (2 mg/kg, i.p.), a  $\beta$ -adrenergic antagonist, did not block the antidepressant-like effect of SePB on TST, indicating that noradrenergic receptors are not involved in this effect. Additionally, the co-administration of SePB and bupropion (a noradrenaline/dopamine reuptake inhibitor) at sub-effective doses (0.1 and 3 mg/kg, respectively) produced antidepressant-like effects. SePB also demonstrated good oral bioavailability and low toxicity in computational ADMET analyses. These findings suggest that SePB has potential as a new antidepressant drug candidate, with a particular focus on the dopaminergic system.

**Keywords:** Depression; Dopaminergic system; Selenium; SePB; ADMET prediction.

## Introduction

*N*-(3-(phenylselenenyl)prop-2-yn-1-yl) benzamide (SePB, Figure.1) is a synthetic organic compound containing a selenium atom and a benzamide nucleus. Synthetic organic selenium compounds have been recognized for their pharmacological properties, including their antioxidant and analgesic effects <sup>1-3</sup>. Notably, some of these compounds have demonstrated antidepressant effects in preclinical trials <sup>4-7</sup>. At the same time, compounds containing a benzamide nucleus have antioxidant characteristics, anti-inflammatory, analgesic and antidepressant properties <sup>8-11</sup>. The bond between the selenium atom and benzamide nucleus in the chemical structure of SePB has shown promising results in pre-clinical contexts, demonstrating a rapid antidepressant-like effect in male and female mice, with the participation of the serotonergic system through the 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A/2C</sub>, 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>4</sub> receptors <sup>12,13</sup>.

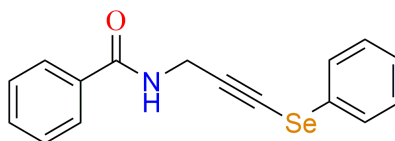


Figure 1. Chemical structure of *N*-(3-(phenylselenenyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide (SePB).

Major Depressive Disorder (MDD) is a diverse mental disorder that involves affective, cognitive, and somatic manifestations <sup>14,15</sup>. Among these manifestations, anhedonia is characterized by a reduced ability to feel pleasure in response to positive stimuli and is associated with the severity of MDD and resistance to conventional antidepressant treatments <sup>16</sup>. In addition, anhedonia is strongly associated with suicide, highlighting the need for specific therapies to mitigate demotivational symptoms <sup>17</sup>.

Dopamine (DA), a monoaminergic neurotransmitter, modulates the reward system <sup>18</sup>. Decreased DA signaling in the mesocorticolimbic pathway of the brain appears to result in demotivational depressive symptoms such as depressed mood, decreased energy, and anhedonia <sup>19,20</sup>. Increasing dopaminergic neurotransmission has been shown to alleviate

depressive symptoms <sup>21</sup>, suggesting that compounds with the ability to modulate the dopaminergic system may hold promise as a more effective treatment for MDD.

In addition, the noradrenergic system has garnered considerable interest as a potential therapeutic target for MDD. Norepinephrine (NE), a monoaminergic neurotransmitter, has been implicated in the pathogenesis of depression due to its dysregulation caused by stress <sup>22</sup>. Notably, NE also exhibits a strong correlation with somatic symptoms of MDD, including pain, muscle tension, body tremors, difficulty breathing, heart palpitations, flushing, fatigue, and sweating <sup>23</sup>. These symptoms can be disabling, underscoring the relevance of modulating the noradrenergic system in cases where they are present.

Given the symptomatic and pathophysiological complexity of MDD, multi-target compounds are being explored as new therapeutic alternatives for this disorder <sup>24</sup>. Therefore, this study investigated the contribution of dopaminergic (D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub>) and noradrenergic ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ , and  $\beta$ ) receptors to the antidepressant-like action of SePB in male mice. However, for a compound to be considered as a potential new drug candidate, it is crucial to explore its pharmacokinetic profile <sup>25</sup>.

In this way, an *in silico* study was performed to predict the pharmacokinetic profile of SePB, including absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity (ADMET) parameters.

## **Results and Discussion**

### **Contribution of the DA system in the antidepressant-like action of SePB**

Demotivational symptoms in MDD, such as depressed mood, decreased energy, and anhedonia, appear to be related to a dysfunction of the dopaminergic system <sup>18</sup>. A clinical study linked the symptoms of anhedonia in patients with depression with decreased DA release signaling in brain regions, such as the putamen, caudate, nucleus accumbens, and pallidum <sup>26</sup>. Patients with anhedonia may present a more severe clinical picture <sup>16</sup>, which is related to resistance to treatment with selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) <sup>27</sup>. Therefore, there

is a clear need for new drugs that can modulate the dopaminergic system. In a mechanistic evaluation of the antidepressant-like effect of SePB, administration of D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, or D<sub>3</sub> receptor antagonists concomitantly with SePB blocked its anti-immobility effect in the tail suspension test (TST) without any change in the locomotor activity in the open-field test (OFT), suggesting that these receptors may be involved in its action. We used TST to assess depression-like symptoms in mice <sup>28</sup>, while the OFT was used to evaluate spontaneous locomotion in mice. Animals with impaired locomotor activity typically exhibit reduced crossing and rearing numbers <sup>29</sup>.

The results depicted in Figure 2 demonstrate that the pretreatment with haloperidol blocked the reduction in the total immobility time interaction [ $F_{(1, 40)} = 5.395$ ,  $p = 0.0254$ ] and the increase in the latency to the first episode of immobility induced by SePB [ $F_{(1, 40)} = 9.849$ ,  $p = 0.0032$ ] in the tail suspension test (TST), showing that the dopaminergic receptors are involved in the antidepressant-like effect of SePB. No differences were observed in the number of crossings [ $F_{(1, 40)} = 2.311$ ,  $p = 0.1364$ ] and rearings [ $F_{(1, 40)} = 0.1902$ ,  $p = 0.6651$ ] among the groups in the open field test (OFT) (Table S1).

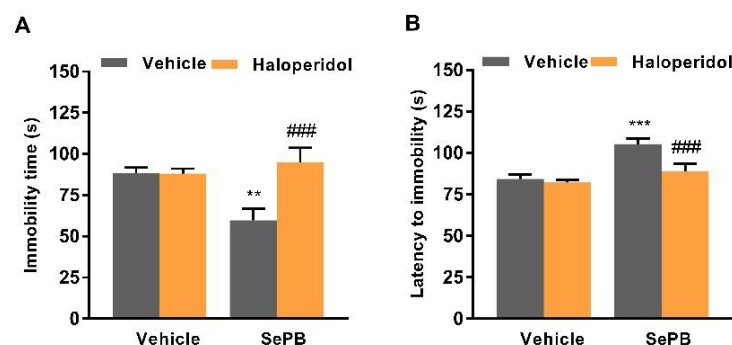


Figure 2. Effect of pretreatment with haloperidol (0.05 mg/kg, i.p.) on the antidepressant-like action of SePB (10 mg/kg, i.g.) in the TST. Panels A and B depict the total immobility time and latency to the first episode of immobility, respectively. Data are presented as mean  $\pm$  S.E.M of 10 - 12 mice per group. (\*\*\*)  $p < 0.001$ , (\*\*)  $p < 0.01$  when compared with the vehicle treated group. (###)  $p < 0.001$  when compared with the SePB treated group (two-way ANOVA followed by Newman-Keuls test).

Figure 3 shows that the administration of SCH23390 in mice effectively abolished the antidepressant-like effect of SePB in the TST, which was observed through an increase in immobility time and a decrease in the latency to immobility compared to the group of mice treated only with SePB. A two-way ANOVA revealed a significant interaction SePB x SCH23390, both in latency and in immobility time [ $F_{(1, 38)} = 18.33$ ,  $p = <0.001$ ;  $F_{(1, 38)} = 12.99$ ,  $p = <0.001$ , respectively]. No differences were observed in the number of crossings [ $F_{(1, 38)} = 3.792$ ,  $p = 0.0589$ ] and rearings [ $F_{(1, 38)} = 2.563$ ,  $p = 0.1177$ ] among the groups in the OFT (Table S2). These results demonstrated the involvement of  $D_1$  receptors in the antidepressant-like effects of SePB.

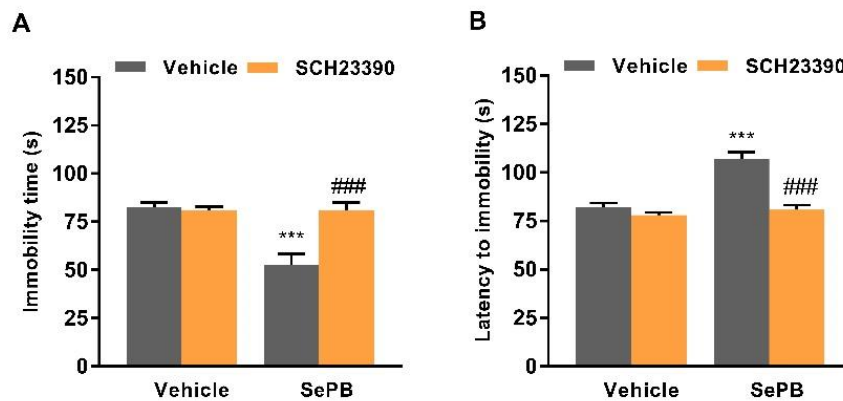


Figure 3. Effect of pretreatment with SCH23390 (0.01 mg/kg, i.p.) on the antidepressant-like action of SePB (10 mg/kg, i.g.) in the TST. Panels A and B depict the total immobility time and latency to the first episode of immobility, respectively. Data are presented as mean  $\pm$  S.E.M of 9 - 12 mice per group. (\*\*\*)  $p < 0.001$  when compared with the vehicle treated group. (###)  $p < 0.001$  when compared with the SePB treated group (two-way ANOVA followed by Newman-Keuls test).

The pretreatment of mice with sulpiride prevented the antidepressant-like effect originating from SePB. Concomitant treatment with SePB and sulpiride resulted in an increase in immobility time and a decrease in latency to immobility compared to the group treated with



SePB alone (Figures 4A and 4B). Two-way ANOVA of both latency and immobility time demonstrated a SePB  $\times$  sulpiride interaction [ $F_{(1, 24)} = 5.097$ ,  $p = 0.033$ ;  $F_{(1, 24)} = 5.257$ ,  $p = 0.031$ , respectively]. The number of crossings and rearings in the OFT were not affected by the treatments [ $F_{(1, 24)} = 1.941$ ,  $p = 0.176$ , and  $F_{(1, 24)} = 0.3086$ ,  $p = 0.5837$ , respectively] (Table S3). These results show that the  $D_{2/3}$  receptors are involved in the antidepressant-like therapeutic action of SePB.

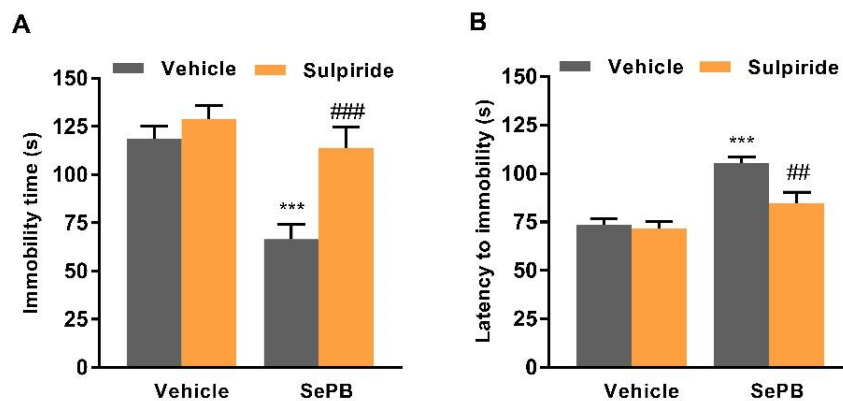


Figure 4. Effect of pretreatment with sulpiride (50 mg/kg, i.p.) on the antidepressant-like action of SePB (10 mg/kg, i.g.) in the TST. Panels A and B depict the total immobility time and latency to the first episode of immobility, respectively. Data are presented as mean  $\pm$  S.E.M of 7 mice per group. (\*\*\*)  $p < 0.001$  when compared with the vehicle treated group. (###)  $p < 0.001$ , (##)  $p < 0.01$  when compared with the SePB treated group (two-way ANOVA followed by Newman-Keuls test).

MDD is a heterogeneous disorder, both in terms of symptoms ranging from anhedonia to cognitive impairment, and pathophysiology, with a combination of genetic, epigenetic, and environmental factors <sup>15,24</sup>. Therefore, it is unlikely that depressive symptoms can be completely controlled by a drug with a single mechanism of action. Pharmacological therapy for MDD is based on medications discovered in the 1960s and the early 1970s, SSRIs, and serotonin-NE reuptake inhibitors (SNRIs) <sup>30</sup>. However, these medications have limitations,

such as a long administration time to obtain a therapeutic effect, and their use is associated with many side effects, including weight gain, sexual dysfunction, dizziness, headache, anxiety, psychosis, and cognitive dysfunction<sup>31,32</sup>.

DA is a monoaminergic neurotransmitter responsible for regulating several functions including mood, motivation, pleasure, and reward<sup>33</sup>. Dopaminergic neurons originating from the nuclei in the brain stem project to several cortical and subcortical brain regions, highlighting the mesocortical, mesolimbic, and nigrostriatal pathways<sup>34</sup>. DA is produced in the cytosol by enzymatic processes catalyzed by tyrosine hydroxylase (TH) and aromatic amino acid decarboxylase (AADC). After synthesis, DA is stored in synaptic vesicles by catecholaminergic neurons using the vesicular monoamine transporter-2<sup>35</sup>.

When DA is released from neuronal vesicles via an action potential, it interacts with postsynaptic or presynaptic metabotropic receptors such as D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, and D<sub>3</sub> receptors<sup>34</sup>. Decreased DA signaling in the mesocortical pathway has been related to MDD, and the stimulation of dopaminergic receptors D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, and D<sub>3</sub> seems to indicate a possible treatment strategy<sup>18</sup>.

A study conducted by Shuto, Kuroiwa, Sotogaku, Kawahara, Oh, Jang, Shin, Ohnishi, Hanada, Miyakawa, Kim, Greengard and Nishi<sup>36</sup> established an association between chronic treatment with fluoxetine, an SSRI class antidepressant, and increased expression of D<sub>1</sub> receptors in the dentate gyrus of mice. However, this treatment alone did not reverse the depressive phenotype induced by restraint stress. The researchers also observed that mice subjected to restraint stress and treated with fluoxetine combined with R(+)-SKF81297, a D<sub>1</sub> receptor agonist, demonstrated a reduced depressive phenotype, as assessed in the TST. These findings indicate that D<sub>1</sub> receptor agonists may play a role as adjunctive therapies to SSRI-class antidepressants, optimizing their pharmacological efficacy.

Another study explored the possibility that acute administration of A77636, a DA D<sub>1</sub> receptor agonist, could result in antidepressant-like behavior in rats in the forced swim test (FST). The results revealed a significant reduction in immobility time in animals treated with

A77636, suggesting that pharmacological modulation of the D<sub>1</sub> receptor by this antagonist induces antidepressant-like effects in rats <sup>37</sup>.

D<sub>2</sub> receptor agonism has also been implicated in antidepressant-like responses. In a study conducted by Fatima, Ahmad, Srivastav, Rizvi and Mondal <sup>38</sup>, a chronic unpredictable mild stress model was used to induce depressive-like behavior in adult rat offspring. The results revealed that treatment with ropinirole, a DA D<sub>2</sub> receptor agonist, effectively reversed this effect. Furthermore, the depressive phenotype induction model resulted in a decrease in TH expression, which was reversed by the treatment. This suggests that stimulation of the DA D<sub>2</sub> receptor may have beneficial effects in MDD treatment. The results also suggest that failures in DA synthesis may contribute to the pathophysiology of MDD.

Cariprazine, a drug that acts as a partial agonist of DA D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> receptors with a preference for D<sub>3</sub>, was effective in attenuating the depressive phenotype in mice subjected to chronic unpredictable mild stress. Chronic treatment with cariprazine reversed the anhedonic behavior induced by unpredictable chronic stress in mice, demonstrating an antidepressant-like effect. However, D<sub>3</sub> knockout mice chronically treated with cariprazine did not show anti-anhedonic behavior, suggesting that the antidepressant-like activity of this drug may be mediated by selective D<sub>3</sub> receptor agonism. This finding demonstrates that the DA D<sub>3</sub> receptor also may represent an interesting target for the treatment of MDD <sup>39</sup>.

Dopaminergic receptors, particularly subtypes D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, and D<sub>3</sub>, may represent new therapeutic targets for the development of therapeutic strategies for the treatment of MDD <sup>37-39</sup>. Furthermore, modulation of the dopaminergic system combined with modulation of other monoamine systems, such as 5-HT, appears to represent an alternative treatment for patients resistant to conventional antidepressant treatments, such as SSRIs <sup>40</sup>. This highlights the importance of compounds with multi-target actions, suggesting that the simultaneous modulation of different neurotransmitter systems may offer more effective and comprehensive approaches for the treatment of MDD <sup>40</sup>.

### **The antidepressant-like effects of SePB are not influenced by noradrenergic antagonists**

The neurobiology of MDD is intricate and involves several mechanisms. Among the monoamines, the deficit of *noradrenaline* (NA) in synaptic transmission has also been considered as one of the key molecular foundations of the physiology of depression<sup>41</sup>. In this way, the possible involvement of noradrenergic system in the antidepressant-like effect of SePB was investigated. Co-administration of SePB and noradrenergic receptor antagonists (prazosin, yohimbine, and propranolol) in mice subjected to TST showed no contribution of  $\alpha_1$ -adrenergic,  $\alpha_2$ -adrenergic, and  $\beta$ -adrenergic receptors to the antidepressant-like effect demonstrated by SePB.

The data obtained from the pretreatment with prazosin are presented in Figure 5. As can be observed, administration of prazosin (1 mg/kg, i.p., an  $\alpha_1$ -adrenergic antagonist) was ineffective in blocking the reduction in immobility behavior [ $F_{(1, 32)} = 0.0014$ ,  $p = 0.9697$ ] and the increase in latency time [ $F_{(1, 32)} = 0.7902$ ,  $p = 0.3807$ ] caused by SePB in the TST. Main effect was detected for SePB treatment in immobility time [ $F_{(1, 32)} = 244.4$ ,  $p < 0.0001$ ] and latency to immobility [ $F_{(1, 32)} = 108.1$ ,  $p < 0.0001$ ]. In the OFT, no statistically significant difference was detected in the number of crossings [ $F_{(1, 32)} = 1.54$ ,  $p = 0.2236$ ] and rearings [ $F_{(1, 32)} = 1.54$ ,  $p = 0.2236$ ;  $F_{(1, 32)} = 0.6932$ ,  $p = 0.4113$ ] among the groups, indicating that the treatments did not lead to any locomotor deficit (Table S4).

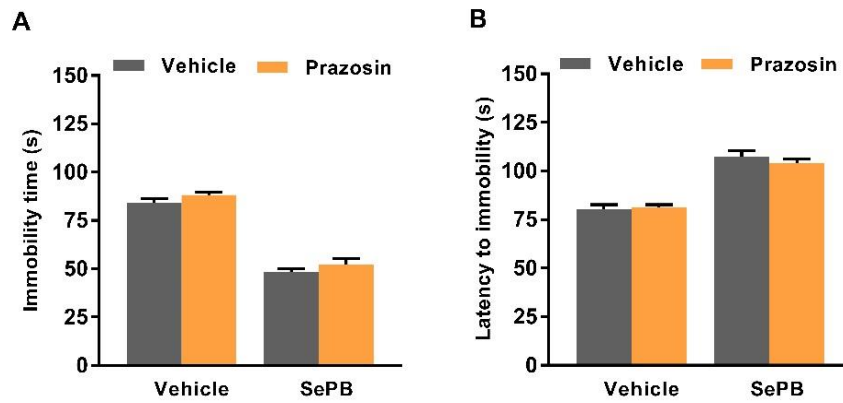


Figure 5. Effect of pretreatment with prazosin (1 mg/kg, i.p.) on the antidepressant-like action of SePB (10 mg/kg, i.g.) in the TST. Panels A and B depict the total immobility time and latency to the first episode of immobility, respectively. Data are presented as mean  $\pm$  S.E.M of 8-10 mice per group.

Our results also demonstrated that pretreatment with yohimbine did not block the antidepressant-like effect of SePB in the immobility and latency time in the TST [ $F_{(1, 41)} = 0.089$ ,  $p = 0.7661$ ;  $F_{(1, 41)} = 0.292$ ,  $p = 0.5918$ , respectively]. The two-way ANOVA revealed a *main effect* of SePB in the immobility time and latency to immobility [ $F_{(1, 41)} = 28.46$ ,  $p < 0.0001$ ;  $F_{(1, 41)} = 70.16$ ,  $p = <0.001$ , respectively] (Figure 6). No significant differences were detected in the number of crossings [ $F_{(1, 32)} = 0.00631$ ,  $p = 0.937$ ] or rearings [ $F_{(1, 32)} = 0.1958$ ,  $p = 0.6611$ ] after pretreatment with yohimbine and SePB (Table S5).

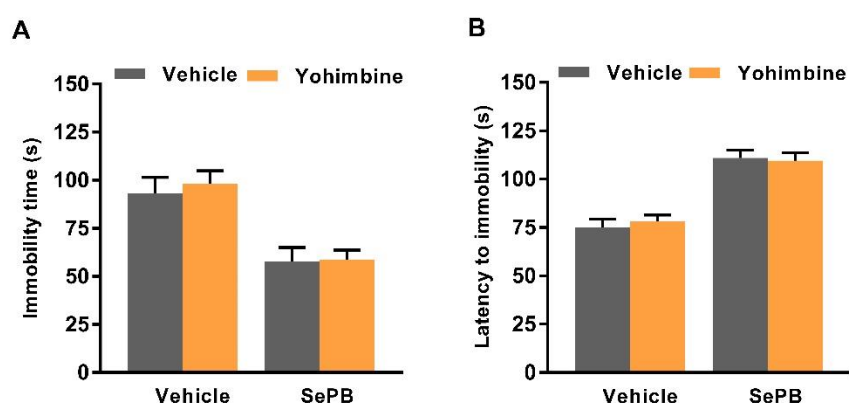


Figure 6. Effect of pretreatment with yohimbine (1 mg/kg, i.p.) on SePB's antidepressant-like action (10 mg/kg, i.g.) in the TST. Panels A and B depict the total immobility time and latency to the first episode of immobility, respectively. Data are presented as mean  $\pm$  S.E.M of 8-11 mice per group.

Figure 7 shows that the administration of propranolol in mice did not block the effect of SePB in the TST. The two-way ANOVA of immobility [ $F_{(1, 33)} = 0.521$ ,  $p = 0.4755$ ] and latency time [ $F_{(1, 33)} = 0.089$ ,  $p = 0.7663$ ] revealed no significant interaction based on the results of the SePB X Propranolol. The two-way ANOVA of immobility time revealed a *main effect* of the compound [ $F_{(1, 33)} = 10.72$ ,  $p = 0.002$ ]. No significant locomotor changes were detected in the number of crossings [ $F_{(1, 33)} = 0.3207$ ,  $p = 0.575$ ] or rearings [ $F_{(1, 33)} = 0.005$ ,  $p = 0.9413$ ] after pretreatment with propranolol and SePB (Table S6).

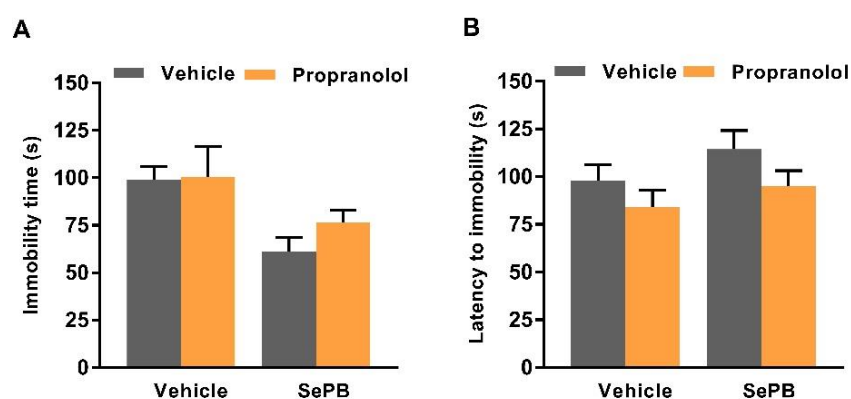


Figure 7. Effect of pretreatment with propranolol (2 mg/kg, i.p.) on the antidepressant-like action of SePB (10 mg/kg, i.g.) in the TST. Panels A and B depict the total immobility time and latency to the first episode of immobility, respectively. Data are presented as mean  $\pm$  S.E.M of 8-10 mice per group.

In conclusion, these results suggest that the acute antidepressant action of SePB in male mice is not associated with  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ , and  $\beta$  noradrenergic receptors, as prazosin, yohimbine, and propranolol failed to reverse the anti-mobility effect caused by SePB in the TST<sup>42,43</sup>.

### Examining the effects of combined sub-therapeutic doses of SePB and bupropion on the behavior of mice that have undergone the TST

A dose-response curve was plotted to identify the subeffective dose of SePB. The results described in Figures 8A and 8B represent the immobility and latency time in the TST, respectively. As identified by one-way ANOVA analysis followed by the Newman-Keuls post hoc test, a higher latency to the first episode of immobility [ $F_{(3,36)} = 13.06$ ,  $p < 0.0001$ ] (Figure 8A) and reduced immobility time [ $F_{(3,36)} = 17.19$ ,  $p < 0.0001$ ] (Figure 8B) were found in mice that received 1 mg/kg, while the dose of 0.5 mg/kg only showed a decrease in immobility, which corresponds to a possible antidepressant effect, but not an increase in latency. In contrast, the mice that received the dose of 0.1 mg/kg did not show statistically significant changes in terms of immobility time and latency to immobility when compared to the control

mice. These results suggest that SePB at a dose of 0.1 mg/kg has no antidepressant-like effect. In the OFT, the groups of mice treated with SePB at all dosages showed no statistically significant changes in the number of crossings [ $F_{(1, 36)} = 0.212$ ,  $p = 0.8874$ ] or rearings [ $F_{(1, 36)} = 0.07096$ ,  $p = 0.9751$ ], ruling out any spontaneous locomotor impairment as a result of the treatment (Table S7).

Based on these results, the subeffective dose of the antidepressant-like therapeutic effect of SePB was identified as 0.1 mg/kg.

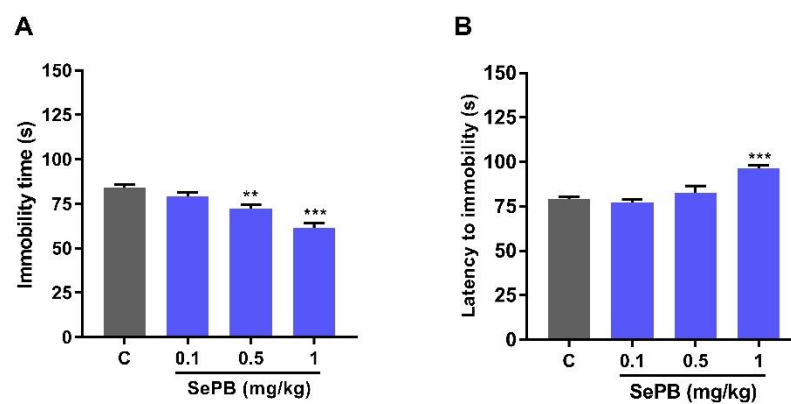


Figure 8. Sub-effective dose curve of SePB (10 mg/kg, i.g.) in the TST. Panels A and B depict the total immobility time and latency to the first episode of immobility, respectively. Data are presented as mean  $\pm$  S.E.M of 10 mice per group. (\*\*)  $p < 0.01$  and (\*\*\*)  $p < 0.001$  when compared with the control group (one-way ANOVA followed by Newman-Keuls test).

To evaluate the synergistic effect between sub-effective doses of SePB and bupropion, mice were treated with SePB (0.1 mg/kg) and bupropion (3 mg/kg, a NA/DA reuptake inhibitor, NDRI), and the immobility behavior of mice in the TST is shown in Figure 9. Two-way ANOVA revealed a significant SePB  $\times$  bupropion interaction in immobility time [ $F_{(1, 45)} = 6.296$ ,  $p = 0.0158$ ] and latency to immobility [ $F_{(1, 45)} = 9.109$ ,  $p = 0.0042$ ] in mice treated with SePB and bupropion at sub-effective doses. SePB and bupropion alone did not alter the immobility time and latency to immobility in the TST, but when administered together they presented an antidepressant-like effect, demonstrated by reduction in the immobility time and increase in



the latency to immobility. The administration of SePB or bupropion did not induce significant locomotion changes in the number of crossings [ $F_{(1, 45)} = 2.452$ ,  $p = 0.1244$ ] and rearings [ $F_{(1, 45)} = 2.884$ ,  $p = 0.0964$ ] (Table S8).

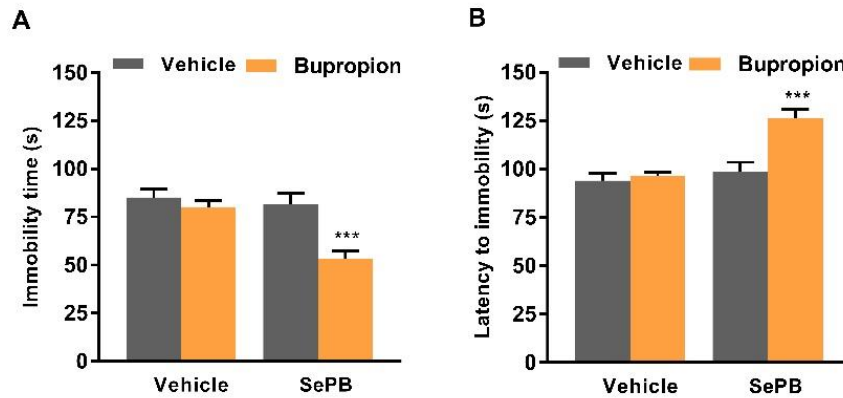


Figure 9. Effects of the co-administration of sub-effective doses of SePB (10 mg/kg, i.g.) and bupropion (3 mg/kg, i.p.) in the TST. Panels A and B depict the total immobility time and latency to the first episode of immobility, respectively. Data are presented as mean  $\pm$  S.E.M of 10 - 12 mice per group. (\*\*\*)  $p < 0.001$  when compared with the SePB treated group (two-way ANOVA followed by Newman-Keuls test).

Bupropion is an NA/DA reuptake inhibitor used to reduce demotivational symptoms and increase responses to anticipation, effort, and reward consumption in patients with MDD <sup>44</sup>. A clinical study identified that depressed patients treated with bupropion had an anhedonia rate of 33%, whereas depressed patients treated with other antidepressants, such as SSRIs, had an anhedonia rate of 46%, suggesting that bupropion is more effective than SSRIs in alleviating symptoms such as anhedonia <sup>45</sup>. The interaction between sub-effective doses of SePB and bupropion resulted in an antidepressant-like effect in mice. This synergistic effect between SePB and bupropion highlight the importance of the dopaminergic system in the antidepressant effect of SePB, making it a promising candidate for the treatment of anhedonia, a common symptom of MDD.

An innovative compound with more than one mechanism of action, such as SePB, is then a promising new antidepressant candidate. Pre-clinical tests have shown that this compound appears to exert an antidepressant-type pharmacological action 30 min after administration <sup>12</sup>, and this fast action may result from its interaction with the 5-HT<sub>4</sub> receptor <sup>13</sup>. The ability to modulate the dopaminergic system demonstrated in our study may qualify this compound as a candidate for treating anhedonic symptoms of MDD. In the future, we intend to evaluate the action of SePB in an animal model of depression using specific behavioral tests to screen for anhedonia, such as the sucrose splash test and sucrose preference test <sup>46</sup>.

#### ***In Silico* Evaluation of Pharmacokinetic Parameters: Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicity (ADMET)**

The *in silico* prediction of ADMET and bioavailability parameters using software allows evaluation of the pharmacokinetic and toxicological profiles of synthetic compounds. This tool facilitates rapid selection of possible drug candidates <sup>47</sup>. Table 1 presents the results predicted by the pkCSM platform regarding the ADMET and bioavailability parameters.

The first pharmacokinetic factor evaluated was absorption. Several parameters were used for this evaluation. The first was the water solubility of SePB, which was found to be -3.086 (log mol/L). For absorption, a compound must be soluble in biological fluids <sup>48</sup>, with a water solubility value greater than -4 and lower than -2 indicating that the molecule is soluble. Thus, our results suggest that SePB is soluble in biological fluids <sup>49</sup>. The second absorption parameter evaluated was the permeability of Caco-2 cells (human colorectal adenocarcinoma cells), to verify whether SePB can permeate intestinal cells <sup>47</sup>. In this test, we found a value of  $1.658 \times 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ , which indicates that the molecule is moderately permeable <sup>47</sup>. Two other absorption parameters were evaluated: intestinal absorption and skin permeability. High intestinal absorption (97.397%) and medium skin permeability (-2.452) were identified <sup>25</sup>. Finally, we evaluated whether SePB could act as a substrate and/or inhibitor of p-glycoprotein and its isoforms. These glycoproteins can prevent drugs from entering the cell or can promote

their elimination <sup>47</sup>. As shown in Table 1, SePB did not interact with p-glycoprotein or its isoforms.

The second pharmacokinetic factor evaluated was the distribution. The volume of distribution (VD<sub>ss</sub>) of SePB was 0.112, indicating better distribution in the plasma than in the tissues <sup>47</sup>. The ability of SePB to penetrate the blood-brain barrier (BB) was assessed, with a value of 0.025. SePB exhibits intermediate penetration, as values greater than 0.3 suggest easy crossing of the blood-brain barrier, and values lower than -1 indicate poor distribution in the brain <sup>50</sup>.

The third pharmacokinetic factor identified was metabolism, which was assessed by evaluating the interaction between SePB and cytochrome P450 enzymes. Table 1 demonstrates that SePB does not seem to possess the potential to inhibit the enzymes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, and CYP3A4 but appears to have the potential to be a substrate of CYP3A4 and an inhibitor of CYP1A2 and CYP2C19. These results suggest that CYP3A4 is involved in SePB metabolism. Additionally, SePB appears to have the potential to inhibit CYP1A2 and CYP2C19 enzymes, which is consistent with the findings of previous research on antidepressant medications, such as SSRIs <sup>51</sup>.

The fourth pharmacokinetic factor was excretion. SePB presented the possibility of being a renal substrate for OCT2, in addition to a low value (1,898 mL/min/kg) of total clearance. Regarding toxicity prediction, SePB obtained a negative result in the AMES test, indicating a non-mutagenic effect. Furthermore, it had a predicted maximum recommended tolerated dose of 0.635 (mg/kg/day) <sup>52</sup>. SePB appears to have the potential to inhibit hERG II, but not hERG I, and was predicted to have an Oral Rat Acute Toxicity (LD<sub>50</sub>) of 1.869 mol/kg and an Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL) of 0.792 mol/kg <sup>53</sup>. The data presented in Table 1 indicates that no cases of hepatotoxicity or skin sensitization were observed in relation to SePB. The T. Pyriformis test revealed a value of 1,776 µg/L for the compound, indicating its potential toxicity (pIGC 50 greater than -0.5 log µg/L) <sup>54</sup>. However, SePB was found to be non-toxic in the Minnow toxicity test <sup>54</sup>. Overall, the *in silico* results suggest that SePB has

good oral bioavailability and a low likelihood of toxicity in various organs and tissues, making it a promising candidate for drug development. Additional animal toxicity studies should be conducted in the future to further investigate the toxicological profile of SePB.

Table 1. *In Silico* ADMET parameters of SePB

Parameters	SePB results	Unit
<b>Absorption</b>		
Water solubility	-3.086	Numeric (log mol/L)
Caco2 permeability	1.658	Numeric (log Papp in 10 <sup>-6</sup> cm/s)
Intestinal absorption	97.397	Numeric (%Absorbed)
Skin Permeability	-2.452	Numeric (log Kp)
P-glycoprotein substrate	No	Categorical (Yes/No)
P-glycoprotein I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
P-glycoprotein II inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
<b>Distribution</b>		
VDssa	0.112	Numeric (log L/kg)
Fraction unbound	0.063	Numeric (Fu)
BBB permeability	0.025	Numeric (log BB)
CNS permeability	-1.264	Numeric (log PS)
<b>Metabolism</b>		
CYP2D6 substrate	No	Categorical (Yes/No)
CYP3A4 substrate	Yes	Categorical (Yes/No)
CYP1A2 inhibitor	Yes	Categorical (Yes/No)
CYP2C19 inhibitor	Yes	Categorical (Yes/No)
CYP2C9 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
CYP2D6 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
CYP3A4 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
<b>Excretion</b>		
Total clearance	1.898	Numeric (log mL/min/kg)
Renal OCT2 substrate	Yes	Categorical (Yes/No)
<b>Toxicity</b>		
AMES toxicity	No	Categorical (Yes/No)
Maximum tolerated dose	0.635	Numeric (log mg/kg/day)
hERG I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)

hERG II inhibitor	Yes	Categorical (Yes/No)
Oral rat acute toxicity	1.869	Numeric (mol/kg)
Oral rat chronic toxicity	0.792	Numeric (log mg/kg_bw/day)
Hepatotoxicity	No	Categorical (Yes/No)
Skin sensitization	No	Categorical (Yes/No)
<i>T. Pyriformis</i> toxicity	1.776	Numeric (log µg/L)
Minnow toxicity	0.669	Numeric (log mM)

---

## Conclusion

The preclinical data presented in this study shed light on the mechanism of action of SePB, a novel compound that combines a benzamide nucleus with a selenium atom in an organic structure and elicits an antidepressant-like effect. The results obtained demonstrated that the DA receptors D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, and D<sub>3</sub> play a crucial role in the therapeutic effect of SePB, whereas noradrenergic receptors  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ , and  $\beta$  do not contribute to this effect. Furthermore, the co-administration of sub-effective doses of bupropion and SePB produced a synergistic antidepressant-like effect in male mice, supporting the hypothesis that the dopaminergic system is involved in the therapeutic effect of SePB. These findings also indicate that SePB may have potential as a pharmacological alternative for treating MDD, particularly in addressing demotivational symptoms such as anhedonia, which are often associated with resistance to conventional antidepressant therapies<sup>17</sup>. *In silico* analysis of the pharmacokinetic profile of SePB revealed that it exhibited acceptable absorption, distribution, and metabolism, with no apparent toxicity. In conclusion, the promising preclinical profile of SePB makes it a potential candidate for the development of new pharmacological therapies for MDD treatment.

## Material and methods

### Animals

Adult male Swiss mice, weighing 25–35 g, were obtained from the Central Bioterium of the Federal University of Pelotas. The animals were housed in a controlled environment in a designated animal facility, with temperature maintained at 22±1 °C and a 12-hour light/12-hour

dark cycle and provided with unlimited access to both water and food. To conduct the experiments, mice were kept in cages without environmental enrichment and randomly divided into different experimental groups (n=7–14 mice per group). The research was performed in accordance with the guidelines and regulations set forth by the UFPel Animal Ethics and Welfare Committee (CEEAA 4903-2017), which is affiliated with the Animal Experiments Control Council (CONCEA) and adheres to the National Institute of Health's Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publications No. 8023, revised in 1978). Every effort was made to decrease the number of animals utilized and to minimize suffering in the experiments.

## Chemicals

The *N*-(3-(phenylselanyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide (SePB, Figure 1) was synthesized and characterized in the Nucleus of Synthesis and Application of Organic and Inorganic Compounds (NUSAACOI) at the Federal University of Fronteira Sul (UFFS), employing the method described by Balbom, Gritzenco, Sperança, Godoi, Alves, Barcellos and Godoi<sup>55</sup>. The <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance (NMR) and <sup>13</sup>CNMR spectra were aligned with the assigned structure, demonstrating their authenticity. The chemical purity of SePB was determined to be 99.9% using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). SePB was dissolved in canola oil and administered by the intragastric (i.g.) route. All other chemicals were obtained from Sigma-Aldrich or standard commercial suppliers. A saline solution 0.9% was used to dissolve SCH23390, haloperidol, prazosin, propranolol, and yohimbine. Sulpiride and bupropion were dissolved in a saline solution 0.9% plus 5% and 2% DMSO, respectively. The administration of drugs was carried out at a consistent volume of 10 ml/kg of body weight.

## Experimental design

The experimental design for the administration of dopaminergic and noradrenergic antagonists is illustrated in Figure 10, with the aim of elucidating the mechanisms underlying the antidepressant-like effects observed with SePB<sup>12,13</sup>. The dose of antagonists was

determined by referring to prior research by carried out by da Silva Teixeira Rech, Goncalves Alves, Nornberg Strelow, Devantier Kruger, Carraro Junior, Dos Santos Neto, Braga, Bruning and Folharini Bortolatto <sup>7</sup>. In accordance with the principle of 3Rs, each mouse was used only once in each experiment. Behavioral tests were carried out during the light cycle, spanning from 9:00 a.m. to 5:00 p.m.

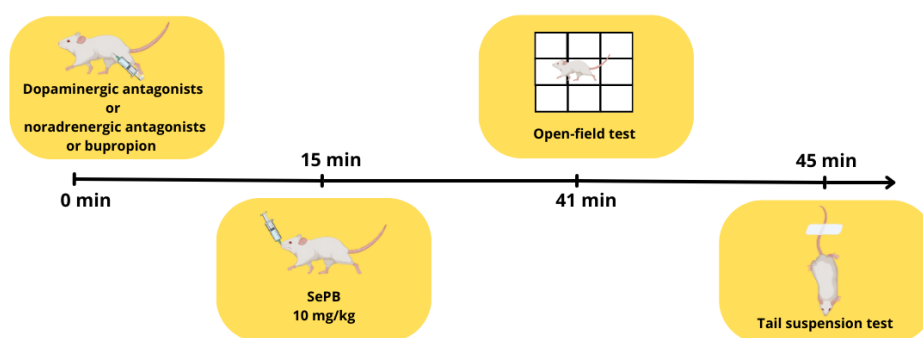


Figure 10. Experimental design illustration to evaluate the involvement of the noradrenergic and dopaminergic antagonists on the acute antidepressant-like action of SePB (10 mg/kg, i.g.) and the co-administration of sub-effective doses of SePB (0.1 mg/kg, i.g.) and bupropion (3 mg/kg, i.p.) in the mouse TST.

### Exploring the role of dopaminergic system in the antidepressant-like effects of SePB in mice

To investigate the role of  $D_1$ ,  $D_2$ , e  $D_3$  -dopaminergic receptors in the antidepressant-like effects of SePB, mice were pre-treated with sulpiride (50 mg/kg, i.p., a selective  $D_{2/3}$  receptor antagonist), SCH23390 (0.01 mg/kg, s.c., a  $D_1$  receptor antagonist), haloperidol (0.05 mg/kg, i.p., a non-selective antagonist of DA receptors), or vehicle (saline solution) <sup>7,56,57</sup>, followed by SePB (10 mg/kg, i.g.) or vehicle (canola oil) administration 15 min later. The animals were subjected to TST 30 min after treatment <sup>12</sup>. To ensure that any changes in locomotor activity did not affect the performance, we conducted the OFT 4 min prior to the TST to assess locomotor activity.

## **Exploring the role of noradrenergic system in the antidepressant-like effects of SePB in mice**

To investigate the role of  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -, and  $\beta$ -noradrenergic receptors in the antidepressant-like effects of SePB, mice were pretreated with prazosin (1 mg/kg, i.p., an  $\alpha_1$ -adrenergic antagonist), yohimbine (1 mg/kg, i.p., an  $\alpha_2$ -adrenergic antagonist), propranolol (2 mg/kg, i.p., a  $\beta$ -adrenergic antagonist), or vehicle (saline solution) <sup>7,42,43</sup>, followed by SePB (10 mg/kg, i.g.) or vehicle (canola oil) administration 15 min later. The animals were subjected to TST 30 min after SePB treatment <sup>12</sup>. To ensure that any changes in locomotor activity did not affect the performance, we conducted the OFT 4 min prior to the TST to assess locomotor activity.

## **Effects of co-administration of sub-effective doses of SePB and bupropion in mice**

Bupropion, a medication classified as an atypical antidepressant, primarily achieves its therapeutic effects through the inhibition of DA and NE reuptake <sup>58</sup>. To provide additional evidence for the DA and/ or noradrenergic hypothesis regarding the antidepressant-like effects of SePB in mice, the study examined the interaction between sub-effective doses of SePB and bupropion in the TST. Initially, a SePB dose-response experiment was conducted to identify a sub-effective dose. In this experiment, SePB was administered at doses of 1, 0.5, 0.1 mg/kg (i.p.) 30 minutes prior to the TST. To assess the interaction between SePB and bupropion, mice were pretreated with a sub-effective dose of bupropion (3 mg/kg, i.p.) or a vehicle (saline), followed by administration of SePB at a sub-effective dose of 0.1 mg/kg (i.g.) or a vehicle, 15 minutes later. Thirty minutes after the administration, the mice were tested in the TST <sup>7,59</sup>. To ensure that any changes in locomotor activity did not affect the performance, we conducted the OFT 4 min prior to the TST to assess locomotor activity.



## ***In Silico* Evaluation of Pharmacokinetic Parameters: Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicity (ADMET)**

*In silico* prediction of absorption, distribution, metabolism, excretion, toxicity (ADMET), was performed in accordance with the methodology proposed by Pires et al. (2015). Initially, the two-dimensional (2D) structure of SePB was drawn using ChemDraw 19.0.0 software and then converted into a SMILE sequence. The SMILES codes were loaded into the pkCSM software (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm>) to predict the ADMET parameters.

### **Behavioral tests**

#### **Tail suspension test**

TST is a behavioral test used to assess depression-like behavior or behavioral despair in mice. This allowed us to assess whether the administration of the dopaminergic and noradrenergic antagonist can inhibit the antidepressant-like effect of SePB. The mice were suspended by their tails at a height of 50 cm above the floor using adhesive tape placed approximately 1 cm from the tail tip. The total immobility time, defined as the absence of escape-oriented behavior, including passive swaying of the body, was manually recorded using a stopwatch for 6 minutes. It is assumed that immobility in this test reflects a measure of behavioral despair; therefore, reductions in immobility indicate antidepressant-like effects. The evaluation was conducted in an acoustically and visually isolated location<sup>60</sup>.

#### **Open-field test**

To evaluate any locomotor and exploratory deficits induced by the compounds and antagonists, the OFT was conducted prior to the TST. Mice were placed in a 30 cm x 40 cm x 40 cm box divided into nine squares for a duration of 4 minutes. During this time, the number of crossings and front paw liftings (or rearings) were recorded<sup>61</sup>.

## Statistical analysis

All analyses were performed using the GraphPad Software (GraphPad, San Diego, CA, USA) and expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). The normal distribution of data was evaluated using D'Agostino and Pearson normality tests. Comparisons among the experimental groups were performed using two-way ANOVA analysis of variance, followed by the Newman-Keuls post hoc test. The independent variables for the two-way ANOVA were SePB (factor 1) and antagonists (factor 2). values lesser than 0.05 ( $p < 0.05$ ) were considered significant.

\*Corresponding authors:

**Cristiani Folharini Bortolatto** - Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Graduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences Center (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel), Capão do Leão Campus, Pelotas, RS, 96010-900, Brazil. Phone: 55-53-32757355. Electronic address: [cbortolatto@gmail.com](mailto:cbortolatto@gmail.com). ORCID: 0000-0002-9509-4446

**César Augusto Brüning** - Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Graduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences Center (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel), Capão do Leão Campus, Pelotas, RS, 96010-900, Brazil. Phone: 55-53-32757355. Electronic address: [cesar.bruning@ufpel.edu.br](mailto:cesar.bruning@ufpel.edu.br). ORCID: 0000-0003-0814-0203

Authors contributions: Synthesis and characterization of SePB: NEBK and BG. Design of experiments: EMB and CAB. Performed the experiments and wrote the original draft preparation: EMB, KNBL, CSP, MJR, and NEBK. Supervision, review, and editing: CAB, BG and CFB.

Declarations of interest: none

Acknowledgements: We gratefully acknowledge UFPel, UFFS (Finance Code 121/GR/UFFS/2021), Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 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. B.G., C.F.B., and C.A.B. are recipients of CNPq fellowship.

## References

1. Birmann PT, Casaril AM, Abenante L, et al. Neuropharmacology of Organoselenium Compounds in Mental Disorders and Degenerative Diseases. *Curr Med Chem*. Jun 15 **2022**;doi:10.2174/0929867329666220615124412
2. Nogueira CW, Barbosa NV, Rocha JBT. Toxicology and pharmacology of synthetic organoselenium compounds: an update. *Arch Toxicol*. Apr **2021**;95(4):1179-1226. doi:10.1007/s00204-021-03003-5
3. Anghinoni JM, Birmann PT, da Rocha MJ, et al. Recent Advances in the Synthesis and Antioxidant Activity of Low Molecular Mass Organoselenium Molecules. *Molecules*. Oct 30 **2023**;28(21)doi:10.3390/molecules28217349
4. da Rocha MJ, Pires CS, Presa MH, et al. Involvement of the serotonergic system in the antidepressant-like effect of 1-(phenylselanyl)-2-(p-tolyl)indolizine in mice. *Psychopharmacology (Berl)*. Feb **2023**;240(2):373-389. doi:10.1007/s00213-023-06313-x
5. Casaril AM, Domingues M, Bampi SR, et al. The selenium-containing compound 3-((4-chlorophenyl)selanyl)-1-methyl-1H-indole reverses depressive-like behavior induced by acute restraint stress in mice: modulation of oxido-nitrosative stress and inflammatory pathway. *Psychopharmacology (Berl)*. Oct **2019**;236(10):2867-2880. doi:10.1007/s00213-018-5151-x

6. Domingues M, Casaril AM, Smaniotto TA, et al. Selanylimidazopyridine abolishes inflammation- and stress-induced depressive-like behaviors by modulating the oxido-nitrosative system. *Eur J Pharmacol.* Jan 5 **2022**;914:174570. doi:10.1016/j.ejphar.2021.174570
7. da Silva Teixeira Rech T, Goncalves Alves A, Nornberg Strelow D, et al. 2-Phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran elicits acute antidepressant-like action in male Swiss mice mediated by modulation of the dopaminergic system and reveals therapeutic efficacy in both sexes. *Psychopharmacology (Berl)*. Oct **2021**;238(10):3013-3024. doi:10.1007/s00213-021-05921-9
8. Perin N, Roskaric P, Sovic I, et al. Amino-Substituted Benzamide Derivatives as Promising Antioxidant Agents: A Combined Experimental and Computational Study. *Chem Res Toxicol.* Sep 17 **2018**;31(9):974-984. doi:10.1021/acs.chemrestox.8b00175
9. Sakr A, Kothayer H, Ibrahim SM, Baraka MM, Rezaq S. 1,4-Dihydroquinazolin-3(2H)-yl benzamide derivatives as anti-inflammatory and analgesic agents with an improved gastric profile: Design, synthesis, COX-1/2 inhibitory activity and molecular docking study. *Bioorg Chem.* Mar **2019**;84:76-86. doi:10.1016/j.bioorg.2018.11.030
10. Zhao Y, Chen J, Liu Q, Li Y. Profiling the Structural Determinants of Aryl Benzamide Derivatives as Negative Allosteric Modulators of mGluR5 by In Silico Study. *Molecules.* Jan 18 **2020**;25(2)doi:10.3390/molecules25020406
11. Zhang L, Wang Y, Li S, Otani S, Chen F. Post-stress Social Interaction and 3-Cyano-N-(1,3-Diphenyl-1H-Pyrazol-5-yl) Benzamide Treatment Attenuate Depressive-like Behavior Induced by Repeated Social Defeat Stress. *Neuroscience.* Dec 15 **2023**;538:11-21. doi:10.1016/j.neuroscience.2023.12.004
12. Besckow EM, Nonemacher NT, Garcia CS, et al. Antidepressant-like effect of a selenopropargylic benzamide in mice: involvement of the serotonergic system. *Psychopharmacology (Berl)*. Oct **2020**;237(10):3149-3159. doi:10.1007/s00213-020-05600-1

13. Besckow EM, Pires CS, Giehl MR, Godoi B, Bortolatto CF, Bruning CA. Pharmacological and computational analysis of the involvement of the 5-HT(4) receptor in the antidepressant-like effect of N-(3-(phenylselanyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide in mice. *Brain Res.* Dec 13 **2023**;1825:148714. doi:10.1016/j.brainres.2023.148714
14. Fried EI, van Borkulo CD, Cramer AO, Boschloo L, Schoevers RA, Borsboom D. Mental disorders as networks of problems: a review of recent insights. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol.* Jan **2017**;52(1):1-10. doi:10.1007/s00127-016-1319-z
15. WHO. *International Classification of Diseases, Eleventh Revision (ICD-11)*. World Health Organization; **2021**.
16. Zimmerman M, Balling C, Chelminski I, Dalrymple K. Understanding the severity of depression: Which symptoms of depression are the best indicators of depression severity? *Compr Psychiatry.* Nov **2018**;87:84-88. doi:10.1016/j.comppsy.2018.09.006
17. Rodrigues NB, McIntyre RS, Lipsitz O, et al. Changes in symptoms of anhedonia in adults with major depressive or bipolar disorder receiving IV ketamine: Results from the Canadian Rapid Treatment Center of Excellence. *J Affect Disord.* Nov 1 **2020**;276:570-575. doi:10.1016/j.jad.2020.07.083
18. Zhao F, Cheng Z, Piao J, Cui R, Li B. Dopamine Receptors: Is It Possible to Become a Therapeutic Target for Depression? *Front Pharmacol.* **2022**;13:947785. doi:10.3389/fphar.2022.947785
19. Rizvi SJ, Lambert C, Kennedy S. Presentation and Neurobiology of Anhedonia in Mood Disorders: Commonalities and Distinctions. *Curr Psychiatry Rep.* Mar 8 **2018**;20(2):13. doi:10.1007/s11920-018-0877-z
20. Mackin D, Nelson B, Klein D. Reward processing and depression: Current findings and future directions. **2021**:425-433. 40.
21. Pytko K, Podkova K, Rapacz A, et al. The role of serotonergic, adrenergic and dopaminergic receptors in antidepressant-like effect. *Pharmacol Rep.* Apr **2016**;68(2):263-74. doi:10.1016/j.pharep.2015.08.007

22. Seki K, Yoshida S, Jaiswal MK. Molecular mechanism of noradrenaline during the stress-induced major depressive disorder. *Neural Regen Res*. Jul **2018**;13(7):1159-1169. doi:10.4103/1673-5374.235019
23. Liu Y, Zhao J, Fan X, Guo W. Dysfunction in Serotonergic and Noradrenergic Systems and Somatic Symptoms in Psychiatric Disorders. *Front Psychiatry*. **2019**;10:286. doi:10.3389/fpsyt.2019.00286
24. Dobrek L, Glowacka K. Depression and Its Phytopharmacotherapy-A Narrative Review. *Int J Mol Sci*. Mar 1 **2023**;24(5)doi:10.3390/ijms24054772
25. Hou T, Wang J, Zhang W, Xu X. ADME evaluation in drug discovery. 7. Prediction of oral absorption by correlation and classification. *J Chem Inf Model*. Jan-Feb **2007**;47(1):208-18. doi:10.1021/ci600343x
26. Phillips RD, Walsh EC, Zurcher NR, et al. Striatal dopamine in anhedonia: A simultaneous [(<sup>11</sup>C)]raclopride positron emission tomography and functional magnetic resonance imaging investigation. *Psychiatry Res Neuroimaging*. Aug 2023;333:111660. doi:10.1016/j.pscychresns.2023.111660
27. Hoflich A, Michenthaler P, Kasper S, Lanzenberger R. Circuit Mechanisms of Reward, Anhedonia, and Depression. *Int J Neuropsychopharmacol*. Feb 1 **2019**;22(2):105-118. doi:10.1093/ijnp/pyy081
28. Stukalin Y, Lan A, Einat H. Revisiting the validity of the mouse tail suspension test: Systematic review and meta-analysis of the effects of prototypic antidepressants. *Neurosci Biobehav Rev*. May **2020**;112:39-47. doi:10.1016/j.neubiorev.2020.01.034
29. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol*. Feb 28 **2003**;463(1-3):3-33. doi:10.1016/s0014-2999(03)01272-x
30. Stachowicz K, Sowa-Kucma M. The treatment of depression - searching for new ideas. *Front Pharmacol*. **2022**;13:988648. doi:10.3389/fphar.2022.988648

31. McCarron RM, Shapiro B, Rawles J, Luo J. Depression. *Ann Intern Med.* May **2021**;174(5):ITC65-ITC80. doi:10.7326/AITC202105180
32. Abdel-Bakky MS, Amin E, Faris TM, Abdellatif AAH. Mental depression: Relation to different disease status, newer treatments and its association with COVID-19 pandemic (Review). *Mol Med Rep.* Dec **2021**;24(6)doi:10.3892/mmr.2021.12479
33. Xu H, Yang F. The interplay of dopamine metabolism abnormalities and mitochondrial defects in the pathogenesis of schizophrenia. *Transl Psychiatry.* Nov 7 **2022**;12(1):464. doi:10.1038/s41398-022-02233-0
34. Schultz W. Getting formal with dopamine and reward. *Neuron.* Oct 10 **2002**;36(2):241-63. doi:10.1016/s0896-6273(02)00967-4
35. Miesenbock G, De Angelis DA, Rothman JE. Visualizing secretion and synaptic transmission with pH-sensitive green fluorescent proteins. *Nature.* Jul 9 **1998**;394(6689):192-5. doi:10.1038/28190
36. Shuto T, Kuroiwa M, Sotogaku N, et al. Obligatory roles of dopamine D1 receptors in the dentate gyrus in antidepressant actions of a selective serotonin reuptake inhibitor, fluoxetine. *Mol Psychiatry.* Jun **2020**;25(6):1229-1244. doi:10.1038/s41380-018-0316-x
37. Desormeaux C, Demars F, Davenas E, Jay TM, Lavergne F. Selective activation of D1 dopamine receptors exerts antidepressant-like activity in rats. *J Psychopharmacol.* Dec **2020**;34(12):1443-1448. doi:10.1177/0269881120959613
38. Fatima M, Ahmad MH, Srivastav S, Rizvi MA, Mondal AC. A selective D2 dopamine receptor agonist alleviates depression through up-regulation of tyrosine hydroxylase and increased neurogenesis in hippocampus of the prenatally stressed rats. *Neurochem Int.* Jun **2020**;136:104730. doi:10.1016/j.neuint.2020.104730
39. Duric V, Banasr M, Franklin T, et al. Cariprazine Exhibits Anxiolytic and Dopamine D3 Receptor-Dependent Antidepressant Effects in the Chronic Stress Model. *Int J Neuropsychopharmacol.* Oct 1 **2017**;20(10):788-796. doi:10.1093/ijnp/pyx038

40. Nunez NA, Joseph B, Pahwa M, et al. Augmentation strategies for treatment resistant major depression: A systematic review and network meta-analysis. *J Affect Disord.* Apr 1 **2022**;302:385-400. doi:10.1016/j.jad.2021.12.134
41. Perez-Caballero L, Torres-Sanchez S, Romero-Lopez-Alberca C, Gonzalez-Saiz F, Mico JA, Berrocoso E. Monoaminergic system and depression. *Cell Tissue Res.* Jul **2019**;377(1):107-113. doi:10.1007/s00441-018-2978-8
42. Can OD, Turan N, Demir Ozkay U, Ozturk Y. Antidepressant-like effect of gallic acid in mice: Dual involvement of serotonergic and catecholaminergic systems. *Life Sci.* Dec 1 **2017**;190:110-117. doi:10.1016/j.lfs.2017.09.023
43. Abreu TM, Monteiro VS, Martins ABS, et al. Involvement of the dopaminergic system in the antidepressant-like effect of the lectin isolated from the red marine alga *Solieria filiformis* in mice. *Int J Biol Macromol.* May 2018;111:534-541. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.12.132
44. Liang S, Wu Y, Hanxiaoran L, Greenshaw AJ, Li T. Anhedonia in Depression and Schizophrenia: Brain Reward and Aversion Circuits. *Neuropsychiatr Dis Treat.* **2022**;18:1385-1396. doi:10.2147/NDT.S367839
45. Goodwin GM, Price J, De Bodinat C, Laredo J. Emotional blunting with antidepressant treatments: A survey among depressed patients. *J Affect Disord.* Oct 15 **2017**;221:31-35. doi:10.1016/j.jad.2017.05.048
46. Hu C, Luo Y, Wang H, et al. Re-evaluation of the interrelationships among the behavioral tests in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *PLoS One.* **2017**;12(9):e0185129. doi:10.1371/journal.pone.0185129
47. Pires DE, Blundell TL, Ascher DB. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *J Med Chem.* May 14 **2015**;58(9):4066-72. doi:10.1021/acs.jmedchem.5b00104
48. Slordal L, Spigset O. [Basic pharmacokinetics--absorption]. *Tidsskr Nor Laegeforen.* Apr 7 **2005**;125(7):886-7. Grunnleggende farmakokinetikk--absorpsjon.



49. Bergstrom CAS, Larsson P. Computational prediction of drug solubility in water-based systems: Qualitative and quantitative approaches used in the current drug discovery and development setting. *Int J Pharm.* Apr 5 **2018**;540(1-2):185-193. doi:10.1016/j.ijpharm.2018.01.044
50. Suenderhauf C, Hammann F, Huwyler J. Computational prediction of blood-brain barrier permeability using decision tree induction. *Molecules.* Aug 31 **2012**;17(9):10429-45. doi:10.3390/molecules170910429
51. Hemeryck A, Belpaire FM. Selective serotonin reuptake inhibitors and cytochrome P-450 mediated drug-drug interactions: an update. *Curr Drug Metab.* Feb **2002**;3(1):13-37. doi:10.2174/1389200023338017
52. Vian M, Raitano G, Roncaglioni A, Benfenati E. In silico model for mutagenicity (Ames test), taking into account metabolism. *Mutagenesis.* Mar 6 **2019**;34(1):41-48. doi:10.1093/mutage/gy045
53. Mazzatorta P, Estevez MD, Coulet M, Schilter B. Modeling oral rat chronic toxicity. *J Chem Inf Model.* Oct **2008**;48(10):1949-54. doi:10.1021/ci8001974
54. Cheng F, Li W, Zhou Y, et al. admetSAR: a comprehensive source and free tool for assessment of chemical ADMET properties. *J Chem Inf Model.* Nov 26 **2012**;52(11):3099-105. doi:10.1021/ci300367a
55. Balbom B, Gritzenco F, Sperança A, et al. Copper-catalyzed Csp-chalcogen bond formation: Versatile approach to N-(3-(organochalcogenyl)prop-2-yn-1-yl)amides. *Tetrahedron.* July **2019**;75(30):4017-4023. doi:10.1016/j.tet.2019.06.031
56. Abbasi-Maleki S, Mousavi Z. Hydroethanolic extract of *Carthamus tinctorius* induces antidepressant-like effects: modulation by dopaminergic and serotonergic systems in tail suspension test in mice. *Iran J Basic Med Sci.* Sep **2017**;20(9):1063-1073. doi:10.22038/IJBMS.2017.9277
57. Wang GL, Wang YP, Zheng JY, Zhang LX. Monoaminergic and aminoacidergic receptors are involved in the antidepressant-like effect of ginsenoside Rb1 in mouse

hippocampus (CA3) and prefrontal cortex. *Brain Res.* Nov 15 2018;1699:44-53. doi:10.1016/j.brainres.2018.05.035

58. Costa R, Oliveira NG, Dinis-Oliveira RJ. Pharmacokinetic and pharmacodynamic of bupropion: integrative overview of relevant clinical and forensic aspects. *Drug Metab Rev.* Aug 2019;51(3):293-313. doi:10.1080/03602532.2019.1620763

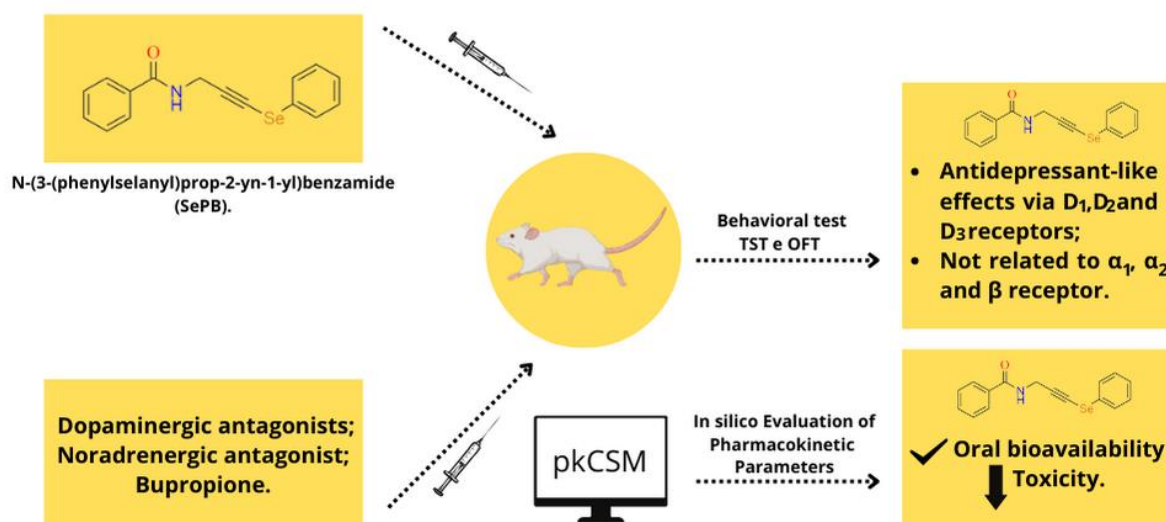
59. Bagdas D, AlSharari S, Roni MA, et al. Blockade of nicotinic acetylcholine receptor enhances the responsiveness to bupropion in the mouse forced swim test. *Behav Brain Res.* Mar 15 2019;360:262-269. doi:10.1016/j.bbr.2018.12.027

60. Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology (Berl).* 1985;85(3):367-70. doi:10.1007/BF00428203

61. Walsh RN, Cummins RA. The Open-Field Test: a critical review. *Psychol Bull.* May 1976;83(3):482-504.

## Graphical abstract

### Dopaminergic Modulation and Computational ADMET Insights for the antidepressant-like effect of *N*-(3-(phenylselanyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide.



## Supporting Information

### Dopaminergic Modulation and Computational ADMET Insights for the antidepressant-like effect of *N*-(3-(phenylselanyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide

Evelyn Mianes Beschow<sup>1</sup>, Kauane Nayara Bahr Ledebuhr<sup>1</sup>, Camila Simões Pires<sup>1</sup>, Marcia Juciele da Rocha<sup>1</sup>, Natália Emanuele Biolosor Kuntz<sup>2</sup>, Benhur Godoi<sup>2</sup>, Cristiani Folharini Bortolatto<sup>1\*</sup>, César Augusto Brüning<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>*Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Graduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences Center (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel), Pelotas, RS, 96010-900, Brazil.*

<sup>2</sup>*Nucleus of Synthesis and Application of Organic and Inorganic Compounds (NUSAACOI), Federal University of Fronteira Sul (UFFS), Cerro Largo, RS, Brazil.*

\* Corresponding authors:

**Cristiani Folharini Bortolatto** - Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Graduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences Center (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel), Capão do Leão Campus, Pelotas, RS, 96010-900, Brazil. Phone: 55-53-32757355. Electronic address: [cbortolatto@gmail.com](mailto:cbortolatto@gmail.com). ORCID: 0000-0002-9509-4446

**César Augusto Brüning** - Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Graduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences Center (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel),

**Table S1. Effect of haloperidol and/or SePB in the open-field test (OFT)**

<b>Groups</b>	<b>Crossings</b>	<b>Rearings</b>
<b>Control</b>	55.45 ± 3.14	32.18 ± 1.57
<b>Haloperidol</b>	56.10 ± 3.22	28.40 ± 2.97
<b>SePB</b>	55.82 ± 3.20	28.09 ± 3.05
<b>SePB + haloperidol</b>	56.10 ± 3.28	28.36 ± 3.12

Haloperidol (0.05 mg/kg, i.p.) was administered 15 min before SePB (10 mg/kg, i.g.) and the OFT was performed 30 min after SePB administration. The number of crossings and rearings are expressed as a mean ± S.E.M of 10 - 12 animals per group.

**Table S2. Effect of SCH23390 and/or SePB in the open-field test (OFT)**

<b>Groups</b>	<b>Crossings</b>	<b>Rearings</b>
<b>Control</b>	63.78 ± 3.56	36.89 ± 2.50
<b>SCH23390</b>	56.56 ± 3.29	32.22 ± 2.32
<b>SePB</b>	62.50 ± 3.56	36.08 ± 2.86
<b>SePB + SCH23390</b>	62.56 ± 3.80	32.22 ± 2.67

SCH23390 (0.01 mg/kg, s.c.) was administered 15 min before SePB (10 mg/kg, i.g.) and the OFT was performed 30 min after SePB administration. The number of crossings and rearings are expressed as a mean ± S.E.M of 9 - 12 animals per group.

**Table S3. Effect of sulpiride and/or SePB in the open-field test (OFT)**

<b>Groups</b>	<b>Crossings</b>	<b>Rearings</b>
<b>Control</b>	67.57 ± 1.00	30.67 ± 3.33
<b>Sulpiride</b>	51.71 ± 1.85	26.00 ± 4.18
<b>SePB</b>	64.71 ± 2.86	32.63 ± 4.16
<b>SePB + sulpiride</b>	51.71 ± 7.10	34.00 ± 4.33

Sulpiride (50 mg/ kg, i.p.) was administered 15 min before SePB (10 mg/kg, i.g.) and the OFT was performed 30 min after SePB administration. The number of crossings and rearings are expressed as a mean ± S.E.M of 7 animals per group.

**Table S4. Effect of Prazosin and/or SePB in the open-field test (OFT)**

<b>Groups</b>	<b>Crossings</b>	<b>Rearings</b>
<b>Control</b>	56.05 ± 2.17	40.63 ± 2.42
<b>Prazosin</b>	58.05 ± 2.04	36.88 ± 1.73
<b>SePB</b>	59.03 ± 2.70	37.70 ± 2.28
<b>SePB + Prazosin</b>	57.50 ± 2.29	36.88 ± 2.42

Prazosin (1 mg/kg, i.p.) was administered 15 min before SePB (10 mg/kg, i.g.) and the OFT was performed 30 min after SePB administration. The number of crossings and rearings are expressed as a mean ± S.E.M of 8-10 animals per group.

**Table S5. Effect of yohimbine and/or SePB in the open-field test (OFT)**

<b>Groups</b>	<b>Crossings</b>	<b>Rearings</b>
<b>Control</b>	52.13 ± 6.23	20.25 ± 4.53
<b>Yohimbine</b>	58.00 ± 6.11	21.80 ± 3.28
<b>SePB</b>	70.67 ± 6.22	28.44 ± 3.37
<b>SePB + yohimbine</b>	58.00 ± 5.89	21.80 ± 3.28

Yohimbine (1 mg/kg, i.p.) was administered 15 min before SePB (10 mg/kg, i.g.) and the OFT was performed 30 min after SePB administration. The number of crossings and rearings are expressed as a mean ± S.E.M of 8-11 animals per group.

**Table S6. Effect of propranolol and/or SePB in the open-field test (OFT)**

<b>Groups</b>	<b>Crossings</b>	<b>Rearings</b>
<b>Control</b>	58.63 ± 9.28	24.78 ± 5.48
<b>Propranolol</b>	67.20 ± 8.77	25.70 ± 5.18
<b>SePB</b>	65.30 ± 9.05	27.30 ± 5.35
<b>SePB + Propranolol</b>	67.20 ± 8.54	25.63 ± 5.49

Propranolol (2 mg/ kg, i.p.) was administered 15 min before SePB (10 mg/kg, i.g.) and the OFT was performed 30 min after SePB administration. The number of crossings and rearings are expressed as a mean ± S.E.M of 8-10 animals per group.

**Table S7. Sub-effective dose curve of SePB in the open-field test (OFT)**

<b>Groups</b>	<b>Crossings</b>	<b>Rearings</b>
<b>Control</b>	55.60 ± 2.66	38.00 ± 2.38
<b>SePB 1 mg/kg</b>	54.40 ± 1.20	38.90 ± 1.00
<b>SePB 0.5 mg/kg</b>	55.70 ± 1.30	39.00 ± 0.60
<b>SePB 0.1 mg/kg</b>	56.50 ± 2.10	38.60 ± 0.40

SePB (1 - 0.1 mg/kg, i.g.) was administered 30 minutes before the OFT. The number of crossings and rearings are expressed as a mean ± S.E.M of 10 animals per group.

**Table S8. Effect of combined sub-therapeutic doses of SePB and bupropion in the open-field test (OFT)**

<b>Groups</b>	<b>Crossings</b>	<b>Rearings</b>
<b>Control</b>	62.64 ± 2.49	34.21 ± 2.33
<b>Bupropion</b>	61.92 ± 1.77	36.25 ± 1.03
<b>SePB</b>	56.92 ± 3.22	31.58 ± 2.63
<b>SePB + bupropion</b>	60.14 ± 5.72	36.55 ± 2.51

Bupropion (3 mg/kg, i.p.) was administered 15 min before SePB (10 mg/kg, i.g.) and the OFT was performed 30 min after SePB administration. The number of crossings and rearings are expressed as a mean ± S.E.M of 11 - 14 animals per group.

## 5 Discussão

Os TDs são condições caracterizadas por episódios recorrentes de sintomas depressivos, apresentando uma etiologia complexa e heterogênea (WHO, 2021). Manifestações frequentes incluem anedonia, sonolência excessiva diurna e intensificação da culpa, causando impacto significativo na qualidade de vida devido à sua natureza debilitante destes sintomas (Malhi; Mann, 2018). A crescente prevalência de resistência a tratamentos farmacológicos, particularmente relacionada ao sintoma de anedonia, que é refratário aos antidepressivos tradicionais, sugere a necessidade de desenvolver novos fármacos antidepressivos (Akil; Gordon; Hen; Javitch *et al.*, 2018).

A anedonia parece estar associada a disfunções dopaminérgicas no sistema de recompensa (Liang; Wu; Hanxiaoran; Greenshaw *et al.*, 2022). Nesse contexto, a modulação do sistema dopaminérgico por compostos específicos emerge como um alvo terapêutico promissor para o desenvolvimento de terapias mais eficazes para os TDs (Zhao; Cheng; Piao; Cui *et al.*, 2022). Além disso, o sistema noradrenérgico também se destaca como um alvo promissor na abordagem terapêutica dos TDs (Seki; Yoshida; Jaiswal, 2018). A NA, um neurotransmissor monoaminérgico, está suscetível a desregulações decorrentes do estresse, sendo implicada na etiologia dos TDs (Liu; Zhao; Fan; Guo, 2019).

Na busca por fármacos inovadores com propriedades antidepressivas, compostos orgânicos contendo selênio têm se destacado ao demonstrarem efeitos promissores em testes pré-clínicos realizados em camundongos (Besckow; Nonemacher; Garcia; Da Silva Espindola *et al.*, 2020a; Besckow; Pires; Giehl; Godoi *et al.*, 2023; Da Rocha; Pires; Presa; Besckow *et al.*, 2023; Da Silva Teixeira Rech; Goncalves Alves; Nornberg Strelow; Devantier Kruger *et al.*, 2021). Um desses compostos, a SePB, exibiu efeito tipo antidepressivo em camundongos machos e fêmeas, associado ao sistema serotoninérgico (Besckow; Nonemacher; Garcia; Da Silva Espindola *et al.*, 2020a; Besckow; Pires; Giehl; Godoi *et al.*, 2023).

Estas descobertas destacam a relevância terapêutica dos compostos contendo selênio, especialmente a SePB, na pesquisa de novos fármacos antidepressivos. Para uma compreensão mais aprofundada do mecanismo de ação da SePB, foram conduzidos testes comportamentais de triagem farmacológica em camundongos, incluindo o TSC e o TCA. Diferentes grupos de camundongos foram submetidos a



tratamentos com antagonistas de receptores noradrenérgicos ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  e  $\beta$ ) antes da administração do SePB.

A análise dos resultados revelou que a coadministração de yohimbina, um antagonista noradrenérgico do receptor  $\alpha_2$ , concomitante com a SePB, não bloqueou o efeito tipo-antidepressivo demonstrado pelos camundongos tratados somente com a SePB. Isso sugere que o receptor adrenérgico  $\alpha_2$  não está associado ao efeito terapêutico demonstrado pela SePB. Da mesma forma, a administração de propranolol, um antagonista noradrenérgico  $\beta$  não seletivo, em conjunto com a SePB, não foi capaz de bloquear o efeito tipo antidepressivo observado no grupo de camundongos tratados apenas com a SePB. Isso sugere que os receptores noradrenérgicos  $\beta$  não parecem desempenhar um papel significativo no mecanismo de ação terapêutica da SePB. Resultados semelhantes foram encontrados para o grupo de animais tratados com prazosina, um antagonista noradrenérgico do receptor  $\alpha_1$ , em conjunto com a SePB. Essa combinação também não conseguiu bloquear o comportamento anti-imobilidade demonstrado pelos camundongos tratados apenas com a SePB, indicando que o receptor  $\alpha_1$  não parece estar envolvido no efeito tipo antidepressivo da SePB.

Os resultados deste estudo indicam que o efeito tipo antidepressivo observado em camundongos não parece ter a contribuição do sistema noradrenérgico. Por outro lado, a administração simultânea de antagonistas dos receptores dopaminérgicos  $D_1$ ,  $D_2$  ou  $D_3$  bloqueou a ação terapêutica da SePB, sugerindo a participação desses receptores no efeito tipo antidepressivos do composto.

O pré-tratamento com haloperidol, um antagonista dopaminérgico não seletivo, demonstrou eficácia em bloquear a redução do tempo total de imobilidade induzido pela SePB. Esses resultados sugerem o possível envolvimento do sistema dopaminérgico no efeito tipo antidepressivos da SePB. Para investigar quais receptores dopaminérgicos estão envolvidos na ação tipo antidepressiva da SePB, camundongos foram tratados com sulpirida, um antagonista dopaminérgico dos receptores  $D_{2/3}$ , em conjunto com a SePB. Essa administração também bloqueou o efeito tipo antidepressivo da SePB, resultando em um aumento no tempo de imobilidade total em comparação com o grupo tratado apenas com a SePB. Esses resultados indicam a possível participação dos receptores  $D_{2/3}$  no efeito terapêutico demonstrado pela SePB. A administração de SCH23390, um antagonista dos

receptores D<sub>1</sub>, bloqueou o efeito tipo antidepressivo da SePB. A interação estatisticamente significativa entre SePB e SCH23390 destaca a contribuição dos receptores D<sub>1</sub> no efeito tipo antidepressivos da SePB. No TCA, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos tratados com sulpirida, SCH23390 e haloperidol em relação ao número de cruzamentos e levantamentos, indicando que esses tratamentos não afetaram a atividade locomotora espontânea dos animais.

Ao longo desta dissertação, foi discutido a importância dos receptores dopaminérgicos como promissores alvos terapêuticos para os TDs. Uma ênfase foi dedicada à análise de agonistas dos receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub>, demonstrando o papel significativo que esses receptores desempenham nos mecanismos subjacentes aos TDs (Desormeaux; Demars; Davenas; Jay *et al.*, 2020; Duric; Banasr; Franklin; Lepack *et al.*, 2017; Fatima; Ahmad; Srivastav; Rizvi *et al.*, 2020; Zhao; Cheng; Piao; Cui *et al.*, 2022). A associação entre esses receptores e os efeitos terapêuticos tipo antidepressivo demonstrado em animais, destaca o potencial inovador desses alvos no desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes e direcionadas para abordar as complexidades dos TDs (Desormeaux; Demars; Davenas; Jay *et al.*, 2020; Duric; Banasr; Franklin; Lepack *et al.*, 2017; Fatima; Ahmad; Srivastav; Rizvi *et al.*, 2020). Nesse sentido, a SePB emerge como um composto promissor para o desenvolvimento de novas terapias farmacológicas para os TDs, uma vez que seu efeito tipo antidepressivo parece ser mediados pela modulação dos receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub>.

Este trabalho também avaliou se a coadministração de uma dose subefetiva de bupropiona, um inibidor de recaptção de NA/DA e SePB resultam em um efeito tipo antidepressivo. Para isso, foi construída uma curva para encontrar a dose subefetiva da SePB. Os camundongos submetidos às doses de 0,5 mg/kg e 1 mg/kg de SePB apresentaram aumento na latência para o primeiro episódio de imobilidade. Contudo, apenas os camundongos tratados com a dose de 1 mg/kg exibiram uma redução significativa no tempo total de imobilidade em comparação com os camundongos do grupo controle. A dose de 0,1 mg/kg não demonstrou efeito tipo-antidepressivo em camundongos no TST, sendo escolhida como a dose subefetiva da SePB.

A coadministração de SePB e bupropiona resultou em uma diminuição significativa no tempo de imobilidade e um aumento na latência para a imobilidade em camundongos, caracterizando um efeito tipo antidepressivo sinérgico. A bupropiona,

frequentemente prescrita quando outros antidepressivos, como os ISRSs, não alcançam os resultados desejados, atua como um inibidor da recaptação de NE e DA (Liang; Wu; Hanxiaoran; Greenshaw *et al.*, 2022). O efeito sinérgico observado com a bupropiona reforça que o efeito terapêutico da SePB está relacionado ao sistema dopaminérgico. Esses resultados também sugerem que a SePB pode ser uma opção útil para pacientes com TDs, refratários aos fármacos convencionais.

Por fim, este estudo realizou uma previsão de parâmetros farmacocinéticos e de biodisponibilidade da SePB através do software pkCSM. Para ocorrer uma absorção satisfatória, um composto deve ser solúvel em água e possuir permeabilidade intestinal. A SePB apresentou um valor de solubilidade maior que  $-4$  e menor que  $-2$ , sugerindo boa solubilidade em fluidos biológicos (Bergstrom; Larsson, 2018). Além disso, a SePB apresentou alta absorção intestinal (97,397%). Ser permeável à barreira hematoencefálica é uma característica farmacocinética crítica na avaliação e no desenvolvimento de medicamentos antidepressivos. A SePB apresentou penetração intermediária na barreira hematoencefálica, indicando capacidade de atuar nos receptores localizados no SNC.

Em relação ao metabolismo, observou-se que a SePB parece atuar como substrato da enzima CYP3A4, além de apresentar potencial inibitório sobre a atividade da CYP1A2 e da CYP2C19. As enzimas do citocromo P450 desempenham um papel fundamental na metabolização de uma ampla gama de medicamentos (Zhao; Ma; Li; Zhang *et al.*, 2021). A coadministração de fármacos que são substratos, indutores ou inibidores dessas enzimas pode ocasionar alterações significativas na concentração plasmática dos compostos, resultando em efeitos terapêuticos diminuídos ou aumentados, além de possíveis eventos adversos (Mcdonnell; Dang, 2013). O conhecimento de que a SePB é metabolizada pela CYP3A4, possibilita uma melhor previsão e compreensão das interações medicamentosas que podem surgir quando este composto é utilizado em conjunto com outros fármacos que também interagem com a CYP3A4.

Em relação a excreção, foi encontrado um valor baixo de depuração total, sugerindo que o composto pode apresentar uma taxa lenta de eliminação. Os resultados toxicológicos *in silico* da SePB sugerem características não mutagênicas, ausência de hepatotoxicidade e ausência de sensibilização cutânea, indicando possuir baixa toxicidade. Essas observações, obtidas por meio de simulações

computacionais, sugerem um potencial promissor para a SePB como candidato novo fármaco.

A SePB demonstrou possuir ação tipo antidepressivo mediada pelos sistemas dopaminérgico e serotoninérgico (Besckow; Nonemacher; Garcia; Da Silva Espíndola et al., 2020a; Besckow; Pires; Giehl; Godoi et al., 2023). Esses dois sistemas de neurotransmissores desempenham papéis cruciais na regulação do humor, motivação e emoções, sendo frequentemente disfuncionais em indivíduos com transtornos depressivos (Xu; Yang, 2022; Jauhar; Cowen; Browning, 2023). A serotonina, por exemplo, está associada à regulação do humor, sono e apetite (Michely; Eldar; Martin; Dolan, 2020), enquanto a dopamina desempenha um papel essencial na motivação, recompensa e prazer (Xu; Yang, 2022). Portanto, um composto com potencial antidepressivo que possa atuar na modulação desses sistemas pode ser uma alternativa inovadora para tratar os mecanismos disfuncionais subjacentes à depressão (Xu; Yang, 2022; Jauhar; Cowen; Browning, 2023). Além disso, a ação simultânea nos sistemas dopaminérgico e serotoninérgico pode oferecer uma abordagem multialvo mais abrangente e eficaz, especialmente em casos de resistência ao tratamento, onde a resposta aos antidepressivos convencionais pode ser limitada (Dobrek; Glowacka, 2023).

## 6 Conclusão

Os resultados deste estudo indicaram que o efeito tipo antidepressivo da SePB está associado à modulação dos receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub>, enquanto o sistema noradrenérgico parece não desempenhar um papel significativo. A coadministração de SePB e bupropiona demonstrou um efeito sinérgico, contribuindo para a associação do sistema dopaminérgico com o efeito terapêutico demonstrado pela SePB. Além disso, a análise farmacocinética *in silico* apontou características favoráveis para a SePB, destacando seu potencial como candidato promissor para o desenvolvimento de novos fármacos antidepressivos.

Os TDs, caracterizados por sua heterogeneidade, apresentam desafios consideráveis na abordagem terapêutica, ressaltando as limitações dos tratamentos convencionais com antidepressivos. Nesse cenário, a SePB surge como um composto promissor a ser explorado. Contudo, ainda são necessárias investigações adicionais para aprofundar a compreensão do mecanismo de ação da SePB, visando fornecer *insights* mais abrangentes sobre sua propriedade tipo antidepressiva.

## **7 Perspectivas**

Nossas perspectivas incluem analisar o efeito do tipo antidepressivo da SePB em um modelo animal de depressão induzido por lipopolissacarídeo (LPS) e investigar se a administração da SePB é capaz de prevenir as alterações neuroinflamatórias causadas pela administração do LPS. Adicionalmente, pretendemos avaliar a possível contribuição dos sistemas glutamatérgico e adenosinérgico na ação tipo antidepressiva da SePB.

## Referências

- ADMON, R.; KAISER, R. H.; DILLON, D. G.; BELTZER, M. *et al.* Dopaminergic Enhancement of Striatal Response to Reward in Major Depression. **Am J Psychiatry**, 174, n. 4, p. 378-386, Apr 1 2017.
- AKIL, H.; GORDON, J.; HEN, R.; JAVITCH, J. *et al.* Treatment resistant depression: A multi-scale, systems biology approach. **Neurosci Biobehav Rev**, 84, p. 272-288, Jan 2018.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Depressive Disorders. *In: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. Washington DC,, 2013. v. 5th, p. 155-184.
- ANTONIADOU, I.; KOUSKOU, M.; ARSIWALA, T.; SINGH, N. *et al.* Ebselen has lithium-like effects on central 5-HT(2A) receptor function. **Br J Pharmacol**, 175, n. 13, p. 2599-2610, Jul 2018.
- ATHIRA, K. V.; BANDOPADHYAY, S.; SAMUDRALA, P. K.; NAIDU, V. G. M. *et al.* An Overview of the Heterogeneity of Major Depressive Disorder: Current Knowledge and Future Prospective. **Curr Neuropharmacol**, 18, n. 3, p. 168-187, 2020.
- BATHINA, S.; DAS, U. N. Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications. **Arch Med Sci**, 11, n. 6, p. 1164-1178, Dec 10 2015.
- BELUJON, P.; GRACE, A. A. Dopamine System Dysregulation in Major Depressive Disorders. **Int J Neuropsychopharmacol**, 20, n. 12, p. 1036-1046, Dec 1 2017.
- BERGSTROM, C. A. S.; LARSSON, P. Computational prediction of drug solubility in water-based systems: Qualitative and quantitative approaches used in the current drug discovery and development setting. **Int J Pharm**, 540, n. 1-2, p. 185-193, Apr 5 2018.
- BESCKOW, E. M.; NONEMACHER, N. T.; GARCIA, C. S.; DA SILVA ESPINDOLA, C. N. *et al.* Antidepressant-like effect of a selenopropargylic benzamide in mice: involvement of the serotonergic system. **Psychopharmacology (Berl)**, 237, n. 10, p. 3149-3159, Oct 2020a.
- BESCKOW, E. M.; PIRES, C. S.; GIEHL, M. R.; GODOI, B. *et al.* Pharmacological and computational analysis of the involvement of the 5-HT(4) receptor in the antidepressant-like effect of N-(3-(phenylselanyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide in mice. **Brain Res**, 1825, p. 148714, Dec 13 2023.
- BILLINGS, A. G.; CRONKITE, R. C.; MOOS, R. H. Social-environmental factors in unipolar depression: comparisons of depressed patients and nondepressed controls. **J Abnorm Psychol**, 92, n. 2, p. 119-133, May 1983.
- BORSINI, A.; WALLIS, A. S. J.; ZUNSZAIN, P.; PARIANTE, C. M. *et al.* Characterizing anhedonia: A systematic review of neuroimaging across the subtypes of reward processing deficits in depression. **Cogn Affect Behav Neurosci**, 20, n. 4, p. 816-841, Aug 2020.

BRAVO, L.; LLORCA-TORRALBA, M.; BERROCOSO, E.; MICO, J. A. Monoamines as Drug Targets in Chronic Pain: Focusing on Neuropathic Pain. **Front Neurosci**, 13, p. 1268, 2019.

BRYDA, E. C. The Mighty Mouse: the impact of rodents on advances in biomedical research. **Mo Med**, 110, n. 3, p. 207-211, May-Jun 2013.

CAN, A.; DAO, D. T.; TERRILLION, C. E.; PIANTADOSI, S. C. *et al.* The tail suspension test. **J Vis Exp**, n. 59, p. e3769, Jan 28 2012.

CARVALHO, A. F.; SHARMA, M. S.; BRUNONI, A. R.; VIETA, E. *et al.* The Safety, Tolerability and Risks Associated with the Use of Newer Generation Antidepressant Drugs: A Critical Review of the Literature. **Psychother Psychosom**, 85, n. 5, p. 270-288, 2016.

COPPEN, A. The biochemistry of affective disorders. **Br J Psychiatry**, 113, n. 504, p. 1237-1264, Nov 1967.

COX, J.; WITTEN, I. B. Striatal circuits for reward learning and decision-making. **Nat Rev Neurosci**, 20, n. 8, p. 482-494, Aug 2019.

DA ROCHA, M. J.; PIRES, C. S.; PRESA, M. H.; BESCKOW, E. M. *et al.* Involvement of the serotonergic system in the antidepressant-like effect of 1-(phenylselanyl)-2-(p-tolyl)indolizine in mice. **Psychopharmacology (Berl)**, 240, n. 2, p. 373-389, Feb 2023.

DA SILVA TEIXEIRA RECH, T.; GONCALVES ALVES, A.; NORNBERG STRELOW, D.; DEVANTIER KRUGER, L. *et al.* 2-Phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran elicits acute antidepressant-like action in male Swiss mice mediated by modulation of the dopaminergic system and reveals therapeutic efficacy in both sexes. **Psychopharmacology (Berl)**, 238, n. 10, p. 3013-3024, Oct 2021.

DESORMEAUX, C.; DEMARS, F.; DAVENAS, E.; JAY, T. M. *et al.* Selective activation of D1 dopamine receptors exerts antidepressant-like activity in rats. **J Psychopharmacol**, 34, n. 12, p. 1443-1448, Dec 2020.

DOBREK, L.; GLOWACKA, K. Depression and Its Phytopharmacotherapy-A Narrative Review. **Int J Mol Sci**, 24, n. 5, Mar 1 2023.

DU, X.; YIN, M.; YUAN, L.; ZHANG, G. *et al.* Reduction of depression-like behavior in rat model induced by ShRNA targeting norepinephrine transporter in locus coeruleus. **Transl Psychiatry**, 10, n. 1, p. 130, May 4 2020.

DURIC, V.; BANASR, M.; FRANKLIN, T.; LEPACK, A. *et al.* Cariprazine Exhibits Anxiolytic and Dopamine D3 Receptor-Dependent Antidepressant Effects in the Chronic Stress Model. **Int J Neuropsychopharmacol**, 20, n. 10, p. 788-796, Oct 1 2017.

FATIMA, M.; AHMAD, M. H.; SRIVASTAV, S.; RIZVI, M. A. *et al.* A selective D2 dopamine receptor agonist alleviates depression through up-regulation of tyrosine



hydroxylase and increased neurogenesis in hippocampus of the prenatally stressed rats. **Neurochem Int**, 136, p. 104730, Jun 2020.

FINK, L. H.; ANASTASIO, N. C.; FOX, R. G.; RICE, K. C. *et al.* Individual Differences in Impulsive Action Reflect Variation in the Cortical Serotonin 5-HT<sub>2A</sub> Receptor System. **Neuropsychopharmacology**, 40, n. 8, p. 1957-1968, Jul 2015.

FLOHE, L.; GUNZLER, W. A.; SCHOCK, H. H. Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. **FEBS Lett**, 32, n. 1, p. 132-134, May 15 1973.

GARATTINI, S.; GRIGNASCHI, G. Animal testing is still the best way to find new treatments for patients. **Eur J Intern Med**, 39, p. 32-35, Apr 2017.

GIBBS, R. A.; WEINSTOCK, G. M.; METZKER, M. L.; MUZNY, D. M. *et al.* Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. **Nature**, 428, n. 6982, p. 493-521, Apr 1 2004.

GUILLIN, O. M.; VINDRY, C.; OHLMANN, T.; CHAVATTE, L. Selenium, Selenoproteins and Viral Infection. **Nutrients**, 11, n. 9, Sep 4 2019.

HAJHASHEMI, V.; BANAFSHE, H. R.; MINAIYAN, M.; MESDAGHINIA, A. *et al.* Antinociceptive effects of venlafaxine in a rat model of peripheral neuropathy: role of alpha<sub>2</sub>-adrenergic receptors. **Eur J Pharmacol**, 738, p. 230-236, Sep 5 2014.

HALL, C. S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **J Comp Psychol**, 18, n. 3, p. 385–403, 1934.

HENNINGSEN, P. Management of somatic symptom disorder. **Dialogues Clin Neurosci**, 20, n. 1, p. 23-31, Mar 2018.

HOFlich, A.; MICHENTHALER, P.; KASPER, S.; LANZENBERGER, R. Circuit Mechanisms of Reward, Anhedonia, and Depression. **Int J Neuropsychopharmacol**, 22, n. 2, p. 105-118, Feb 1 2019.

HUI, Y.; DU, C.; XU, T.; ZHANG, Q. *et al.* Dopamine D(4) receptors in the lateral habenula regulate depression-related behaviors via a pre-synaptic mechanism in experimental Parkinson's disease. **Neurochem Int**, 140, p. 104844, Nov 2020.

JAUHAR, S.; COWEN, P. J.; BROWNING, M. Fifty years on: Serotonin and depression. **J Psychopharmacol**, 37, n. 3, p. 237-241, Mar 2023.

KISHIMOTO, T.; HAGI, K.; KUROKAWA, S.; KANE, J. M. *et al.* Efficacy and safety/tolerability of antipsychotics in the treatment of adult patients with major depressive disorder: a systematic review and meta-analysis. **Psychol Med**, 53, n. 9, p. 4064-4082, Jul 2023.

KLEINSTAUBER, M.; WITTHOFT, M.; STEFFANOWSKI, A.; VAN MARWIJK, H. *et al.* Pharmacological interventions for somatoform disorders in adults. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 11, p. CD010628, Nov 7 2014.

KRAEUTER, A. K.; GUEST, P. C.; SARNYAI, Z. The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. **Methods Mol Biol**, 1916, p. 99-103, 2019.

KRISHNAN, V.; NESTLER, E. J. The molecular neurobiology of depression. **Nature**, 455, n. 7215, p. 894-902, Oct 16 2008.

KUMAR, P.; GOER, F.; MURRAY, L.; DILLON, D. G. *et al.* Impaired reward prediction error encoding and striatal-midbrain connectivity in depression. **Neuropsychopharmacology**, 43, n. 7, p. 1581-1588, Jun 2018.

LEGGIO, G. M.; SALOMONE, S.; BUCOLO, C.; PLATANIA, C. *et al.* Dopamine D(3) receptor as a new pharmacological target for the treatment of depression. **Eur J Pharmacol**, 719, n. 1-3, p. 25-33, Nov 5 2013.

LEISTNER, C.; MENKE, A. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and stress. **Handb Clin Neurol**, 175, p. 55-64, 2020.

LI, L.; FENG, X.; ZHOU, Z.; ZHANG, H. *et al.* Stress Accelerates Defensive Responses to Looming in Mice and Involves a Locus Coeruleus-Superior Colliculus Projection. **Curr Biol**, 28, n. 6, p. 859-871 e855, Mar 19 2018.

LI, X.; FRYE, M. A.; SHELTON, R. C. Review of pharmacological treatment in mood disorders and future directions for drug development. **Neuropsychopharmacology**, 37, n. 1, p. 77-101, Jan 2012.

LIANG, S.; WU, Y.; HANXIAORAN, L.; GREENSHAW, A. J. *et al.* Anhedonia in Depression and Schizophrenia: Brain Reward and Aversion Circuits. **Neuropsychiatr Dis Treat**, 18, p. 1385-1396, 2022.

LIU, Y.; ZHAO, J.; FAN, X.; GUO, W. Dysfunction in Serotonergic and Noradrenergic Systems and Somatic Symptoms in Psychiatric Disorders. **Front Psychiatry**, 10, p. 286, 2019.

LIU, Y.; ZHAO, J.; GUO, W. Emotional Roles of Mono-Aminergic Neurotransmitters in Major Depressive Disorder and Anxiety Disorders. **Front Psychol**, 9, p. 2201, 2018.

LYNCH, E.; KIL, J. Development of Ebselen, a Glutathione Peroxidase Mimic, for the Prevention and Treatment of Noise-Induced Hearing Loss. **Thieme Medical Publishers**, 30, n. 1, p. 047-055, 2009.

MACHLITT-NORTHEN, S.; KEERS, R.; MUNROE, P. B.; HOWARD, D. M. *et al.* Gene-Environment Correlation over Time: A Longitudinal Analysis of Polygenic Risk Scores for Schizophrenia and Major Depression in Three British Cohorts Studies. **Genes (Basel)**, 13, n. 7, Jun 24 2022.

MACKIN, D.; NELSON, B.; KLEIN, D. Reward processing and depression: Current findings and future directions. p. 425-433, 40.

MAES, M.; BOSMANS, E.; SUY, E.; VANDERVORST, C. *et al.* Immune disturbances during major depression: upregulated expression of interleukin-2 receptors. **Neuropsychobiology**, 24, n. 3, p. 115-120, 1990.

MALHI, G. S.; BELL, E.; MORRIS, G.; HAMILTON, A. The delay in response to antidepressant therapy: A window of opportunity? *Aust N Z J Psychiatry*, 54, n. 2, p. 127-129, Feb 2020.

MALHI, G. S.; MANN, J. J. Depression. **Lancet**, 392, n. 10161, p. 2299-2312, Nov 24 2018.

MAYORGA, A. J.; LUCKI, I. Limitations on the use of the C57BL/6 mouse in the tail suspension test. **Psychopharmacology (Berl)**, 155, n. 1, p. 110-112, Apr 2001.

MCDONNELL, A. M.; DANG, C. H. Basic review of the cytochrome p450 system. *J Adv Pract Oncol*, 4, n. 4, p. 263-268, Jul 2013.

MCGRATH, T.; BASKERVILLE, R.; ROGERO, M.; CASTELL, L. Emerging Evidence for the Widespread Role of Glutamatergic Dysfunction in Neuropsychiatric Diseases. **Nutrients**, 14, n. 5, Feb 22 2022.

MCKIN, D. L.; OLINO, T. M.; PORTA, G.; DIETZ, L. J. *et al.* Anhedonia predicts poorer recovery among youth with selective serotonin reuptake inhibitor treatment-resistant depression. **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry**, 51, n. 4, p. 404-411, Apr 2012.

MIESENBOCK, G.; DE ANGELIS, D. A.; ROTHMAN, J. E. Visualizing secretion and synaptic transmission with pH-sensitive green fluorescent proteins. **Nature**, 394, n. 6689, p. 192-195, Jul 9 1998.

MISHRA, A.; SINGH, S.; SHUKLA, S. Physiological and Functional Basis of Dopamine Receptors and Their Role in Neurogenesis: Possible Implication for Parkinson's disease. **J Exp Neurosci**, 12, p. 1179069518779829, 2018.

MOGHADDAM, A.; HELLER, R. A.; SUN, Q.; SEELIG, J. *et al.* Selenium Deficiency Is Associated with Mortality Risk from COVID-19. **Nutrients**, 12, n. 7, Jul 16 2020.

MORAGA-AMARO, R.; GONZALEZ, H.; PACHECO, R.; STEHBERG, J. Dopamine receptor D3 deficiency results in chronic depression and anxiety. **Behav Brain Res**, 274, p. 186-193, Nov 1 2014.

MOUSE GENOME SEQUENCING, C.; WATERSTON, R. H.; LINDBLAD-TOH, K.; BIRNEY, E. *et al.* Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. **Nature**, 420, n. 6915, p. 520-562, Dec 5 2002.

MICHELY, J.; ELDAR, E.; MARTIN, I. M.; DOLAN, R. J. A mechanistic account of serotonin's impact on mood. **Nat Commun**, 11, n. 1, p. 2335, May 11 2020.

NABER, D.; BULLINGER, M. Should antidepressants be used in minor depression? **Dialogues Clin Neurosci**, 20, n. 3, p. 223-228, Sep 2018.

NAGAI, T.; YOSHIMOTO, J.; KANNON, T.; KURODA, K. *et al.* Phosphorylation Signals in Striatal Medium Spiny Neurons. **Trends Pharmacol Sci**, 37, n. 10, p. 858-871, Oct 2016.

NESTLER, E. J.; HYMAN, S. E. Animal models of neuropsychiatric disorders. **Nat Neurosci**, 13, n. 10, p. 1161-1169, Oct 2010.

NUNES, P. V.; NASCIMENTO, C. F.; KIM, H. K.; ANDREAZZA, A. C. *et al.* Low brain-derived neurotrophic factor levels in post-mortem brains of older adults with depression and dementia in a large clinicopathological sample. **J Affect Disord**, 241, p. 176-181, Dec 1 2018.

PAPP, M.; GRUCA, P.; LASON, M.; NIEMCZYK, M. *et al.* The role of prefrontal cortex dopamine D2 and D3 receptors in the mechanism of action of venlafaxine and deep brain stimulation in animal models of treatment-responsive and treatment-resistant depression. **J Psychopharmacol**, 33, n. 6, p. 748-756, Jun 2019.

PENNER-GOEKE, S.; BINDER, E. B. Epigenetics and depression<sup>[P SEP]</sup> **Dialogues Clin Neurosci**, 21, n. 4, p. 397-405, Dec 2019.

PERIN, N.; ROSKARIC, P.; SOVIC, I.; BOCEK, I. *et al.* Amino-Substituted Benzamide Derivatives as Promising Antioxidant Agents: A Combined Experimental and Computational Study. **Chem Res Toxicol**, 31, n. 9, p. 974-984, Sep 17 2018.

PORSOLT, R. D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, 266, n. 5604, p. 730-732, Apr 21 1977.

POSSER, T.; KASTER, M. P.; BARAUNA, S. C.; ROCHA, J. B. *et al.* Antidepressant-like effect of the organoselenium compound ebselen in mice: evidence for the involvement of the monoaminergic system. **Eur J Pharmacol**, 602, n. 1, p. 85-91, Jan 5 2009.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **Eur J Pharmacol**, 463, n. 1-3, p. 3-33, Feb 28 2003.

RAMAKER, M. J.; DULAWA, S. C. Identifying fast-onset antidepressants using rodent models. **Mol Psychiatry**, 22, n. 5, p. 656-665, May 2017.

RANJBAR-SLAMLOO, Y.; FAZLALI, Z. Dopamine and Noradrenaline in the Brain; Overlapping or Dissociate Functions? **Front Mol Neurosci**, 12, p. 334, 2019.

REINEN, J. M.; WHITTON, A. E.; PIZZAGALLI, D. A.; SLIFSTEIN, M. *et al.* Differential reinforcement learning responses to positive and negative information in unmedicated individuals with depression. **Eur Neuropsychopharmacol**, 53, p. 89-100, Dec 2021.

RHIE, S. J.; JUNG, E. Y.; SHIM, I. The role of neuroinflammation on pathogenesis of affective disorders. **J Exerc Rehabil**, 16, n. 1, p. 2-9, Feb 2020.

RHO, H. J.; KIM, J. H.; LEE, S. H. Function of Selective Neuromodulatory Projections in the Mammalian Cerebral Cortex: Comparison Between Cholinergic and Noradrenergic Systems. **Front Neural Circuits**, 12, p. 47, 2018.

RIZVI, S. J.; LAMBERT, C.; KENNEDY, S. Presentation and Neurobiology of Anhedonia in Mood Disorders: Commonalities and Distinctions. **Curr Psychiatry Rep**, 20, n. 2, p. 13, Mar 8 2018.

ROCHA, J. B. T.; PICCOLI, B. C.; OLIVEIRA, A. S. Biological and chemical interest in selenium: a brief historical account. **The Free Internet Journal for Organic Chemistry**, ii, p. 457-491, 2017.

ROUSSEAU, G. Depression's forgotten genealogy: notes towards a history of depression. **Hist Psychiatry**, 11, n. 41 Pt 1, p. 71-106, Mar 2000.

RUSSO, S. J.; NESTLER, E. J. The brain reward circuitry in mood disorders. **Nat Rev Neurosci**, 14, n. 9, p. 609-625, Sep 2013.

SAHU, M. K.; DUBEY, R. K.; CHANDRAKAR, A.; KUMAR, M. *et al.* A systematic review and meta-analysis of serum and plasma cortisol levels in depressed patients versus control. **Indian J Psychiatry**, 64, n. 5, p. 440-448, Sep-Oct 2022.

SAKR, A.; KOTHAYER, H.; IBRAHIM, S. M.; BARAKA, M. M. *et al.* 1,4-Dihydroquinazolin-3(2H)-yl benzamide derivatives as anti-inflammatory and analgesic agents with an improved gastric profile: Design, synthesis, COX-1/2 inhibitory activity and molecular docking study. **Bioorg Chem**, 84, p. 76-86, Mar 2019.

SAMPAIO, T. B.; BILHERI, F. N.; ZENI, G. R.; NOGUEIRA, C. W. Dopaminergic system contribution to the antidepressant-like effect of 3-phenyl-4-(phenylseleno) isoquinoline in mice. **Behav Brain Res**, 386, p. 112602, May 27 2020.

SAUNDERS, B. T.; RICHARD, J. M.; MARGOLIS, E. B.; JANAK, P. H. Dopamine neurons create Pavlovian conditioned stimuli with circuit-defined motivational properties. **Nat Neurosci**, 21, n. 8, p. 1072-1083, Aug 2018.

SCHULTZ, W. Getting formal with dopamine and reward. **Neuron**, 36, n. 2, p. 241-263, Oct 10 2002.

SCHWARZ, K.; FOLTZ, C. M. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. 1951. **Nutrition**, 15, n. 3, p. 255, Mar 1999.

SCHWARZ, L. A.; LUO, L. Organization of the locus coeruleus-norepinephrine system. **Curr Biol**, 25, n. 21, p. R1051-R1056, Nov 2 2015.

SEKI, K.; YOSHIDA, S.; JAISWAL, M. K. Molecular mechanism of noradrenaline during the stress-induced major depressive disorder. **Neural Regen Res**, 13, n. 7, p. 1159-1169, Jul 2018.

SHARPLEY, A. L.; WILLIAMS, C.; HOLDER, A. A.; GODLEWSKA, B. R. *et al.* A phase 2a randomised, double-blind, placebo-controlled, parallel-group, add-on clinical trial of ebselen (SPI-1005) as a novel treatment for mania or hypomania. **Psychopharmacology (Berl)**, 237, n. 12, p. 3773-3782, Dec 2020.

SHUTO, T.; KUROIWA, M.; SOTOGAKU, N.; KAWAHARA, Y. *et al.* Obligatory roles of dopamine D1 receptors in the dentate gyrus in antidepressant actions of a selective serotonin reuptake inhibitor, fluoxetine. **Mol Psychiatry**, 25, n. 6, p. 1229-1244, Jun 2020.

SIMON, G. E.; VONKORFF, M.; PICCINELLI, M.; FULLERTON, C. *et al.* An international study of the relation between somatic symptoms and depression. **N Engl J Med**, 341, n. 18, p. 1329-1335, Oct 28 1999.

SINGH, N.; SHARPLEY, A. L.; EMIR, U. E.; MASAKI, C. *et al.* Effect of the Putative Lithium Mimetic Ebselen on Brain Myo-Inositol, Sleep, and Emotional Processing in Humans. **Neuropsychopharmacology**, 41, n. 7, p. 1768-1778, Jun 2016.

SOARES-CUNHA, C.; DE VASCONCELOS, N. A. P.; COIMBRA, B.; DOMINGUES, A. V. *et al.* Nucleus accumbens medium spiny neurons subtypes signal both reward and aversion. **Mol Psychiatry**, 25, n. 12, p. 3241-3255, Dec 2020.

STERU, L.; CHERMAT, R.; THIERRY, B.; SIMON, P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology (Berl)**, 85, n. 3, p. 367-370, 1985.

STROSBURG, A. D. Structure, function, and regulation of adrenergic receptors. **Protein Sci**, 2, n. 8, p. 1198-1209, Aug 1993.

SUN, B.; TANK, A. W. c-Fos is essential for the response of the tyrosine hydroxylase gene to depolarization or phorbol ester. **J Neurochem**, 85, n. 6, p. 1421-1430, Jun 2003.

TANAKA, M.; YOSHIDA, M.; EMOTO, H.; ISHII, H. Noradrenaline systems in the hypothalamus, amygdala and locus coeruleus are involved in the provocation of anxiety: basic studies. **Eur J Pharmacol**, 405, n. 1-3, p. 397-406, Sep 29 2000.

TAYLOR, W. D.; ZALD, D. H.; FELGER, J. C.; CHRISTMAN, S. *et al.* Influences of dopaminergic system dysfunction on late-life depression. **Mol Psychiatry**, 27, n. 1, p. 180-191, Jan 2022.

THIELE, S.; SORENSEN, A.; WEIS, J.; BRAUN, F. *et al.* Deep Brain Stimulation of the Medial Forebrain Bundle in a Rodent Model of Depression: Exploring Dopaminergic Mechanisms with Raclopride and Micro-PET. **Stereotact Funct Neurosurg**, 98, n. 1, p. 8-20, 2020.

TORRES-BERRIO, A.; ISSLER, O.; PARISE, E. M.; NESTLER, E. J. Unraveling the epigenetic landscape of depression: focus on early life stress. **Dialogues Clin Neurosci**, 21, n. 4, p. 341-357, Dec 2019.

TSUKAMOTO, T.; ASAKURA, M.; TSUNEIZUMI, T.; SATOH, Y. *et al.* Therapeutic effects and side effects in patients with major depression treated with sulpiride once a day. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, 18, n. 3, p. 615-618, May 1994.

VAN ROOIJEN, G.; VERMEULEN, J. M.; RUHE, H. G.; DE HAAN, L. Treating depressive episodes or symptoms in patients with schizophrenia. **CNS Spectr**, 24, n. 2, p. 239-248, Apr 2019.

VINKERS, C. H.; JOELS, M.; MILANESCHI, Y.; KAHN, R. S. *et al.* Stress exposure across the life span cumulatively increases depression risk and is moderated by neuroticism. **Depress Anxiety**, 31, n. 9, p. 737-745, Sep 2014.

WANG, Q.; TIMBERLAKE, M. A., 2nd; PRALL, K.; DWIVEDI, Y. The recent progress in animal models of depression. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, 77, p. 99-109, Jul 3 2017.

WATSON-WILLIAMS, E. A Preliminary Note on the Treatment of Inoperable Carcinoma with Selenium. **Br Med J**, 2, n. 3067, p. 463-464, Oct 11 1919.

WEBER, K.; GIANNAKOPOULOS, P.; HERRMANN, F. R.; BARTOLOMEI, J. *et al.* Stressful life events and neuroticism as predictors of late-life versus early-life depression. **Psychogeriatrics**, 13, n. 4, p. 221-228, Dec 2013.

WHO. Depression. 2019.

WHO. **International Classification of Diseases, Eleventh Revision (ICD-11)**. World Health Organization, 2019/2021 2021.

XU, H.; YANG, F. The interplay of dopamine metabolism abnormalities and mitochondrial defects in the pathogenesis of schizophrenia. **Transl Psychiatry**, 12, n. 1, p. 464, Nov 7 2022.

YANG, L.; ZHAO, Y.; WANG, Y.; LIU, L. *et al.* The Effects of Psychological Stress on Depression. **Curr Neuropharmacol**, 13, n. 4, p. 494-504, 2015.

YANKELEVITCH-YAHAV, R.; FRANKO, M.; HULY, A.; DORON, R. The forced swim test as a model of depressive-like behavior. **J Vis Exp**, n. 97, Mar 2 2015.

ZHANG, L.; WANG, Y.; LI, S.; OTANI, S. *et al.* Post-stress Social Interaction and 3-Cyano-N-(1,3-Diphenyl-1H-Pyrazol-5-yl) Benzamide Treatment Attenuate Depressive-like Behavior Induced by Repeated Social Defeat Stress. **Neuroscience**, 538, p. 11-21, Dec 15 2023.

ZHAO, F.; CHENG, Z.; PIAO, J.; CUI, R. *et al.* Dopamine Receptors: Is It Possible to Become a Therapeutic Target for Depression? **Front Pharmacol**, 13, p. 947785, 2022.

ZHAO, Y.; CHEN, J.; LIU, Q.; LI, Y. Profiling the Structural Determinants of Aryl Benzamide Derivatives as Negative Allosteric Modulators of mGluR5 by In Silico Study. **Molecules**, 25, n. 2, Jan 18 2020.

ZHAO, M.; MA, J.; LI, M.; ZHANG, Y. et al. Cytochrome P450 Enzymes and Drug Metabolism in Humans. **Int J Mol Sci**, 22, n. 23, Nov 26 2021.

ZIMMERMAN, M.; BALLING, C.; CHELMINSKI, I.; DALRYMPLE, K. Understanding the severity of depression: Which symptoms of depression are the best indicators of depression severity? **Compr Psychiatry**, 87, p. 84-88, Nov 2018.



## **ANEXOS**

## ANEXO A - Carta de aprovação no Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA)



PARECER N°  
PROCESSO N°

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
**115/2019/CEEA/REITORIA**  
23110.035234/2019-44

Certificado

Certificamos que a solicitação de adendo a proposta intitulada “**Avaliação do potencial farmacológico de benzamidas selenopropargílicas em modelos de dor e depressão em camundongos**”, processo n° 23110.035234/2019-44, sob a responsabilidade de César Augusto Brünig - 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 n° 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n° 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 execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de **07 de outubro de 2019**.

Finalidade	( x ) Pesquisa ( ) Ensino
Vigência da autorização	15/09/2017 a 15/09/2020
Espécie/linhagem/raça	<i>Mus musculus</i> /Swiss
N° de animais	640
Idade	60 dias (25g a 35g)
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central - UFPel

Código para cadastro n° **CEEA 4903-2017**