

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**

**Centro de Desenvolvimento Tecnológico**

**Curso de Biotecnologia**



**Trabalho de Conclusão de Curso**

**Avaliação do efeito antinociceptivo da benzamida N-3-(fenilselenil)prop -2-in-1-  
ílica em camundongos**

**Kauane Nayara Bahr Ledebuhr**

**Pelotas, 2019**

**Kauane Nayara Bahr Ledebuhr**

**Avaliação do efeito antinociceptivo da benzamida N-3-(fenilselenil) prop -2-in-1-  
ílica em camundongos**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Centro de Desenvolvimento  
Tecnológico da Universidade Federal de  
Pelotas, como requisito parcial à obtenção do  
título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: César Augusto Brüning

Pelotas, 2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

L473a Ledebuhr, Kauane Nayara Bahr

Avaliação do efeito antinociceptivo da benzamida N--  
-(fenilselenil)prop -2-in-1-ílica em camundongos / Kauane  
Nayara Bahr Ledebuhr ; César Augusto Brüning, orientador.  
— Pelotas, 2019.

74 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em  
Biotecnologia) — Centro de Desenvolvimento Tecnológico,  
Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. Dor. 2. Antinociceção. 3. Benzamida. 4. Selênio. I.  
Brüning, César Augusto, orient. II. Título.

CDD : 615.704

Kauane Nayara Bahr Ledebuhr

Avaliação do efeito antinociceptivo da benzamida N-3-(fenilselenil) prop -2-in-1-ílica em camundongos

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 22 de novembro de 2019

Banca examinadora:

---

Prof. Dr. César Augusto Brüning (Orientador).

Doutor em Bioquímica Toxicológica pela Universidade Federal de Santa Maria.

---

Prof. Dra. Mayara Sandrielly Pereira Soares.

Doutora em Bioquímica e Bioprospecção pela Universidade Federal de Pelotas.

---

Me. Luiza Spohr.

Mestre em Bioquímica e Bioprospecção pela Universidade Federal de Pelotas.

**Dedico este trabalho e a minha graduação, a Rozane Beatris Bahr Ledebuhr e a Gederson Luis Bergmann Ledebuhr, meus pais, que dedicaram a vida a mim e merecem o mundo. Por todo o apoio e amor. Palavras nunca serão o suficiente para agradecer.**

## Agradecimentos

Aos meus pais, Rozane Beatris Bahr Ledebuhr e Gederson Luis Bergmann Ledebuhr, a quem dedico este TCC, pois sem eles nada disso seria possível. Obrigada por serem meus guias e a luz da minha vida. Amo vocês.

Aos meus irmãos, Karen e Kássio, que me deram todo amor e companheirismo necessário nesta caminhada, e conseguiram me fazer sorrir, mesmo em meio a tantas complicações.

Aos demais familiares, que nunca deixaram de me apoiar e acreditar no meu potencial.

Ao meu namorado, Wilians, que esteve ao meu lado em todos os momentos e trouxe paz para o meu cotidiano, e se fez essencial nesta trajetória.

Ao Bailey, meu pequeno coelhinho, que não me deixou sozinha um só dia, e me deu todo o seu amor. Que me acalentou nos meus piores momentos e comemorou comigo os meus melhores momentos.

Aos meus demais animais de estimação, em especial ao meu cachorro Escube *in memoriam* (que foi a essência da minha saudade e ainda é), que me mantiveram ciente que devemos aproveitar os bons momentos.

Aos meus colegas de laboratório, que me ensinaram com paciência e se tornaram excelentes amigos. Desejo o melhor a todos.

Ao meu orientador César Brüning, devido a toda compreensão e apoio em todos os momentos.

Aos meus amigos, em especial aos amigos feitos durante a graduação e que se tornaram uma segunda família, por todo o carinho.

Aos meus professores, por todo o conhecimento transmitido.

E a todos os demais, que contribuíram direta ou indiretamente na minha formação e realização deste sonho, o meu muito obrigado.

*“Quando acordei hoje de manhã, eu sabia quem eu era, mas acho que já mudei muitas vezes desde então.”*

*- Alice no país das maravilhas, Lewis Carroll – 1865.*

## Resumo

LEDEBUHR, Kauane Nayara Bahr. **Avaliação do efeito antinociceptivo da benzamida N-3-(fenilselenil) prop -2-in-1-ílica em camundongos.** 2019. 70f. Trabalho de conclusão de curso – Graduação em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas.

A dor é descrita como “sensação sensorial desagradável e experiência emocional associada a dano tecidual real ou potencial”, e apesar dos avanços na obtenção de novos fármacos para o controle da dor, os tratamentos disponíveis ainda não são totalmente eficazes e apresentam diversos efeitos adversos. Por este motivo, há uma necessidade de obtenção de novos compostos analgésicos, e aplicação de terapias eficazes e seguras. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito antinociceptivo da benzamida N-3-(fenilselenil) prop-2-in-1-ílica (BS), em modelos de dor em camundongos. Este composto possui o elemento selênio, o qual possui diversos benefícios já comprovados na saúde humana e o núcleo benzamida, presente em alguns medicamentos já bem colocados no mercado. Para esse estudo, foram utilizados camundongos machos Swiss adultos pesando entre 25 e 30 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Inicialmente foi realizada uma curva de tempo-resposta no teste da imersão da cauda e posteriormente uma curva de dose-resposta nos testes de imersão da cauda, chapa quente e glutamato. Em todos os testes realizados, foi cronometrado o tempo para a resposta de nocicepção do animal. Para a curva de tempo-resposta, os animais receberam 10 mg/kg da BS, diluída em óleo de canola, ou apenas o veículo, quando se tratava do grupo controle, por via intragástrica, 15 minutos, 30 minutos, 1 hora ou 2 horas antes da realização do teste de imersão da cauda. Nas curvas de dose-resposta, foram utilizadas as doses de 1 mg/kg, 10 mg/kg e 50 mg/kg do composto diluído em óleo de canola, administradas aos animais por via intragástrica 30 minutos antes dos testes nociceptivos. Na curva de tempo-resposta, a BS aumentou a latência para a resposta nociceptiva no teste de imersão da cauda a partir do tempo de 30 minutos, o qual foi escolhido para os posteriores testes de nocicepção. Na curva de dose-resposta, realizada no teste de imersão da cauda, a BS aumentou a latência para a resposta nociceptiva em todas as doses testadas. Nos testes da chapa quente e glutamato na pata, a BS aumentou a latência para nocicepção a partir da dose de 10 mg/kg. No teste de campo aberto foi possível observar que a BS não alterou a atividade locomotora dos animais. Estes resultados demonstram que a BS apresentou efeito antinociceptivo e mediante estudos que demonstrem seu mecanismo de ação e investigue sua toxicidade, esta molécula poderia ser indicada como uma possível alternativa terapêutica para a dor.

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



## Abstract

LEDEBUHR, Kauane Nayara Bahr. **Evaluation of the antinociceptive effect of benzamide N-3- (phenylselenyl) prop -2-yn-1-silica in mice.** 2019. 70f. Course conclusion work - Biotechnology Degree, Technological Development Center, Federal University of Pelotas.

Pain is described as “unpleasant sensory sensation and emotional experience associated with actual or potential tissue damage,” and despite advances in obtaining new pain control drugs, available treatments are not yet fully effective and have several adverse effects. For this reason, there is a need to obtain new analgesic compounds, and to apply effective and safe therapies. Thus, the present study aimed to evaluate the antinociceptive effect of benzamide N-3- (phenylselenyl) prop-2-in-1-silica (BS) in mouse pain models. This compound has the element selenium, which has several proven benefits to human health and a benzamide moiety, present in some drugs already well placed on the market. For this study, adult Swiss male mice weighing between 25 and 30 g from the Central Biottery of the Federal University of Pelotas were used. Initially a time-response curve was performed in the tail immersion test and later a dose-response curve in the tail immersion, hot plate and glutamate tests. In all tests performed, the time for the animal's nociception response was timed. For the time-response curve, the animals received 10 mg / kg BS, diluted in canola oil, or just the vehicle, when it was the control group, intragastrically 15 minutes, 30 minutes, 1 hour or 2. hours before the tail immersion test. For dose response curves, doses of 1 mg / kg, 10 mg / kg and 50 mg / kg of compound diluted in canola oil were administered intragastrically 30 minutes before nociceptive testing. In the time-response curve, BS increased the latency for the nociceptive response in the tail immersion test from 30 minutes, which was chosen for subsequent nociception tests. In the dose response curve, performed in the tail immersion test, BS increased the latency for nociceptive response at all doses tested. In the hot plate and paw glutamate tests, BS increased the nociception latency from the 10 mg / kg dose. In the open field test, it was possible to observe that the BS did not induce locomotor alteration in the animals. These results demonstrate that BS had antinociceptive effect and by studies that demonstrate its mechanism of action and investigate its toxicity, this molecule could be indicated as a possible therapeutic alternative for pain.

Keywords: Pain. Antinociception. Benzamide. Selenium.

## Lista de figuras

Figura 1.	Histórico da dor.....	20
Figura 2.	Estrutura química da sulpirida.....	24
Figura 3.	Estrutura química do remoxipride.....	24
Figura 4.	Estrutura química do imatinibe.....	25
Figura 5	Representação do equipamento utilizado no experimento da chapa quente.....	37
Figura 6.	Representação do teste de imersão da cauda.....	38
Figura 7.	Demonstração da reação ao estímulo da dor referente ao teste da formalina na pata.....	40
Figura 8.	Demonstração do reflexo de autolimpeza causada pela injeção de formalina na região orofacial.....	40
Figura 9.	Demonstração da contorção abdominal provocada pelo ácido acético.....	41
Figura 10.	Demonstração do teste de Randall e Selitto em ratos.....	43
Figura 11.	Modificação do teste de Randall e Selitto realizada por Ferreira.....	43
Figura 12.	Demonstração do teste de Von Frey.....	44
Figura 13.	Demonstração do teste de Hargraves.....	45
Figura 14.	Demonstração do teste da injeção de glutamato na pata.....	46
Figura 15.	Estrutura molecular da BS.....	48

Figura 16.	Representação do equipamento do teste de campo aberto.....	<b>50</b>
Figura 17.	Representação do movimento exploratório.....	<b>50</b>
Figura 18.	Curva de tempo-resposta da BS no teste da imersão da cauda.....	<b>53</b>
Figura 19.	Resultados do teste do campo aberto nas análises da curva de tempo-resposta.....	<b>54</b>
Figura 20.	Curva de dose-resposta da BS no teste de imersão da cauda.....	<b>55</b>
Figura 21.	Resultados do teste de campo aberto na curva de dose-resposta da BS realizada para o teste da imersão da cauda.....	<b>56</b>
Figura 22.	Curva de dose-resposta no teste da chapa quente.....	<b>57</b>
Figura 23.	Curva de dose-resposta da BS no teste do glutamato.....	<b>58</b>

## Lista de Esquemas

<b>Esquema 1.</b> Esquema de tratamento da curva de tempo-resposta do efeito antinociceptivo da BS no teste da imersão da cauda.....	<b>51</b>
<b>Esquema 2.</b> Esquema de tempo da curva de dose-resposta do efeito antinociceptivo da BS nos testes nociceptivos.....	<b>52</b>

## Lista de abreviaturas e siglas

GSH	Glutathiona
SNC	Sistema Nervoso Central
BS	Benzamida N-3-(fenilselenil)prop -2-in-1-ílica
AINES	Anti-inflamatórios não esteroides
AIES	Anti-inflamatórios esteroides
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
DA	Doença de Alzheimer
DP	Doença de Parkinson
EM	Esclerose Múltipla
COX	Ciclo – oxigenase
TXA 2	Tromboxano A2
GCS	Glicocorticoides
IL	Interleucina
Se	Selênio
i.p	Intraperitoneal

I.pl.	Intra-plantar
PGE2	Prostaglandina E2
TNF	Fator de Necrose Tumoral

## Sumário

<b>1 Introdução.....</b>	<b>17</b>
<b>2 Revisão bibliográfica.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1 Dor.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1.1 Definição da dor.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1.2 A dor e a medicina.....</b>	<b>20</b>
<b>2.1.3 Dor nociceptiva.....</b>	<b>21</b>
<b>2.1.4 Nociceptores.....</b>	<b>22</b>
<b>2.2 Benzamida.....</b>	<b>23</b>
<b>2.3 Selênio.....</b>	<b>25</b>
<b>2.3.1 Selênio e Alimentação.....</b>	<b>26</b>
<b>2.3.2 Selênio e o aparelho cardiovascular.....</b>	<b>27</b>
<b>2.3.3 Selênio e a resposta inflamatória.....</b>	<b>28</b>
<b>2.3.4 Atividade anti-infecciosa do Selênio.....</b>	<b>28</b>
<b>2.3.5 Doenças do sistema nervoso central e sua relação com o Selênio.....</b>	<b>29</b>
<b>2.3.6 Selênio e sua contribuição hepática.....</b>	<b>30</b>
<b>2.4 Fármacos analgésicos.....</b>	<b>31</b>
<b>2.4.1 Analgésicos opioídes.....</b>	<b>32</b>
<b>2.4.2 Efeitos adversos dos analgésicos opioídes.....</b>	<b>32</b>
<b>2.4.3 Os anti-inflamatórios não esteroides.....</b>	<b>33</b>
<b>2.4.3.1 COX 1.....</b>	<b>34</b>

2.4.3.2 COX 2.....	34
2.4.4 Analgésicos esteroides: Glicocorticoides.....	35
2.4.5 Diferença de gênero entre o uso de analgésicos.....	36
2.5 Testes de nocicepção em animais.....	37
2.5.1 Teste da chapa quente.....	37
2.5.2 Teste da imersão da cauda.....	38
2.5.3 Teste da formalina.....	39
2.5.4 Ensaio de contorções abdominais induzidas por ácido acético.....	41
2.5.5 Teste de Randall e Selitto.....	42
2.5.6 Teste de Von Frey eletrônico.....	44
2.5.7 Teste de Hargraves.....	45
2.5.8 Teste da injeção de glutamato na pata.....	46
3 Objetivo.....	47
3.1 Objetivo geral.....	47
3.2 Objetivos específicos.....	47
4 Metodologia.....	48
4.1 Drogas.....	48
4.2 Animais.....	48
4.3 Testes comportamentais.....	48
4.3.1 Teste da imersão da cauda.....	49
4.3.2 Teste da chapa quente.....	49



<b>4.3.3 Teste do glutamato.....</b>	<b>49</b>
<b>4.3.4 Teste do campo aberto.....</b>	<b>49</b>
<b>4.4 Curva de tempo-resposta do efeito antinociceptivo da BS no teste de imersão da cauda.....</b>	<b>51</b>
<b>4.5 Curva de dose-resposta do efeito antinociceptivo da BS nos testes nociceptivos.....</b>	<b>52</b>
<b>4.6 Análises Estatísticas.....</b>	<b>52</b>
<b>5 Resultados e discussão.....</b>	<b>53</b>
<b>5.1 Curva de tempo-resposta do efeito antinociceptivo da BS no teste da imersão da cauda.....</b>	<b>53</b>
<b>5.2 Curva de dose-resposta do efeito antinociceptivo da BS no teste de imersão da cauda.....</b>	<b>54</b>
<b>5.3 Curva de dose-resposta do efeito antinociceptivo da BS no teste da chapa quente.....</b>	<b>56</b>
<b>5.4 Curva de dose-resposta do efeito antinociceptivo da BS no teste do glutamato.....</b>	<b>57</b>
<b>6 Conclusão.....</b>	<b>59</b>
<b>7 Referências.....</b>	<b>60</b>
<b>8 Anexo.....</b>	<b>73</b>

## 1 Introdução

A dor é um sério problema de saúde pública, não somente em termos do sofrimento do paciente, como também devido ao seu grande impacto socioeconômico (SILVA, 2013). Além de ser uma sensação desagradável que afeta pessoas em todo o mundo durante algum tempo, e entre 10 a 40% delas, tem duração de mais de um dia. Já a dor nociceptiva, presente como foco do nosso estudo, atua na indicação da presença de estímulos nocivos. Tem-se conhecimento que a modulação da resposta de nocicepção envolve várias estruturas cerebrais, além de envolver diferentes sistemas de neurotransmissores, como os neuropeptidérgicos, monoaminérgicos, opioidérgicos, adenosinérgicos e gabaérgicos (MILLAN, 2002).

Atualmente, os medicamentos para o tratamento dessa condição possuem diversos efeitos colaterais, como problemas cardiovasculares e gastrointestinais, que induzem os pacientes a interromper o tratamento (YAKSH et al., 2015). Devido aos problemas desencadeados na vida do paciente com dor, como a perda da qualidade de vida, e aos usuários dos fármacos utilizados atualmente para o tratamento deste estímulo desagradável, é visível a necessidade de novos estudos que visem o desenvolvimento de novas moléculas eficazes e que apresentem menos efeitos adversos. Muitos esforços têm sido dedicados, buscando compreender os mecanismos celulares e moleculares envolvidos na origem da dor, com o objetivo de encontrar drogas eficazes, com baixos efeitos colaterais e que possam ser empregadas nestas circunstâncias (KLECZKOWSKA; LIPKOWSKI, 2013; NADAL et al, 2013). Nos dias atuais a busca de novos medicamentos também busca conhecer as suas vias de ação, sendo desenvolvidos até mesmo fármacos duais (que atuam em mais de uma via, apresentando maior eficácia) ou multialvos.

Compostos orgânicos de selênio vêm demonstrando possíveis aplicações terapêuticas, e os mesmos têm sido investigados nos últimos anos (PINZ et al, 2016; SOUSA et al, 2017). O selênio é um micronutriente essencial, que atua como constituinte de selenoproteínas que atuam como oxidoredutases (BRIGELIUS-FLOHÉ; FLOHE, 2017). A deficiência de selênio tem sido associada a transtornos de humor, como depressão e ansiedade (PASCO et al., 2012). Por muitos anos foi considerado um elemento tóxico, porém, após muitos estudos, foi constatado que o selênio é um elemento essencial à saúde humana. Entre as suas diversas funções

no organismo, se destaca a ação protetora contra os efeitos nocivos do mercúrio (GRINTZENCO, 2017) e ao sistema de defesa celular contra o estresse oxidativo, pois o selênio tende a formar uma linha de defesa contra espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (SAUER et al., 2017).

A benzamida é um derivado do ácido benzoico, descoberta através de uma simplificação molecular da cocaína. Possui grande importância para a área farmacêutica, possuindo efeitos antimicrobianos, antiparasitários, anestésicos, analgésicos, antipsicóticos, antidepressivos, entre outros (GURGU et al., 2017).

Baseado nas propriedades farmacológicas que compostos orgânicos de selênio e compostos contendo o núcleo benzamida têm demonstrado (BRÜNING et al, 2014), especialmente efeito analgésico, foi realizada a síntese da N-3-(fenilselenil) prop-2-in-1-ílica (BS), um composto orgânico de selênio contendo o núcleo benzamida, com objetivo de avaliar seu efeito antinociceptivo em modelos animais.

## **2 Revisão Bibliográfica**

### **2.1 Dor**

#### **2.1.1 Definição da Dor**

Em 1996, a dor foi reconhecida como quinto sinal vital, quando foi citada pela primeira vez por James Campbell (Presidente da Sociedade Americana de Dor) (PURSER; WARFIELD; RICHARDSON, 2014). Ele tinha como objetivo conscientizar os profissionais de saúde sobre os benefícios que uma avaliação e tratamento adequado e precoce da dor poderia trazer (CAMPBELL, 2016). Conforme aprovada pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), a atual definição de dor é “sensação sensorial desagradável e experiência emocional associada a dano tecidual real ou potencial, ou descrita em termos de dano” (MERSKEY, 1994). No entanto, até que se tivesse um termo bem definido, o conceito de dor foi bastante estudado e caracterizado com o passar dos anos.

A primeira definição de dor neuropática foi estabelecida em 1994 pelo conselho da IASP como uma dor iniciada ou causada por uma lesão primária ou disfunção no sistema nervoso. Esta definição teve alteração no ano de 2005, quando foi inserida a terminologia nociceptiva, a qual definiu que dor nociceptiva é devido à estimulação das terminações nervosas nociceptivas primárias e a neuropática era uma dor devido à lesão ou disfunção do sistema nervoso. Ambas as definições foram revistas periodicamente e, atualmente, a dor nociceptiva é uma dor que surge de dano real ou ameaçado a tecido não neural e é devido à ativação de nociceptores, e a dor neuropática é uma dor causada por uma lesão ou doença do sistema nervoso somatossensorial (MERSKEY, 1994).

Em 2016, foi proposta uma nova definição, que seria a então conhecida dor nociplástica (KOSEK, 2016). Ficou então definido que esta é a

“Dor que surge da nocicepção alterada, apesar de não haver evidência clara de tecido real ou ameaçado de danos que causam a ativação de nociceptores periféricos ou evidência de doença ou lesão do tecido de sistema somatossensorial causando a dor”.

KOSEK, 2016.

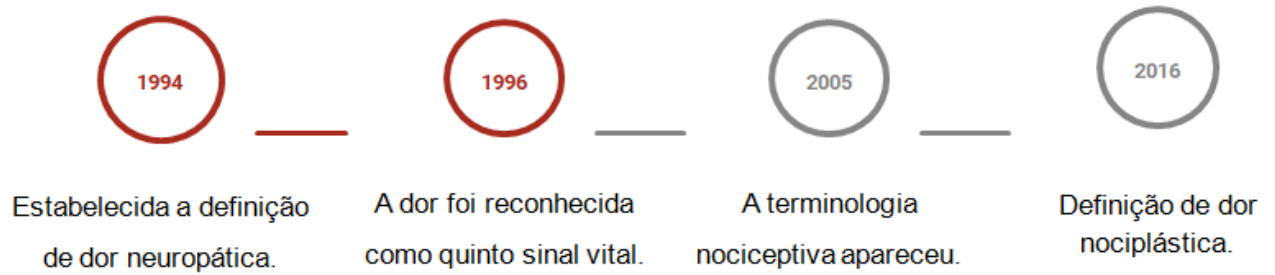


Figura 1. Histórico da Dor

Após, este pequeno histórico (Figura 1), pode-se notar que apesar desta enfermidade ser estudada há bastante tempo, e de se fazer presente cotidianamente, apenas de algumas décadas para os dias atuais conseguiu-se caracterizar e definir o que é a dor. Apesar disto o tratamento da dor continua sendo um enorme desafio na medicina clínica e na saúde pública (RICHARDS; MCMAHON, 2013; DOWELL; HAEGERICHE, 2016), pois as características biopsicossociais da dor no indivíduo não são completamente compreendidas devido a sua singularidade (BECKER; FIELLIN, 2017; VOLKOW; MCLELLAN, 2016).

### 2.1.2 A dor e a Medicina

A dor, em relação as experiências e as sensações é muito mais ampla do que as definições sugerem, pois ela pode ser manifestada por reações autonômicas, psicológicas e comportamentais (TERMAN; BONICA, 2001). Além de ser um mecanismo protetor, é um efeito secundário e incapacitante, de muitas condições médicas, e que engloba tanto componentes sensoriais como também cognitivos e afetivos, como por exemplo, sensações de aborrecimento, tristeza, ansiedade e depressão em resposta a estímulo nocivo. Apesar disto, é importante ressaltar que pacientes sem a capacidade para a percepção de dor, devido a neuropatias hereditárias, muitas vezes tendem a ter infecções não tratadas, automutilações e redução do tempo e qualidade de vida (AXELROD; HILZ, 2003). Então, apesar de se tratar de um estímulo desagradável, a dor é necessária e corresponde à principal forma de defesa e alerta encontrada pelo nosso corpo.

Se for avaliado os sintomas com maior frequência quando se procura atendimento médico, a dor se encontra entre as principais (MÄNTYSELKÄ et al, 2001). Por este motivo, há a necessidade de obtenção de diagnósticos precoces,

bem como a aplicação de terapias eficazes e seguras. Isso significa que os progressos nas áreas relacionadas ao controle dos sintomas e nas decisões clínicas devem estar associados com novos conhecimentos e cuidados relacionados aos pacientes com dor (O'DONNELL; BARON, 1991).

Desde a divulgação do modelo da graduação em medicina baseada no relatório Flexner (FLEXNER, 1910; DE ALMA ATA, 1978), o corpo humano passou a ser estudado por partes, e as doenças passaram a ser consideradas advindas de um mau funcionamento biológico. O ensino começou a focar na formação de especialistas em diversas áreas. Desta forma, os médicos foram estimulados e treinados a executar intervenções físicas e químicas para normalizar o funcionamento do corpo como um todo (PIMENTA et al, 1998). Ao contrário de uma natureza mais objetiva dos outros sentidos, a dor é altamente individual e subjetiva (LACROIX-FRALISH; MOGIL, 2009; FOULKES; WOOD, 2008) e a tradução da nocicepção na percepção da dor pode ser reduzida pelo estresse ou exacerbada pela antecipação (ECCLESTON, 2001). Humor, função cognitiva e memórias do paciente também influenciam na intensidade da percepção da dor (OSSIPOV; DUSSOR; PORRECA, 2010).

### **2.1.3 Dor Nociceptiva**

A dor nociceptiva tem como principal característica evitar estímulos nocivos. A parte neurobiológica que gera a dor nociceptiva possui um papel protetor, e ocorre em virtude da lembrança da sensação desagradável provocada e da angústia emocional que envolve a dor. Ela se apresenta como algo que deve ser evitado e, quando ativada, atenua a maioria das outras funções neurais (WOOLF, 2010).

A dor nociceptiva não é considerada um problema, mas a falta dela sim. Pacientes que possuem insensibilidade congênita ou indiferença à dor, causam em sua maioria automutilação, fraturas ósseas, múltiplas cicatrizes, deformidades articulares, amputações e morte precoce, devido a não conseguir diferenciar o que é nocivo ou não (REILLY; SHY, 2009). Portanto, é uma dor essencial para manter a integridade corporal. Apesar do uso de fármacos para o tratamento da dor, deve-se tomar cuidado para que a dor nociceptiva não seja afetada completamente pela terapia, o que pode ocasionar na perda da sua função protetora (CLARK, 2008). Como exemplo, cita-se, um dos efeitos colaterais avaliado em drogas antagonistas para o TRPV1 (proteína que tem como função a detecção e regulação da

temperatura corporal, além de fornecer a sensação de calor e dor), pois os pacientes perdiam a capacidade de distinguir o morno do quente, o que levava a queimaduras (WOOLF, 2010).

Mesmo em enfermidades, a dor nociceptiva pode ter um caráter protetor, como por exemplo, em situações de articulação osteoartrítica. O uso de medicação para alívio da dor poderia causar um uso excessivo da mesma, e conseqüentemente poderia acelerar o seu desgaste e agravamento da situação (WOOLF, 2010).

#### **2.1.4 Nociceptores**

Neurônios sensoriais periféricos especializados, também conhecidos como nociceptores, nos indicam a presença de estímulos prejudiciais ao nosso corpo, a partir da detecção de extremos relacionados à temperatura, injúrias mecânicas ou presença de químicos nocivos. Estes estímulos são traduzidos em sinais elétricos de longo alcance que são repassados para centros cerebrais superiores.

Os nociceptores são neurônios excitatórios que liberam neurotransmissores, sendo em sua maioria o glutamato ou peptídeos (substância P, derivados de calcitonina, somatostatina, entre outros), que exercem funções importantes na sinalização sináptica e eferente na pele (BASBAUM et al, 2009). A modulação da transmissão dos sinais nociceptivos é facilitado por caminhos específicos originados no cérebro, utilizado para priorizar a percepção da dor em relação a outras demandas, comportamentos e necessidades (HEINRICHER et al, 2009). De particular importância para a percepção da dor é a plasticidade da força sináptica (isto é, a capacidade de melhorar as conexões sinápticas).

Os nociceptores cutâneos são extremamente heterogêneos, possuindo funções e localizações diferentes. Eles ficam alojados em gânglios sensitivos periféricos localizados fora do Sistema Nervoso Central (SNC) e traduzem estímulos nocivos externos na pele, presentes até a alguns metros de distância de seus corpos celulares. A ativação dos nociceptores requer a identificação de estímulos adequados que despolarizem os terminais periféricos com amplitude e duração suficientes.

A identificação das moléculas que contribuem para os potenciais geradores da dor tem sido alcançada através da caracterização das correntes em células nativas, da identificação de genes que codificam canais e receptores, do sequenciamento do genoma, bioinformática, e das abordagens genéticas

inovadoras. Apesar dos progressos ainda existem muitos espaços em branco para um conhecimento total. Ainda é necessária uma maior compreensão da complexidade da nocicepção e da percepção da dor, além do nosso conhecimento ser limitado em relação à mecanotransdução, à codificação da qualidade do estímulo e da modulação das vias da dor pelos mecanismos periféricos e centrais (DUBIN; PATAPOUTIAN, 2010).

Quando foca-se na dor nociceptiva, é possível ver que a mesma é acionada pela percepção de pressões e temperaturas que são consideradas de risco e podem ferir tecidos e moléculas. Desta forma, os nociceptores cutâneos são ativados. Mas para determinar a contribuição de cada um desses tipos de nociceptores é necessário entender os mecanismos moleculares relacionados. Novos estudos têm auxiliado na compreensão da biologia celular destes, em níveis moleculares e de sistemas direcionados na criação de novas terapias para o tratamento da dor (DUBIN; PATAPOUTIAN, 2010).

## **2.2 Benzamida**

Neste contexto destaca-se a benzamida, a qual é derivada do ácido benzoico, e foi descoberta através de uma simplificação molecular da cocaína (BARREIRO; FRAGA, 2014) e tem grande importância para a área farmacêutica. As benzamidas são bem conhecidas por seus diversos efeitos farmacológicos, como antimicrobianos, antiparasitas, anestésicos locais, antiarrítmicos, analgésicos, antipsicóticos e antidepressivos (GURGU et al., 2017). Alguns exemplos são os medicamentos utilizados por pacientes que sofrem de distúrbios mentais, como a sulpirida (Figura 2) (vendido sob a marca Dogmatil, é um medicamento antipsicótico atípico da classe benzamida, usado principalmente no tratamento de psicose associada à esquizofrenia e transtorno depressivo maior, e às vezes usada em baixa dosagem para tratar ansiedade e depressão leve) e remoxipride (Figura 3) (específico para os receptores de dopamina D2, utilizado no tratamento da esquizofrenia).

Outro medicamento que contém a benzamida em sua estrutura molecular é o imatinibe (Figura 4) (inibidor de tirosina quinase) utilizado para tratamento de leucemias, doença mieloproliferativa, mastocitose sistêmica, síndrome hipereosinofílica, dermatofibrossarcoma e tumores gastrointestinais. Além desses existem diversos outros bem posicionados no mercado.



Por estes motivos, são visíveis os benefícios que a benzamida oferece. Tanto em medicamentos já estabelecidos no mercado, como também em novos compostos.

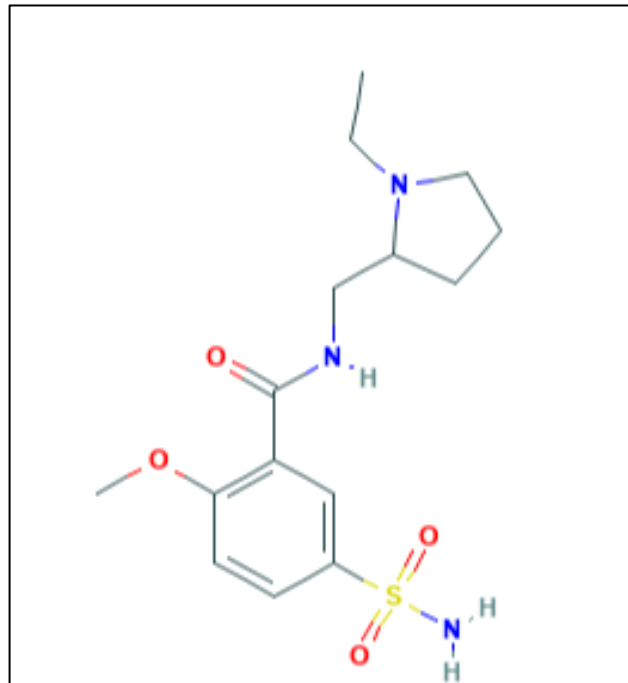


Figura 2. Estrutura química da sulpirida (*N*- [(1-etilpirrolidin-2-il) metil] -2-metoxi-5-sulfamoilbenzamida).

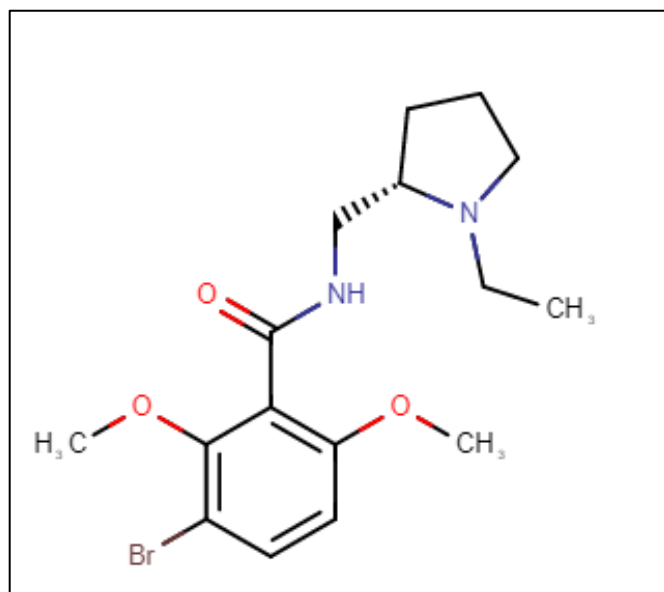


Figura 3. Estrutura química do remoxipride (3-bromo- *N*- [[[(2S) -1-etilpirrolidin-2-il] metil] -2,6-dimetoxibenzamida).

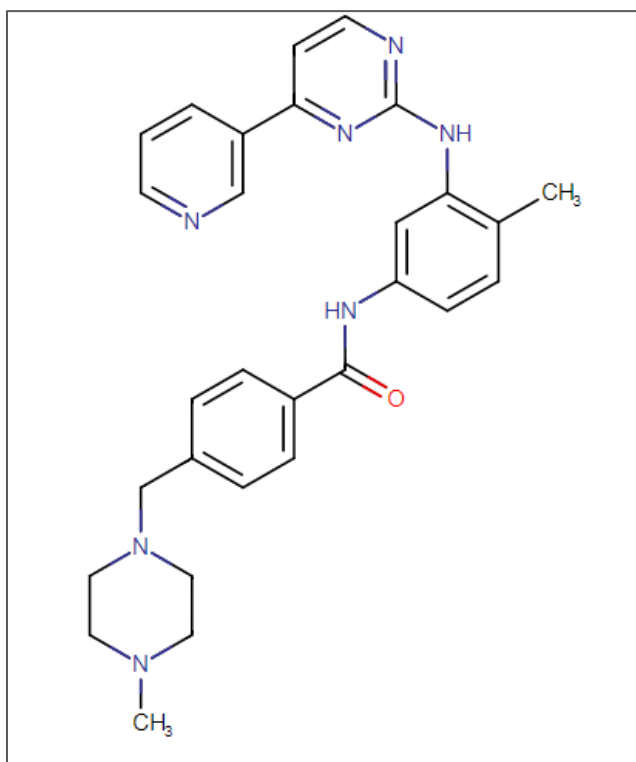


Figura 4. Estrutura química do imatinibe (4 - [(4-metilpiperazin-1-il) metil] - N - [4-metil-3 - [(4- piridin-3-ilpirimidin-2-il) amino] fenil] benzamida).

### 2.3 Selênio

Em 1957 ocorreu a primeira observação de que o selênio (Se) estava ligado à saúde do indivíduo em um experimento de Schwarz e Foltz, o qual demonstrou que o Se havia impedido danos necróticos no fígado de ratos (SCHWARZ; FOLTZ, 1957). Também pode-se citar que os compostos orgânicos de Se sintetizados como possíveis drogas são descritos desde o século passado, como pode-se ver em estudos realizados por Klayman em 1973 (KLAYMAN, 1973) e por Shamberger em 1983 (SHAMBERGER, 1983).

Com a descoberta do papel do Se no centro ativo da enzima glutathiona peroxidase (ROTRUCK, 1981) (enzima importante para a síntese de GSH, que atua na biotransformação e eliminação de xenobióticos e na defesa das células contra o estresse oxidativo) (HUBER et al, 2008) e a compreensão da importância fisiológica do mesmo na regulação do dano oxidativo (CADENAS; SIES, 1985; URSINI; BINDOLI, 1987), o interesse pela síntese de compostos orgânicos com base nas propriedades biológicas e químicas das porções de Se aumentou. Apesar das

preocupações sobre a carcinogenicidade e toxicidade do selênio, uma discussão sobre os seus possíveis benefícios teve início. Entre os estudos, estava até mesmo uma atividade anticarcinogênica do Se (COMBS JR; CLARK, 1985; WILLETT; STAMPFER, 1988), demonstrado em um estudo publicado em abril de 1985, onde foi constatado que o composto selenazofurina era 8 vezes mais potente do que os outros compostos testados contra a leucemia P388 (BORITZKI, 1985). Em outro estudo sobre um composto contendo um complexo com Se, descrito pelos cientistas da Nippon Kayaku, demonstrou efeito anti-proliferativo contra células HeLa *in vitro* e inibiu o carcinoma de Ehrlich em camundongos quando administrados via intraperitoneal (i. p.) (PARNHAM; GRAF, 1991).

Também foram identificados 25 genes responsáveis pela codificação de selenoproteínas em mamíferos (KRYUKOV et al, 2003). As selenoproteínas desempenham funções importantes para o bom funcionamento do corpo do indivíduo, como por exemplo, atuando como antioxidantes, moduladores da função imunológica, agentes de desintoxicação de metais pesados e xenobióticos e participantes no metabolismo do hormônio tireoidiano (CARDOSO et al, 2015).

Pode-se analisar do ponto de vista terapêutico que muitos compostos orgânicos baseados em Se possuem um grande potencial em determinadas áreas, como se pode ver com a selenazofurina como uma droga antineoplásica e antiviral, o fenil-2-aminoetila selenida como anti-hipertensivo, o ebselen como anti-inflamatório e agente terapêutico hepático, e possivelmente, muitos outros que podem vir a ser estudados e sintetizados. Atualmente existe um interesse global em novos compostos que sejam mais eficazes e possuam menos efeitos adversos, e compostos orgânicos de selênio sintéticos levantam novas possibilidades e expectativas para o futuro (PARNHAM; GRAF, 1991).

### **2.3.1 Selênio e Alimentação**

A dieta é a principal fonte de Se, onde aproximadamente 80% do elemento absorvido, depende do tipo de alimento consumido. A biodisponibilidade do elemento varia de acordo com a fonte e o estado nutricional do indivíduo, sendo maior na sua forma orgânica. Os níveis de Se no solo geralmente refletem sua presença nos alimentos e posteriormente, nos níveis presentes na população. O conteúdo dos alimentos é influenciado pela localização geográfica, mudanças sazonais, conteúdo de proteínas e processamento de alimentos. Suplementos de Se

podem ser benéficos para indivíduos que vivem em regiões com níveis ambientais muito baixos do mesmo (NAVARRO-ALARCONI; CABRERA-VIQUE, 2008).

Foi relatado que a alimentação de ratos com dieta deficiente em Se aumentou as concentrações de colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL), o popularmente conhecido como “colesterol ruim” (STONE, W. L. et al., 1986), sugerindo que o Se pode desempenhar um papel nesse processo. Outros estudos confirmaram que o composto organosselênio, ebselen, possui propriedades redutoras de hidroperóxido, e é capaz de inibir *in vitro* o acúmulo de colesterol na linha celular dos macrófagos P388D1, resultando em captação de LDL oxidado (PARNHAM, M. J. et al., 1987).

### **2.3.2 Selênio e o aparelho cardiovascular**

Se observarmos os atuais fármacos no mercado, notamos que os anti-inflamatórios não esteroides que atuam inibindo a COX 2, acabam afetando o aparelho cardiovascular. Por isto, se torna interessante a utilização do selênio, pois o mesmo apresenta atividade benéfica quando relacionado com o aparelho cardiovascular.

Estudos demonstraram que os medicamentos daunorrubicina (Cerubidine®) e doxorrubicina (Adriamycin®), utilizados na quimioterapia, apresentam uma cardiotoxicidade seletiva frequentemente irreversível, além de induzir peroxidação lipídica no tecido cardíaco (GOODMAN; HOCHSTEIN, 1977). Doroshov et al. descreveram que a doxorrubicina depleta a glutathiona peroxidase, que é dependente de Se no coração (DOROSHOW; LOCKER; MYERS, 1980). Em um experimento onde ratos tiveram uma dieta deficiente em Se, esta cardiotoxicidade ficou ainda mais aparente. Em outro estudo com coelhos foi constatado que uma dieta rica em Se poderia proteger o sistema cardiovascular da cardiotoxicidade da doxorrubicina (DIMITROV et al, 1987)

Através de outro estudo foi analisado pacientes com a doença de Keshan, uma cardiomiopatia endêmica presente nas áreas rurais da china, onde alguns dos seus sintomas, como insuficiência cardíaca e arritmias, foram atenuados pela suplementação de Se (GE et al., 1983). Por isso, podemos concluir que de acordo com estudos realizados com o passar dos anos, não restam dúvidas do efeito do Se no bom funcionamento do sistema cardiovascular.

### 2.3.3 Selênio e a resposta inflamatória

Evidências sugerem que o Se é capaz de modular a resposta inflamatória, principalmente no que se refere às células fagocíticas. Por exemplo, foi observado que em camundongos deficientes em Se, a geração de água induzida por fagocitose possui um aumento significativo, assim como na resposta inflamatória nas patas de ratos deficientes em Se com artrite (PARNHAM; WINKELMANN; LEYCK, 1983). Isto demonstra que uma dieta deve conter Se para obtenção de uma resposta imune ideal (COMBS JR et al, 1986).

Foi realizada uma pesquisa comparativa com os anti-inflamatórios não esteroides clássicos (AINEs), onde foi induzido um edema na pata de ratos com veneno de cobra, que ativava uma via alternativa do complemento do sistema imune. Com isto foi visto que o composto ebselen (contendo Se) teve uma eficácia muito superior aos outros (PARNHAM et al, 1987). Outro contraste com os AINEs é o fato do obselen administrado por via oral (10-100 mg/kg) ser um inibidor das lesões gástricas induzidas por ácido ou etanol em ratos, levando em consideração que o dano gástrico é um efeito colateral frequente em AINEs (PARNHAM; GRAF, 1991).

### 2.3.4 Atividade anti-infecciosa do selênio

Muitos compostos orgânicos de Se possuem uma maior atividade antibacteriana e antifúngica se comparados com seus análogos de enxofre (MAUTNER, 1956). Alguns compostos relatados com esta finalidade incluem o isosselenocianato de trifenilestanho, com atividade contra *Klebsiella pneumoniae* e *Candida albicans* (SRIVASTAVA, 1981) e o 5-hidroxi benz-2, 1, 3-selenadiazol e seu complexo de cobre (WILLETT; STAMPFER, 1988) com atividade contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*. Vários compostos inorgânicos de Se e selenoaminoácidos também demonstraram efeitos antivirais *in vitro* (SHAMBERGER, 1983), mas foram considerados tóxicos para as células de mamíferos usadas para ensaios de infecciosidade (RASCATI, 1983).

### 2.3.5 Doenças do Sistema Nervoso Central e sua relação com o selênio

Doenças do SNC foram associadas ao aumento da produção local de radicais e hidroperóxidos, o que poderia ser beneficiado pela suplementação dietética com Se. É de conhecimento que o Se possui função essencial para a atividade antioxidante das selenoproteínas.

O cérebro possui uma alta atividade metabólica e uma alta concentração de ácidos graxos poli-insaturados, o que faz com que o mesmo seja mais vulnerável à peroxidação, ou seja, a degradação oxidativa dos lipídios. Esta vulnerabilidade pode causar um estresse oxidativo, através da deficiência na atividade das enzimas antioxidantes (WANG; MICHAELIS, 2010). Esse quadro se torna um possível agravante e indício do desenvolvimento de doenças neurodegenerativas (FEDERICO et al., 2012), incluindo a doença de Alzheimer (DA) (MARKESBERY, 1997), a doença de Parkinson (DP) (DAVIES, 2014), doença de Batten (CLAUSEN, 1984), síndrome de Down (NÈGVE, 1984) e lipofuscinose ceróide neuronal (WESTERMARCK; SANTAVUORI, 1984), entre outros distúrbios. As selenoproteínas, com sua atividade antioxidante, desempenham, desta forma, papéis essenciais na proteção contra os radicais livres (CARDOSO, et al., 2015)

A concentração de Se é variável em órgãos periféricos, como fígado, rins, entre outros, mas no cérebro os níveis deste elemento permanecem em sua maioria constantes, até mesmo em situações de deficiência (ZACHARA et al, 2001), pois existe prioridade para a sua captação em relação ao resto do organismo (BEHNE; WOLTERS, 1983). Desta forma, é fácil concluir que o Se se torna essencial para a normalidade do funcionamento deste tecido (KRYUKOV, 2003). Além de que, níveis mais baixos de Se têm sido associados a lesões cerebrais e doenças neurodegenerativas (FANG et al, 2013). Um estudo realizado, também demonstrou uma redução do efeito pró-oxidante do trinitrato de gliceril em um modelo de enxaqueca em ratos, apresentando um efeito anti-inflamatório do Se (NAZIROĞLU et al, 2015).

A DA é uma das diversas condições com relação ao elemento Se. Nesta enfermidade, ocorre perda progressiva de memória e cognição e comprometimento das atividades diárias do paciente. Suas principais características patológicas são a morte de neurônios, perda de conexões sinápticas, deposição extracelular de agregados de proteína beta-amiloide (A $\beta$ ) e precipitação intracelular de proteínas tau

(REDDY, 2011; MAO; REDDY, 2011; YOSHIYAMA; LEE; TROJANOWSKI, 2013). Neste caso, o estresse oxidativo se torna um fator central para a progressão da doença, onde o mesmo afeta a função mitocondrial, a transmissão sináptica, o transporte axonal e a neuroinflamação estimulante (SWERDLOW; BURNS; KHAN, 2014; PICCO et al, 2014; HAIDER et al, 2014). Estudos realizados em humanos revelaram ligação entre o declínio cognitivo e os níveis de Se (CARDOSO et al, 2014), pois mesmo em pacientes com a patogênese em um estado “leve” era notável níveis mais baixos do elemento quando comparados com indivíduos saudáveis com a mesma idade (RIKKERT et al, 2014). Esta pesquisa se fundamenta em outro estudo que sugere que a falta de Se causa risco de demência (CARDOSO et al, 2010; VURAL et al, 2010), além disso uma possível melhora cognitiva foi vista através da suplementação com compostos contendo Se (CARDOSO et al, 2015).

A DP também esta associada com a deficiência de Se. DP é um distúrbio neurodegenerativo caracterizado pela perda de neurônios dopaminérgicos na substância negra. É importante lembrar que neurônios dopaminérgicos são especialmente vulneráveis a danos oxidativos, principalmente devido à sua propensão de acumular ferro com o passar dos anos (ZECCA et al, 2004; HARE et al, 2013). Alguns estudos citam que uma dieta deficiente em Se pode contribuir para tornar os neurônios dopaminérgicos mais vulneráveis (VIZUETE et al, 1994; KIM et al, 2000).

Já a esclerose múltipla (EM) é uma doença inflamatória progressiva e crônica que afeta o Sistema Nervoso Central. Esta doença se caracteriza por uma resposta imune anormal contra auto-antígenos, que resulta em inflamação e neurodegeneração, através da desmielinização (CARDOSO, 2015). Foi analisado então que a atividade da glutathione peroxidase, assim como de outras enzimas antioxidantes, diminuiu em pacientes com EM quando comparada a indivíduos saudáveis (LJUBISAVLJEVIC et al, 2014; TASSET et al, 2012).

### **2.3.6 Selênio e sua contribuição hepática**

Pacientes com doença hepática alcoólica apresentam correlação entre o nível de atividade da doença com a extensão da depressão do Se sérico e da vitamina E. A perda ou ineficiência da defesa oferecida pela glutathione peroxidase e a vitamina E contra a peroxidação lipídica é um fator importante na lesão hepática. É importante

ressaltar que já foi relatado que a administração de selenito de sódio é eficaz em proteger contra os efeitos hepatotóxicos de vários compostos, incluindo tetracloreto de carbono (BENEDETTI et al, 1974) e paracetamol (acetaminofeno) (SCHNELL et al, 1988). Isto demonstra um importante potencial terapêutico relacionado do Se contra danos e doenças. Já que os fármacos analgésicos atuais incluem diversos efeitos colaterais, também estando na lista de órgãos afetados, o fígado.

## **2.4 Fármacos analgésicos.**

Fármacos analgésicos são medicamentos que atuam no controle da dor, buscando diminuir o sofrimento causado ao paciente. Atualmente os analgésicos são os medicamentos mais utilizados, seja com receita médica ou sem. O nível que o uso indiscriminado de analgésicos alcançou pode não ser visto com bons olhos e ser considerado desnecessário (SILBERSTEIN; YOUNG, 1995; ISACSON; BINGEFORS, 2002; GUESS et al, 1988). Na Suécia, no ano de 1999, por exemplo, as vendas de diferentes tipos de analgésicos, foram consideradas suficientes para fornecer uma dose completa de analgésicos todos os dias durante um ano para aproximadamente 10% da população sueca (ISACSON; BINGEFORS, 2002). Este uso abusivo traz à tona diversos problemas causados pelo uso desenfreado desses medicamentos, que variam de problemas relacionados à saúde mental, dependência e outros efeitos colaterais (ANTONOV; ISACSON, 1996; EGGEN, 1993; HANLON et al, 1996; JACOBSEN; HANSEN 1989).

Atualmente os medicamentos que envolvem o controle de dor são divididos entre opióides ou narcóticos, e não opióides, ou seja, não narcóticos. A principal diferença entre eles é que enquanto os não opiáceos agem inibindo a produção de substâncias específicas, os analgésicos opiáceos atuam diretamente no SNC.

Os opiáceos são quimicamente relacionados com a morfina (substância derivada do ópio), apresentando uma alta eficácia no controle da dor, e podem ser obtidas de forma natural ou sintética. Apesar de ser o principal medicamento para controle da dor ele ainda possui diversos riscos, como dependência, sonolência, estado de disforia ou euforia, náuseas, hipotensão e broncoconstrição. Um uso contínuo ou excessivo pode levar a uma depressão respiratória grave, que pode conduzir ao coma ou à morte. Também pode ocorrer interação com outros medicamentos (DUTHIE; NIMMO, 1987).



Os não opióides são divididos entre AINES (Analgésicos Não Esteroides) e AIES (Analgésicos Esteroides). Os esteroides, também chamados de corticosteroides, atuam inibindo a ação da enzima fosfolipase A2, o que resulta na redução da expressão de prostaglandinas e proteínas ligadas ao processo inflamatório, já os não esteroides, atuam inibindo a enzima ciclo-oxigenase, que está relacionada à formação de prostaglandina e tromboxanos, que são substâncias com papel essencial no processo inflamatório e da dor.

#### **2.4.1 Analgésicos opióides**

Os opióides são utilizados para entorpecer a sensação da dor sem causar perda de consciência. A resposta à dor é alterada, de modo que a percepção de dor ainda possa ser preservada enquanto o limiar de tolerância à dor aumenta significativamente. Os sítios de ação destes analgésicos estão localizados principalmente no tronco cerebral e na medula espinhal, mas outros sítios podem estar associados aos efeitos relacionados ao humor e na resposta comportamental à dor.

O modo de ação dos opióides é através da inibição de transmissores excitatórios de terminais nervosos que carregam estímulos nociceptivos. Esses medicamentos podem atuar em mais de um receptor opióide (DUTHIE, D. J. R.; NIMMO, 1987). Dependência e óbitos causados pelos opióides cresceram exponencialmente e é considerado um problema de saúde pública em diversos países, principalmente nos mais desenvolvidos. A venda desses medicamentos também aumentou, pois de 1999 para 2010 a mesma quadruplicou (ROSSI; HSU; FAICH, 1987) e a morte relacionada ao seu uso triplicou (CARSON et al, 1987).

#### **2.4.2 Efeitos adversos dos analgésicos opióides**

É importante ressaltar que todos os opióides apresentam efeitos colaterais que incluem desde depressão das vias respiratórias, episódios depressivos, supressão da tosse, redução da motilidade intestinal, náusea, vômito e retenção urinária, entre muitos outros. Tolerância e dependência, tanto física quanto psicológica também aparecem nesta lista de problemas (DUTHIE; NIMMO, 1987).

Os efeitos adversos podem ser classificados como previsíveis ou imprevisíveis. Os previsíveis estão relacionados aos efeitos farmacológicos em

relação à dose, e são incluídos a depressão respiratória, náusea e vômito. Já os imprevisíveis são relacionados aos efeitos relatados como casos isolados, pois os mesmos variam devido ao sistema corporal.

Os mecanismos de depressão respiratória, por exemplo, ocorrem devido aos opioides e sua relação à dose, isto acontece devido à ação depressora direta no tronco cerebral na área da ponte e do bulbo que atuam nos centros respiratórios (DUTHIE; NIMMO, 1987).

### **2.4.3 Os anti-inflamatórios não esteroides**

Os AINES estão entre os medicamentos mais prescritos em todo o mundo. Os AINES não seletivos são os mais antigos, e são divididos entre tradicionais e convencionais (BATLOUNI, 2010). Os AINES, basicamente, atuam sobre duas enzimas prostaglandinas sintetases, reconhecidas em 1991 mais conhecidas como ciclooxigenase-1 (COX-1), com ampla distribuição tecidual, e sobre a ciclooxigenase-2 (COX-2), que apesar de possuir ampla distribuição tecidual, na maioria dos casos, somente é expresso em condições patológicas. Recentemente, foi isolada uma nova isoforma da prostaglandina sintetase, denominada Ciclooxigenase - 3 (COX-3). Sua distribuição é mais restrita que as duas anteriores, porém é abundantemente encontrada em amostras de tecido encefálico e cardíaco (BALBINO, 2011).

Essas enzimas são codificadas por diferentes genes, com estruturas químicas similares, apresentando cerca de 60% de homologia na sequência de aminoácidos e padrões de expressão (HOWARD; DELAFONTAINE, 2004; CRYER; FELDMAN, 1998; VANE; BOTTING, 1998). A isoforma COX-1 é expressa de forma constitutiva, ou seja, de forma constante na maioria dos tecidos, enquanto a COX-2 é expressa após a indução através de uma inflamação (BATLOUNI, 2010).

Nos últimos anos, tem sido levantada questões sobre a segurança do uso dos AINES, particularmente dos inibidores seletivos da COX-2, devido às evidências sobre o aumento do risco cardiovascular, incluindo aumento do risco de infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca, insuficiência renal e hipertensão arterial (BATLOUNI, 2010).

### **2.4.3.1 COX 1**

A isoforma COX-1 é necessária para a manutenção do estado fisiológico normal de muitos tecidos, inclusive na proteção da mucosa gastrointestinal, controle do fluxo sanguíneo renal, homeostasia, respostas autoimunes, funções pulmonares e do SNC, bom funcionamento dos tecidos cardiovasculares e reprodutivos (ANTMAN; DEMETS; LOSCALZO, 2005; VANE; BOTTING, 1998; GROSSER; FRIES; FITZGERALD, 2006). Diversos prostanoídes, especialmente a prostaciclina e a PGE<sub>2</sub> (prostaglandinas sintetizadas pela COX-1), são fundamentais para proteger a mucosa gástrica dos efeitos corrosivos do ácido estomacal e manter a mesma saudável. Ao bloquear a ação da COX-1 no trato gastrointestinal ocorre a perda da proteção da sua mucosa e o aumento da secreção ácida, podendo levar à erosão, ulceração, perfuração e hemorragia. A probabilidade de ocorrência de úlcera ou sangramento aumenta com o uso em doses altas ou prolongadas dos AINEs, administração conjunta com corticosteroides e anticoagulantes, tabagismo, bebidas alcoólicas e idade avançada. Devido a isto cerca de 20% dos pacientes não tolera o tratamento com AINEs devido a tais efeitos, que incluem dor abdominal, azia e diarreia (BATLOUNI, 2010).

Outro efeito adverso está relacionado à ação nas plaquetas do usuário, pois as plaquetas contêm apenas a isoforma COX-1, que sintetiza o tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>). O TXA<sub>2</sub> atua na agregação plaquetária, vasoconstrição e proliferação de células musculares lisas. Em contrapartida, a síntese de prostaciclina, amplamente mediada pela atividade da COX-2 nas células endoteliais macrovasculares, contrapõe-se a esses efeitos (BATLOUNI, 2010).

### **2.4.3.2 COX 2**

A COX-2 é induzida pelo processo infeccioso, isto ocorre devido a vários estímulos, como a liberação de citocinas, endotoxinas e fatores de crescimento, originando prostaglandinas indutoras. Essas prostaglandinas contribuem para o desenvolvimento do edema, rubor, febre e hiperalgesia (TOPPER et al, 1996; FITZGERALD et al, 1984; FITZGERALD, 2004).

É importante ressaltar que a inibição da COX-2 resulta na inibição da síntese de prostaciclina, que é o principal prostanoíde secretado pelas células endoteliais e

está relacionado com o relaxamento das células musculares lisas vasculares e à vasodilatação. Além de exercer importante atividade antiplaquetária (ANTMAN et al, 2007). E como já citado anteriormente a prostaciclina atua como contraponto e controle da atividade do TXA 2.

A COX-2 também é expressa nas células vasculares endoteliais normais, que secretam prostaciclina em resposta ao estresse de cisalhamento (TOPPER et al, 1996; FITZGERALD et al, 1984; FITZGERALD, 2004). Questões sobre a segurança de medicamentos que inibam seletivamente a COX-2 têm sido debatidas, principalmente em relação aos AINEs que se utilizam deste mecanismo de ação. Evidências tem comprovado que o uso desses medicamentos aumenta o risco cardiovascular, incluindo aumento do risco de infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca, insuficiência renal e hipertensão arterial (ANDERSONH et al, 2006).

Devido a isto, pacientes com histórico de doença cardiovascular ou com alto risco de desenvolvimento devem redobrar o cuidado e limitar o uso de medicamentos que inibem a COX-2 apenas a tratamentos que não possuem alternativas apropriadas, e somente em doses baixas e pelo menor tempo necessário.

#### **2.4.4 Analgésicos esteroides: Glicocorticoides**

Os analgésicos esteroides são utilizados com o intuito de inibir as prostaglandinas e proteínas ligadas ao processo inflamatório, presente em condições como a asma e patologias inflamatórias autoimunes. Estes analgésicos também são denominados glicocorticoides (GCS). Essa denominação tem origem devido ao seu efeito característico sobre o metabolismo dos carboidratos, pois os mesmos atuam praticamente sobre todos os órgãos e tecidos. Eles atuam como fatores de transcrição, alterando a expressão dos genes alvo em resposta a um sinal hormonal específico.

Apesar de possuir um uso mais restrito e específico, ainda devemos ficar atentos aos seus efeitos adversos que incluem problemas na glândula adrenal, como atrofia e síndrome de Cushing, problemas no sistema muscular esquelético, como miopatia, osteoporose, osteonecrose e retardo no crescimento, problemas no sistema cardiovascular, como hipertensão arterial, trombose e vasculite, problemas

no sistema nervoso central, como mudanças de comportamento, cognição, memória, humor e atrofia cerebral, problemas no sistema digestório, como sangramento gastrointestinal, ulcera e pancreatite, problemas no sistema imune, como imunossupressão e ativação de viroses latentes, problemas nos olhos, como catarata e glaucoma, problemas no tegumento (pele e seus anexos), como atrofia cutânea, hiperticose, retardo na cicatrização, acne, estrias e dermatites, problemas nos rins, como aumento da retenção de sódio e na secreção de potássio e para terminar a extensa lista, ainda podemos citar o aumento do risco de infecções sérias e hiperglicemia. Além de causar outros problemas fisiológicos e celulares não citados (ANTI; GIORGI; CHAHADE, 2008).

Apesar da existência de diversos fármacos analgésicos, os mesmos possuem muitos efeitos adversos, como citado anteriormente, por isto, conclui-se que é necessário maiores estudos com novas moléculas que apresentem efeito antinociceptivo. Nesse contexto, existem diversos testes com modelos comportamentais pré-clínicos, sendo um dos primeiros passos para investigar o potencial antinociceptivo de novas moléculas e compostos.

#### **2.4.5 Diferença de gênero entre o uso de analgésicos**

Estudos sobre o uso dos analgésicos mostram que existem diferenças entre os usuários, principalmente quando se trata do gênero. Mulheres demonstram ser mais propensas ao uso (ANTONOV; ISACSON, 1998; DEL RIO; PRADA; ALVAREZ, 1997; SVARSTAD, 1983; KUNG; GIBSON; HELME, 1999), visto que foi sugerido que existem diferenças na percepção da dor entre os sexos, já que as mulheres aparentam ter um limiar e tolerância à dor mais baixo, mas não está claro se isso se deve a uma diferença na forma de relatar a experiência de dor ou se não existe relação (FILLINGIM; MAIXNER, 1995).

As mulheres, comumente já experimentam mais dor causada pelas diferenças biológicas, como devido aos problemas menstruais, além disso diferenças na farmacocinética e farmacodinâmica dos analgésicos, também podem ser moduladas pelos hormônios sexuais (BEIERLE; MEIBOHM; DERENDORF, 1999). A aceitação social do comportamento relacionado à dor para homens e mulheres também podem interferir na decisão de usar medicamentos (FILLINGIM, 2000).

## 2.5 Testes de nocicepção em animais

### 2.5.1 Teste da chapa quente

O teste da chapa quente foi descrito pela primeira vez em 1944 por G. Woolfe e A. D. Macdonal, em um artigo sobre a avaliação da ação analgésica do hipocloreto de petidina (WOOLF; MACDONALD, 1944). O teste consiste em uma placa, normalmente de zinco, aquecida a uma temperatura pré-estabelecida que varia entre 52 C° e 55 C°. O equipamento possui uma espécie de redoma transparente sobre a placa para impossibilitar a fuga do animal. Possuindo em torno de 15 centímetros de diâmetro (Figura 5). O experimento começa quando o animal é colocado sobre esta placa aquecida e então é observado o tempo que o mesmo demora a sentir o estímulo que ocasiona dor. É estipulado um tempo máximo de 30 segundos de teste para que não ocorra lesão nas patas do animal. Os sinais de desconforto demonstrados variam do ato de sentar sobre as patas traseiras, lambem, sacudir ou assoprar as patas para esfria-las e pular, a partir destas reações o teste é finalizado.



Figura 5. Representação do equipamento utilizado no experimento da chapa quente.

Retirado de <https://steemit.com/science/@prettyjules158/evaluation-of-the-analgesic-effects-of-caldium-bicolour-using-albino-rats-and-mice> acessado em 25 de outubro de 2019.

### 2.5.2 Teste de imersão da cauda

O teste de imersão da cauda é realizado comumente como foi descrito por Janssen em 1963 (JANSSEN, 1963). O teste consiste em inserir a porção inferior de aproximadamente 3,5 cm da cauda dos animais em experimento dentro de água em temperatura constante pré-estabelecida (geralmente se utilizando o equipamento de banho-maria), que costuma variar entre 50 C° e 55 C° (Figura 6). O tempo que o animal mantém a cauda na água é cronometrado até a retirada da mesma, devido ao estímulo de dor. É estipulado um tempo máximo de 10 segundos de teste, para que não ocorra lesão no tecido da cauda. Neste teste são realizadas duas sessões em cada indivíduo, onde a primeira é considerada como um valor basal (latência pré-droga), e a segunda (latência pós-droga), após a administração da dose de interesse, e é considerado como a resposta final do teste. Para se contabilizar o tempo total de latência do animal, fazemos a seguinte equação:

$$\Delta t \text{ (s)} = \text{latência pós-droga} - \text{latência pré-droga}$$

O resultado de  $\Delta t$  (s) é utilizado para posterior análise estatística.

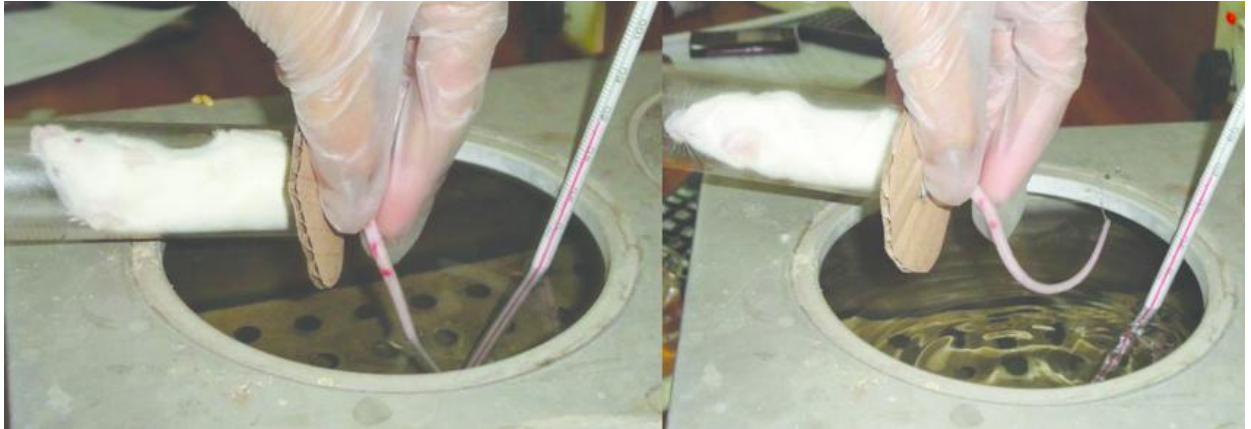


Figura 6. Representação do teste de imersão da cauda.

Retirado de [Researchgate.net/figure/Tail-immersion-test-on-mice\\_fig11\\_301654749](https://www.researchgate.net/figure/Tail-immersion-test-on-mice_fig11_301654749) acessado em 25 de outubro de 2019.

### 2.5.3 Teste da formalina

O teste da formalina é realizado conforme descrito por Hunskaar e Hole (HUNSKAAR; HOLE, 1987). É um teste baseado na nocicepção manifestada por injeção de agente algésico. O estímulo nocivo é uma injeção de formalina diluída (1% em solução salina). Os animais, inicialmente são tratados com o composto de interesse ou solução controle pelo tempo pré-estabelecido, e posteriormente recebem a administração intraplantar de formalina na região dorsal da pata traseira esquerda. Logo após a injeção de formalina, os animais são colocados em uma gaiola experimental, onde se pode ter uma boa visualização do animal. O tempo gasto lambendo ou mordendo a pata injetada é registrado durante os primeiros 5 minutos (primeira fase, uma fase neurogênica, na qual ocorre a ativação direta dos nociceptores locais pela formalina) e de 15 a 30 minutos (segunda fase, uma fase inflamatória, na qual o comportamento observado é resultante da ação de mediadores inflamatórios liberados pelo estímulo). O tempo gasto lambendo ou mordendo a pata é considerado como indicativo de nocicepção (Figura 7).

Neste teste também é possível avaliar se a atividade antinociceptiva do composto de interesse é associado ao desenvolvimento da formação de edema. Neste caso é comparada a diferença de peso entre a pata tratada com a formalina dos diferentes grupos experimentais.

Usando a formalina, ainda podemos citar o teste de dor orofacial induzida por formalina (PERLA, 2014). Este teste se mostra relevante em estudos de dores agudas. Ele avalia a nocicepção trigeminal por meio da aplicação de estímulo químico (administração subcutânea de uma solução de formalina) na região orofacial. As respostas comportamentais que caracterizam a dor são observadas e cronometradas (Figura 8). Entre os exemplos da resposta à dor, estão o número de reflexos de autolimpeza (grooming) dirigidos ao local da injeção de formalina, vocalização espontânea, tremores do corpo (shaking) e o ato de lambr as patas dianteiras e proteger a face. A dor, neste modelo nociceptivo, inicialmente é devido a uma reação inflamatória gerada pela ligação da formalina às proteínas teciduais.





Figura 7. Demonstração da reação ao estímulo da dor referente ao teste da formalina na pata do animal. Retirado de <http://docplayer.com.br/53591216-Universidade-federal-do-ceara-departamento-de-bioquimica-e-biologia-molecular-programa-de-pos-graduacao-em-bioquimica.html> acessado em 25 de outubro de 2019.



Figura 8. Demonstração do reflexo de autolimpeza causada pela injeção de formalina na região orofacial. Retirado de <http://sciam.uol.com.br/o-genero-faz-diferenca-em-experimentos-com-drogas-recreativas-em-camundongos/> acessado em 25 de outubro de 2019.

#### 2.5.4 Ensaio de contorções abdominais induzidas por ácido acético

O teste de ensaio de contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,1N é feito a partir da administração do agente antinociceptivo e a contagem de um tempo pré-determinado para o efeito da substância, é realizada uma injeção de ácido acético 0,1N na cavidade peritoneal dos animais (0,1 ml/10g de peso do animal). Após 10 minutos da injeção é realizada a contagem das contorções e extensões do abdômen (Figura 9) durante 20 minutos. A primeira vez que este teste foi descrito foi em 1964 por Whittle (WHITTLE, 1964). Este teste se mostra sensível na avaliação de drogas analgésicas, no entanto, ele é descrito como um modelo geral, não seletivo em estudos de drogas antinociceptivas (COUTO et al, 2011). A irritação local, produzida pela injeção intraperitoneal do ácido acético provoca a liberação de mediadores, como a substância P, bradicininas, prostaglandinas e citocinas pró-inflamatórias tais como IL-1, IL-6, IL-8 e TNF- $\alpha$  (PINHEIRO et al, 2011).



Figura 9. Demonstração da contorção abdominal provocada pelo ácido acético. Retirado de <http://www.neplame.univasf.edu.br/atividade-antinociceptiva.html> acessado em 25 de outubro de 2019.

### **2.5.5 Teste de Randall e Selitto**

O teste de Randall e Selitto se baseia na hiperalgesia pela pressão crescente nas patas dos animais. Foi descrito pela primeira vez em 1957 por Randall e Selitto (RANDALL, 1957). Para a sua execução se utiliza um equipamento denominado analgesímetro, que gera um aumento linear da força (em gramas) sobre a superfície dorsal da pata do animal, até que o animal produza a resposta característica de retirada da pata (Figura 10). A força necessária para induzir uma resposta aversiva ao estímulo nocivo é considerado o limiar nociceptivo. A resposta é registrada em gramas. O teste é realizado antes da administração do composto com possível efeito antinociceptivo e após a administração do mesmo.

Em 1978, Ferreira et al. realizaram uma pequena modificação no experimento (FERREIRA; LORENZETTI; CORRÊA, 1978). Neste teste, o animal é posicionado em uma plataforma e mantido preso na mão do experimentador (Figura 11). Uma das patas traseiras é submetida à pressão constante de 20 mmHg aplicada por um pistão de diâmetro aproximado de 2 cm. A pressão é interrompida quando o animal exibe reação nociceptiva típica, onde tem como características, a redução dos movimentos de fuga, com posterior alteração na frequência respiratória e fasciculações (contrações musculares) no dorso. A intensidade da nocicepção é quantificada pela variação do tempo de reação em segundos quando comparado com o resultado obtido pelo animal antes da administração do composto de interesse.



Figura 10. Demonstração do teste de Randall e Selito em ratos. Retirado de [https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-3-540-29805-2\\_3726](https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-3-540-29805-2_3726) acessado em 25 de novembro de 2019.

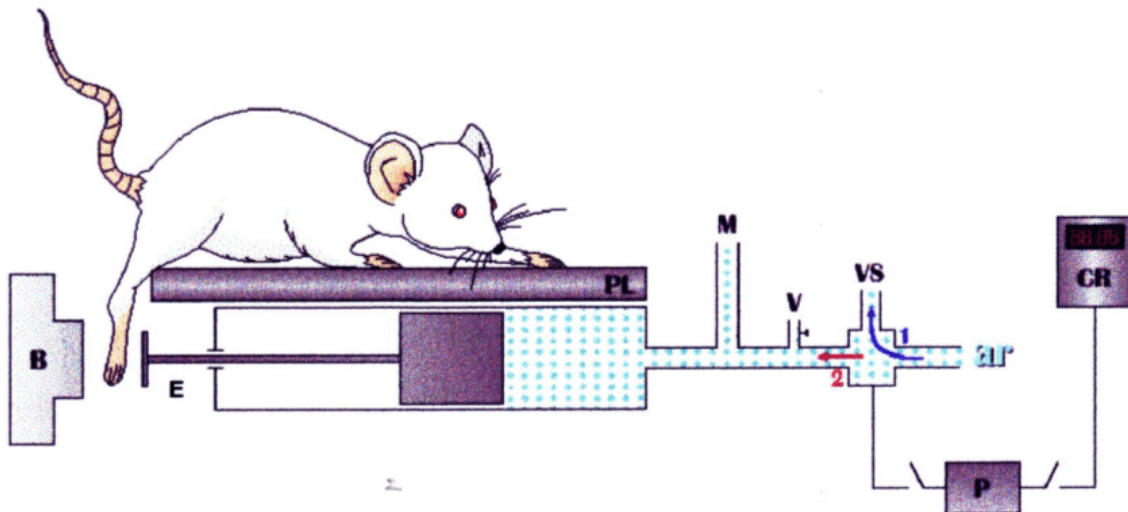


Figura 11. Modificação do teste de Randall realizada por Ferreira. Retirado de <http://www.dol.inf.br/html/MetodosExperimentais.html> acessado em 25 de outubro de 2019.

### 2.5.6 Teste de Von Frey eletrônico

O teste de Von Frey eletrônico (Figura 12) tem como conceito a hiperalgesia por pressão crescente na pata do animal. Este é um método usado para avaliar a sensibilidade tecidual ao estímulo mecânico. Este método foi usado inicialmente em humanos, no ano de 1986 por Jensen (JENSEN, 1986) e posteriormente em 1998 em ratos, pelo pesquisador Möller (MÖLLER; JOHANSSON, 1998). Os experimentos são realizados com um equipamento que traduz a pressão exercida sob a pata do animal em gramas. O contato do equipamento com o animal se dá por meio de uma ponteira descartável de polipropileno. Para realização do teste os animais são colocados em caixas de acrílico com assoalho feito de uma malha constituída de arame não maleável. O pesquisador aplica por entre a malha, uma pressão crescente, de forma linear, no centro da planta da pata do animal, até que o animal produza como resposta à pressão um “flinch”, que é o ato de sacudir a pata. O teste é repetido por até seis vezes. A intensidade da nocicepção é avaliada através da quantificação da variação na pressão (em gramas) obtida da média de três repetições após a administração do composto de interesse subtraindo a média de três repetições realizadas no período antes da administração do composto.

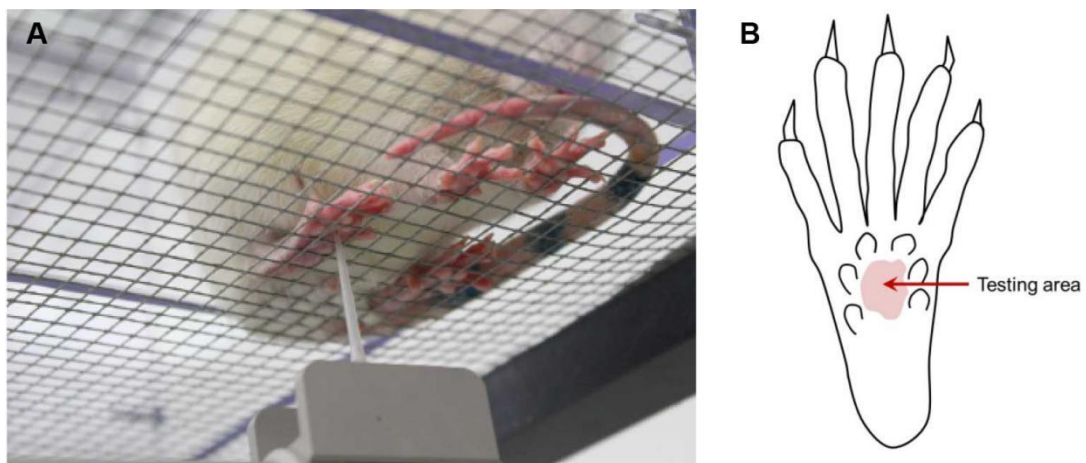


Figura 12. Demonstração do teste de Von Frey (A) e demonstração da área de contato com o equipamento (B).

Retirado de <https://bio-protocol.org/e1933> acessado em 25 de outubro de 2019.

### 2.5.7 Teste de Hargreaves

O teste de Hargreaves se baseia na hiperalgesia térmica causada por uma fonte de luz infravermelha na pata traseira do animal (Figura 13). Este teste foi descrito pela primeira vez em 1988, por Hargreaves et al. (HARGREAVES et al, 1988). A resposta nociceptiva é avaliada através da sensibilidade ao calor determinada pela latência do animal, em relação à retirada da pata do caminho do raio da luz. O máximo de tempo permitido para a realização do teste é de 15 segundos, para evitar danos teciduais. São realizadas duas a três repetições, em um intervalo de tempo, que pode variar entre 5 a 10 minutos.



Figura 13. Demonstração do teste de Hargreaves. Retirado de <http://www.dol.inf.br/html/MetodosExperimentais.html> acessado em 25 de outubro de 2019.



### 2.5.8 Teste da injeção do glutamato na pata

O teste do glutamato é realizado conforme Beirith et al. (BEIRITH, A.; SANTOS, A.; CALIXTO, J. B., 2002), sendo um teste de nocicepção causada por agente algésico. O estímulo ocorre através da injeção de um volume de 20 $\mu$ L de glutamato (diluída em salina) por via i.pl. nas patas traseiras direitas (figura 14). Imediatamente após a administração do agente químico, os camundongos são colocados individualmente em uma câmara de observação de vidro, transparente, e observados individualmente de 0 a 15 minutos após a injeção de glutamato. A quantidade de tempo que os animais passam lambendo ou mordendo a pata injetada é registrada com um cronômetro e considerada como uma indicação de nocicepção.

Neste teste também é possível analisar se o composto está associado à formação de edema, através da pesagem da pata do animal após a sua eutanásia.

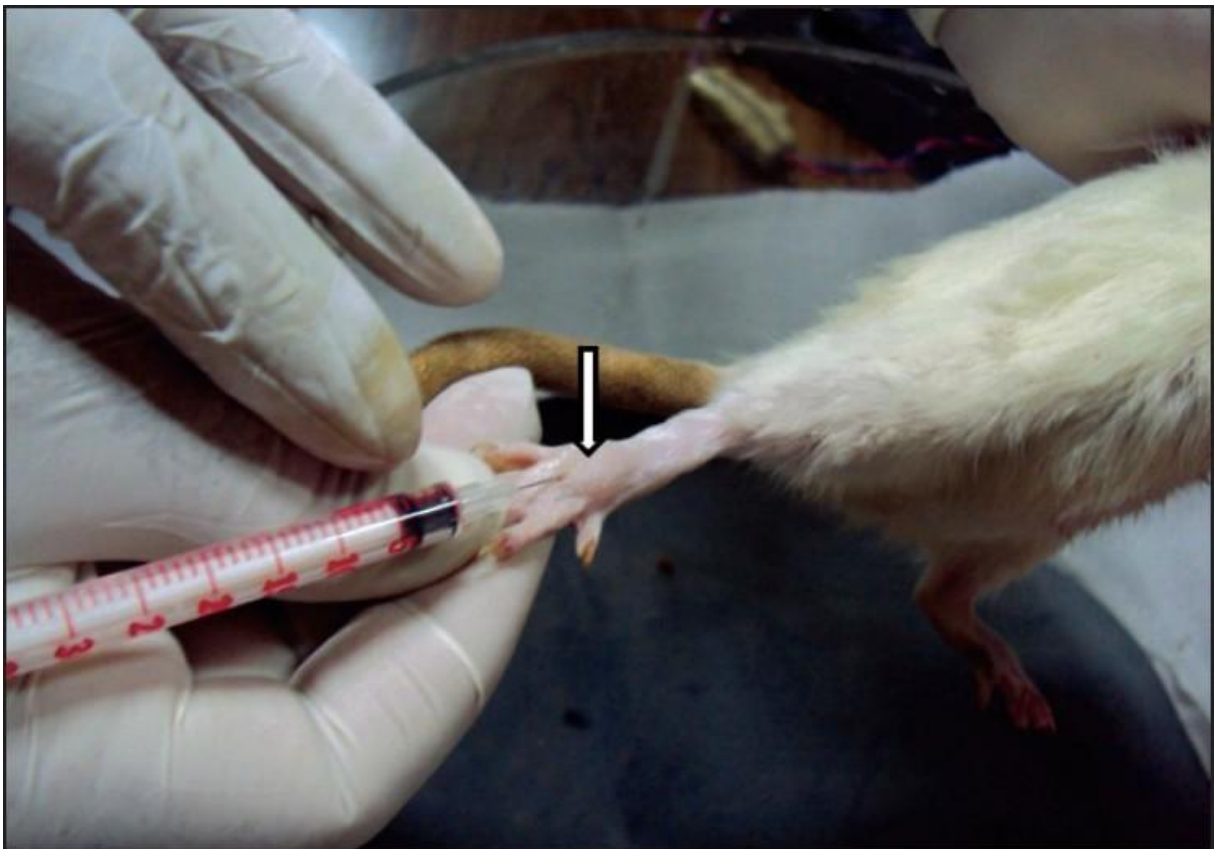


Figura 14. Demonstração do teste da injeção de glutamato na pata. Retirado de [http://www.ijaweb.org/viewimage.asp?img=IndianJAnaesth\\_2010\\_54\\_2\\_127\\_63652\\_u1.jpg](http://www.ijaweb.org/viewimage.asp?img=IndianJAnaesth_2010_54_2_127_63652_u1.jpg) acessado em 25 de outubro de 2019.

### **3. Objetivo**

#### **3.1. Objetivo geral**

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito antinociceptivo da benzamida N-3(fenilselenil) prop-2-in-1-ílica (BS) em camundongos.

#### **3.2. Objetivos específicos**

Os objetivos específicos deste trabalho compreenderam avaliar o efeito antinociceptivo da BS através:

- De uma curva de tempo-resposta no teste da imersão da cauda.
- De uma curva de dose-resposta no teste da imersão da cauda, no teste da chapa quente e no teste do glutamato na pata.
- Da avaliação da atividade locomotora através do teste de campo aberto.



## 4 Metodologia

### 4.1 Drogas

A benzamida N-3(fenilselenil) prop-2-in-1-ílica (BS) (Figura 15) foi sintetizada no Núcleo de Síntese e Aplicação de Compostos Orgânicos e Inorgânicos (NUSAACOI), da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) – Campus Cerro Largo.

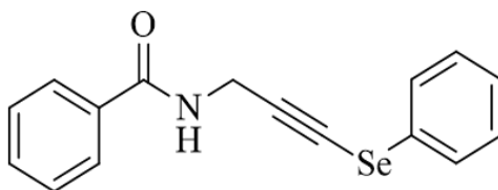


Figura 15. Estrutura molecular da benzamida N-3 (fenilselenil) prop-2-in-1-ílica (BS)

A BS foi diluída em óleo de canola e administrada por gavagem, nas concentrações de 1mg/kg, 10 mg/kg e 50 mg/kg.

### 4.2 Animais

Foram utilizados camundongos Swiis, machos, adultos, pesando entre 25-35g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Todos os experimentos descritos aqui foram realizados de acordo com as normas do Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da UFPel (CEEA 4903-2017). Os grupos de animais foram acondicionados em caixas separadas, sob controle de temperatura de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  e mantidos em um ciclo de 12h claro/12h escuro. A dieta foi constituída de ração comercial (GUABI, RS, Brasil) e água fresca *ad libitum*. Após o experimento, foram eutanasiados, após administração de Isuflurano para analgesia.

### 4.3 Testes comportamentais

Foi utilizado o teste da imersão da cauda para a realização da curva de tempo-resposta do efeito antinociceptivo da BS e posteriormente a curva de dose-resposta foi realizada no teste da imersão da cauda, teste da chapa quente e teste do glutamato. Antes de cada teste foi realizado o teste de campo aberto, para analisar a atividade locomotora dos animais.

#### **4.3.1 Teste da imersão da cauda**

O teste de imersão da cauda consiste na imersão de cerca de três centímetros e meio da cauda do camundongo em água a 52°C e registro do tempo de resposta nociceptiva, representada pela retirada da cauda. Este resultado foi comparado com o tempo obtido em um teste basal antes de o tratamento ser iniciado, para obtenção de um valor delta de latência (JANSEN et al, 1963).

#### **4.3.2 Teste da chapa quente**

O teste da chapa quente consiste em uma placa, normalmente de zinco, aquecida a uma temperatura pré-estabelecida, que neste caso foi 52°C. O equipamento possui uma espécie de redoma transparente sobre a placa para impossibilitar a fuga do animal. O experimento começa quando o animal é colocado sobre a placa aquecida e é cronometrado o tempo que o mesmo demora a sentir o estímulo que ocasiona dor. É estipulado um tempo máximo de 30 segundos de teste, para que não ocorra lesão nas patas do animal. Os sinais de desconforto demonstrados variam do ato de sentar-se sobre as patas traseiras, lambem, sacudir, assoprar as patas para esfriá-las ou pular, a partir destas reações o teste é finalizado.

#### **4.3.3 Teste do glutamato**

Possui o mesmo princípio do teste com formalina. O teste do glutamato consiste na administração de uma injeção de glutamato (20  $\mu$ mol/pata, 20  $\mu$ L) na pata direita do animal. O tempo que o animal gasta lambendo a pata foi cronometrado durante 15 minutos. O estímulo de dor é causado devido a estímulo químico.

#### **4.3.4 Teste do campo aberto**

O teste de campo aberto consiste em uma arena de campo aberto feita em uma caixa de madeira compensada e cercada por paredes de aproximadamente 30 cm de altura. O piso do campo aberto possui um espaço de 45 cm de comprimento e 45 cm de largura, dividido por nove quadrantes, com medidas idênticas (Figura 16). Cada animal é colocado individualmente no centro da arena e o número de segmentos cruzados e o número de movimentos onde o animal se apoia apenas nas

patas traseiras (caráter exploratório do animal) (figura 17) são contados por um período de 4 minutos (Walsh; Cummins, 1976)

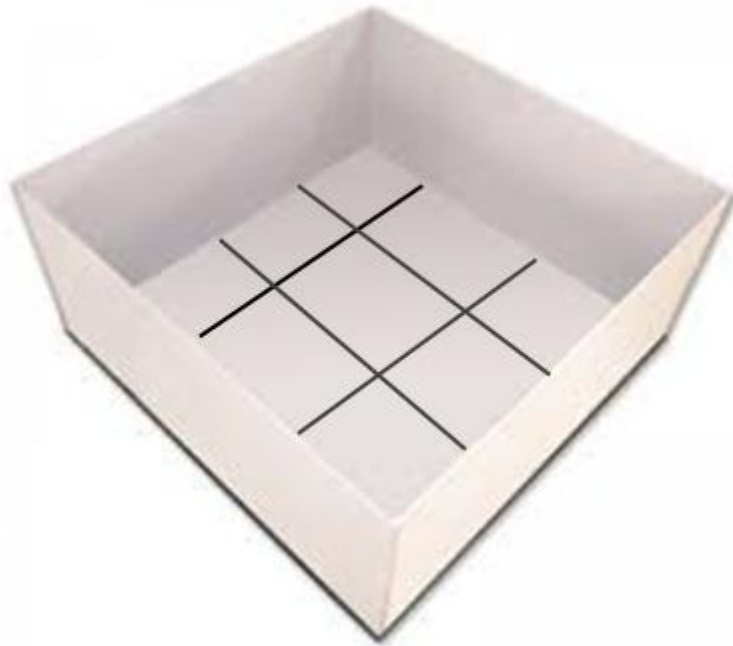


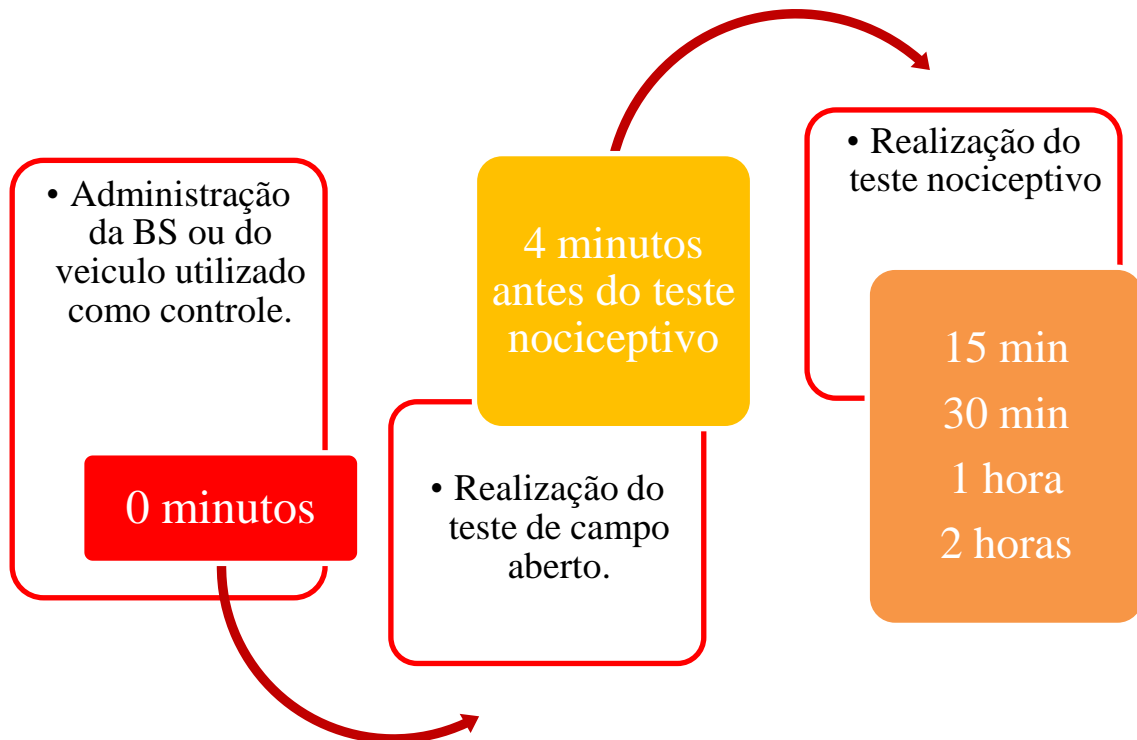
Figura 16. Representação do equipamento do teste de campo aberto.



Figura 17. Representação do movimento exploratório, onde o animal se apoia sob as suas patas traseiras.

#### 4.4 Curva de tempo-resposta do efeito antinociceptivo da BS no teste de imersão da cauda

Para obtenção da curva de tempo-resposta, a BS foi administrada nos camundongos por via intragástrica no volume de 10 ml/kg e na dose de 10mg/kg, diluída em óleo de canola. Como controle negativo foi utilizado a administração somente do óleo de canola. Após diferentes tempos pré-definidos (15 minutos, 30 minutos, 1 hora e 2 horas) foi realizado o teste do campo aberto, com o intuito de descartar qualquer efeito de um possível déficit locomotor causado pelos tratamentos, e posteriormente a realização do teste de imersão da cauda, como teste nociceptivo. As etapas do experimento foram divididas conforme o esquema a seguir (Esquema 1).



**Esquema 1.** Esquema de tratamento da curva de tempo-resposta do efeito antinociceptivo da BS no teste da imersão da cauda. Este esquema demonstra que no tempo 0" é administrado o composto ou apenas o veículo. Após o tempo pré-definido (seja 15 minutos, 30 minutos, 1 hora ou 2 horas), foi realizado o teste comportamental de imersão na cauda, onde foi analisado a latência para resposta nociceptiva da BS. O teste de campo aberto, para avaliar a atividade locomotora dos animais foi realizada 4 minutos antes do teste da imersão da cauda.

#### 4.5 Curva de dose-resposta do efeito antinociceptivo da BS nos testes nociceptivos

Para obtenção da curva de dose-resposta, foram utilizadas as doses de 1 mg/kg, 10 mg/kg e 50 mg/kg da BS, além do grupo controle (tratado apenas com o veículo). O tempo de 30 minutos após a administração do composto foi utilizado para realização dos testes, devido ao seu resultado no teste de tempo resposta. Os testes de nocicepção utilizados foram os testes de imersão da cauda, chapa quente e injeção de glutamato na pata. O teste de campo aberto foi realizado para avaliação da locomoção do animal e verificação de algum déficit locomotor (Esquema 2).



**Esquema 2.** Esquema de tempo da curva de dose-resposta do efeito antinociceptivo da BS nos testes nociceptivos. Este esquema mostra que no tempo 0" é administrado o composto em diferentes concentrações ou apenas o veículo. Após o tempo de 26 minutos (4 minutos antes do teste nociceptivo) foi realizado o teste do campo aberto para avaliação de um possível déficit locomotor associado a dose administrada do composto, e após, aos 30 minutos de tratamento, foi realizado o teste nociceptivo (testes da imersão da cauda, chapa quente ou injeção de glutamato na pata).

#### 4.6 Análises Estatísticas

A análise estatística foi realizada com o programa GraphPad. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de D'agostino e as comparações entre os grupos foram realizadas através de ANOVA de uma via. Um valor de  $p < 0.05$  foi considerado significativo.

## 5 Resultados e discussão

### 5.1 Curva de tempo-resposta do efeito antinociceptivo da BS no teste de imersão da cauda

Os resultados obtidos no teste de imersão da cauda demonstraram que a BS apresentou efeito antinociceptivo nos tempos de 30 minutos, 1 hora e 2 horas de tratamento, demonstrado pelo aumento na latência para a retirada da cauda. O tempo de pré-tratamento de 15 minutos não apresentou significância em relação ao grupo controle, apenas tendência em aumentar a latência ( $F(4,35) = 5,019$ ;  $P = 0,0026$ ) (Figura 18). No teste do campo aberto, não houve diferenças entre os grupos, demonstrando que a BS não afetou a atividade locomotora dos animais (Figura 19), quando comparado o número de cruzamentos ( $F(4,45) = 1,54$ ;  $P = 0,2068$ ) e levantamentos ( $F(4,47) = 0,8452$ ;  $P = 0,5037$ ) de cada grupo.

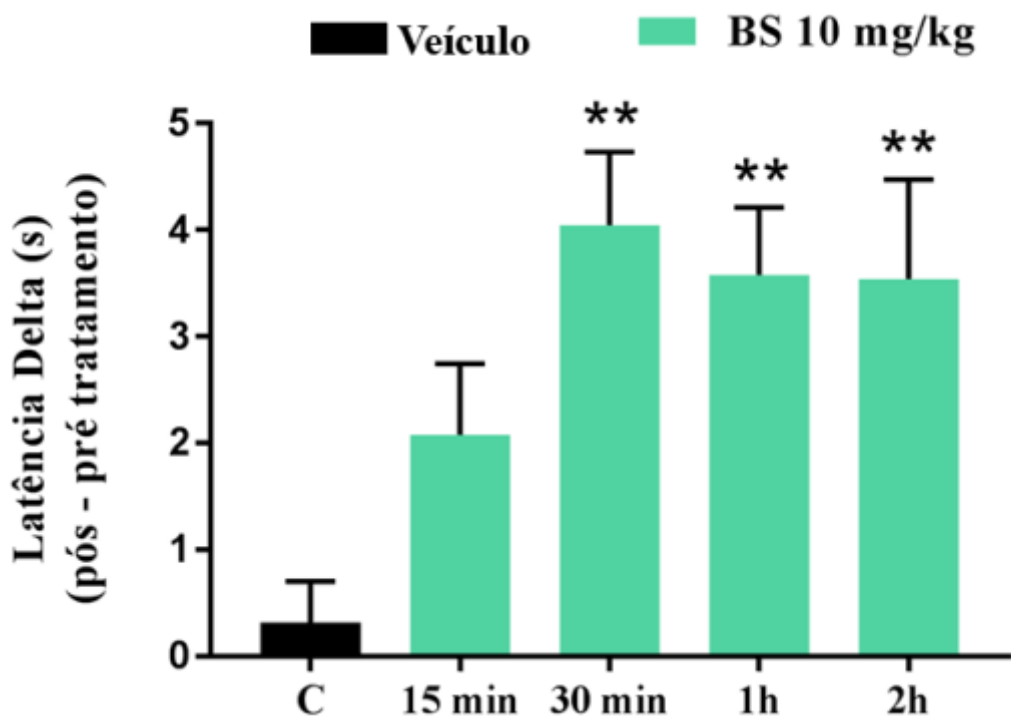


Figura 18. Curva de tempo-resposta da BS no teste de imersão da cauda. N: 8-9 animais por grupo. Onde \*\*  $p < 0,01$  quando comparado ao grupo controle tratado com veículo. Os resultados estão demonstrados como média  $\pm$  erro padrão.

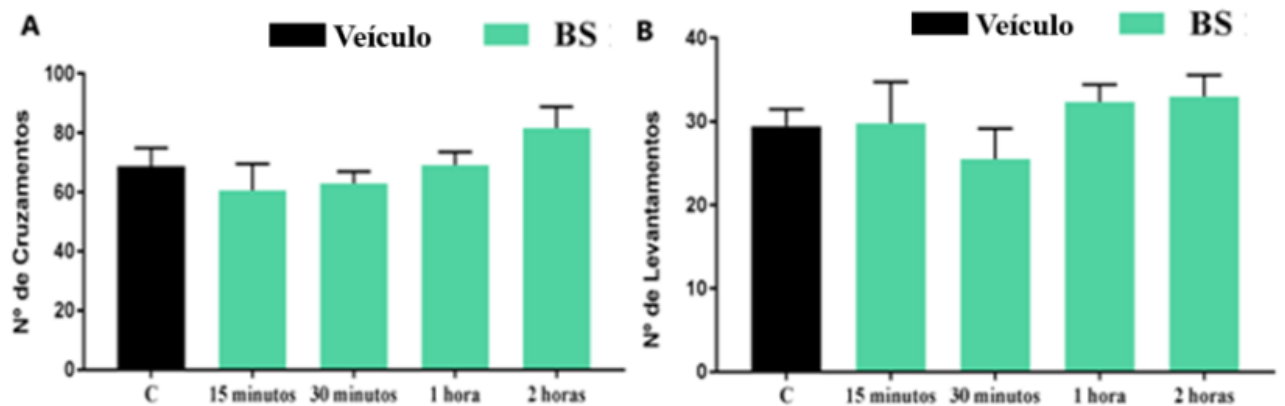


Figura 19. Resultados do teste de campo aberto nas análises da curva de tempo-resposta, demonstrando o número de cruzamentos (A) e o número de levantamentos (B). N: 8-9 animais por grupo. Os grupos 15 minutos, 30 minutos, 1 hora e 2 horas foram tratados com a BS na dose de 10mg/kg e o grupo controle foi tratado com óleo de canola. Os resultados estão demonstrados como média  $\pm$  erro padrão.

## 5.2 Curva de dose-resposta do efeito antinociceptivo da BS no teste de imersão da cauda

Os resultados obtidos na curva de dose-resposta no teste de imersão da cauda comprovaram o efeito antinociceptivo já encontrado na curva de tempo-resposta (Figura 20). Pode-se observar que todas as doses da BS (1, 10 e 50 mg/kg) aumentaram significativamente a latência para a retirada da cauda, o que demonstra o efeito antinociceptivo deste composto ( $F(3,31) = 8,761$ ;  $P = 0,0002$ ).

Pode-se lembrar de que dentre os estímulos nocivos que podem promover a ativação dos nociceptores destacam-se os de natureza térmica (CATERINA, 1997). Aumentos ou reduções maiores na temperatura da pele podem ser diferenciadas normalmente como dor devido à ativação dos mesmos (BEISE et al., 1998). O calor nocivo é detectado por neurônios sensoriais que respondem com um limiar moderado de 43° C ou com um limiar alto de 52° C.

A imersão da cauda em água quente é um teste sensível e confiável na resposta e de fácil reprodução. Se realizado de maneira correta, de acordo com o protocolo não provoca lesão ao animal, além de possuir o apoio de diversos outros autores (JANSSEN, 1963).

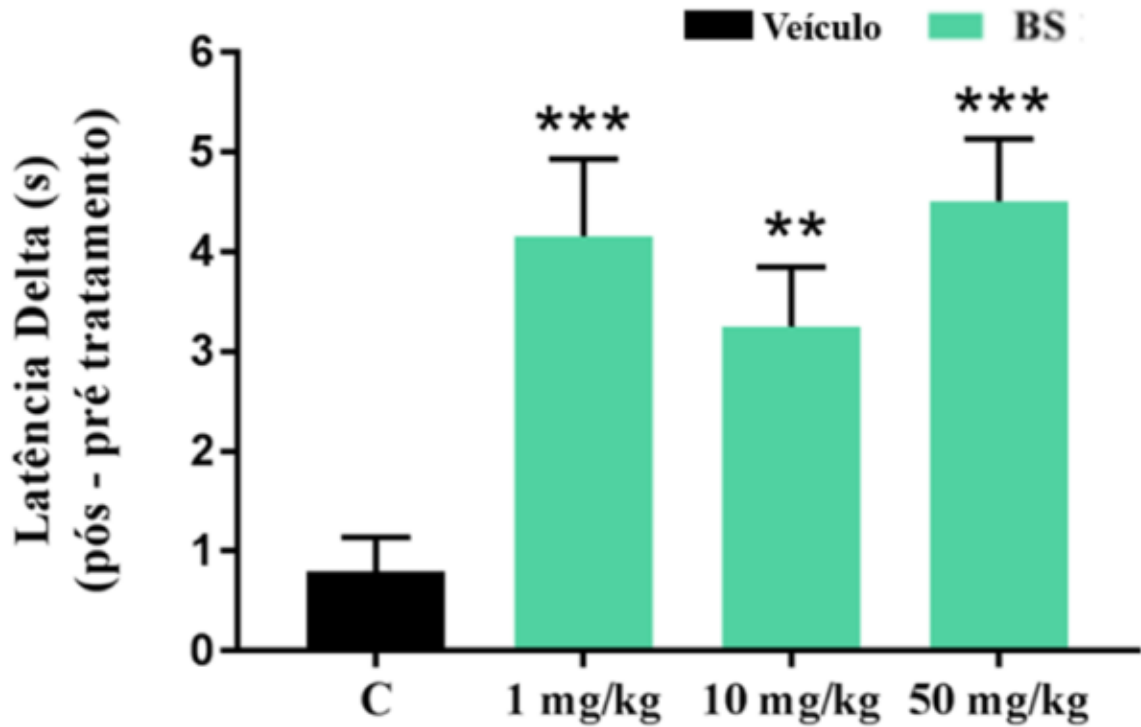


Figura 20. Curva de dose-resposta da BS no teste de imersão da cauda. N: 9-10 animais por grupo. Onde \*\*  $p < 0,01$  e \*\*\*  $p < 0,001$  quando comparado ao grupo controle tratado com veículo. Os resultados estão demonstrados como média  $\pm$  erro padrão.

No teste de campo aberto realizado antes da curva de dose-resposta no teste de imersão da cauda, foi constatado que não ocorreu alteração na atividade locomotora dos animais em todas as doses testadas, embora houve uma redução do número de levantamentos na dose de 50 mg/kg ( $F(3,37) = 1,872$ ;  $P = 0,1513$ ) (Figura 21).



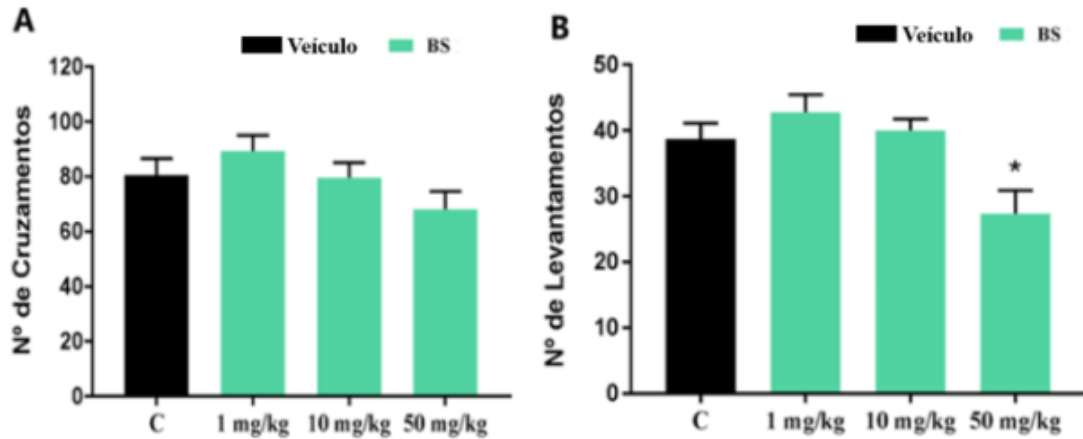


Figura 21. Resultados do teste de campo aberto na curva de dose-resposta da BS realizada para o teste de imersão da cauda, demonstrando o número de cruzamentos (A) e o número de levantamentos (B). N: 9-10 animais por grupo. Onde \*  $p < 0,05$  quando comparado ao grupo controle tratado com veículo. Os resultados estão demonstrados como média  $\pm$  erro padrão.

### 5.3 Curva de dose-resposta do efeito antinociceptivo da BS no teste da chapa quente

O teste da chapa quente tem a propriedade de permitir a avaliação de antinocicepção mediada centralmente, uma vez que as respostas comportamentais vistas nos animais submetidos ao teste são devido à ativação dos centros neuronais supraespinhais. Um fármaco bem conhecido que possui esse efeito é a morfina (LE BARS et al. 2001). O calor é um agente físico frequentemente utilizado em modelos de dor aguda (ANTONIOLLI e VILLAR, 2003). O mesmo atua ativando fibras nociceptivas, que conduzem o impulso da periferia até a medula espinhal, e posteriormente aos centros corticais (PIETROVSKI, 2004). Neste modelo, a BS foi capaz de aumentar a latência para a resposta nociceptiva dos animais, demonstrada pelos movimentos de saltar ou lambe as patas, nas doses 10 mg/kg e 50 mg/kg ( $F(3, 34) = 8,423$ ;  $P = 0,0003$ ) (Figura 22).

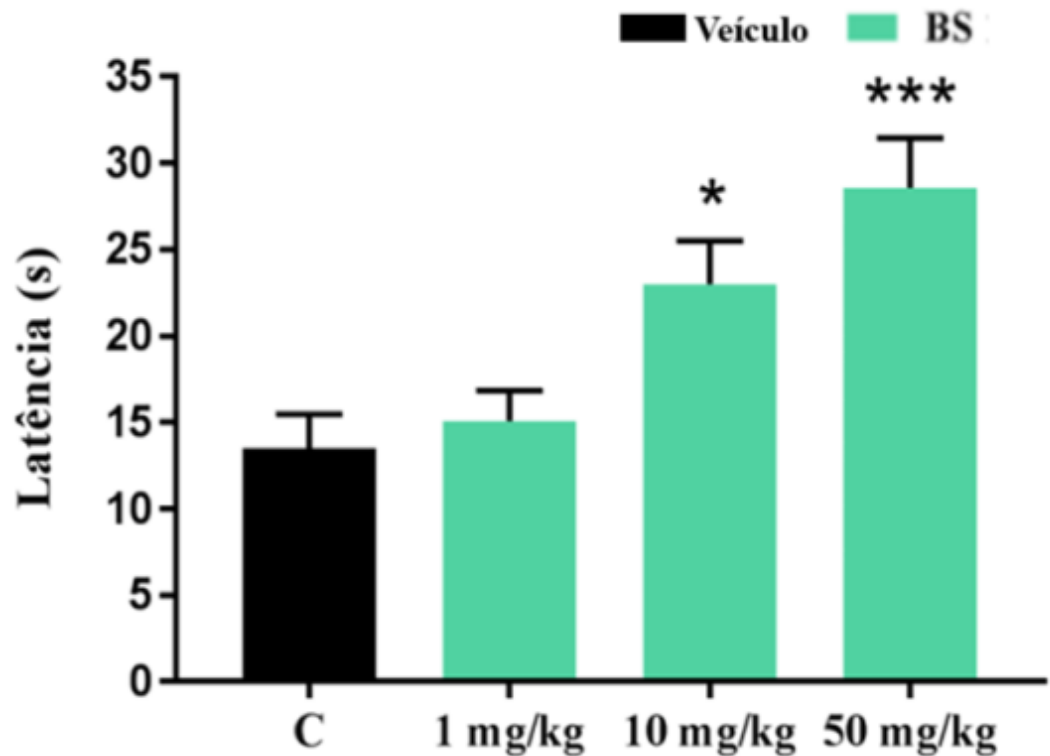


Figura 22. Curva de dose-resposta da BS no teste da chapa quente. N: 9-10 animais por grupo. Onde \*  $p < 0,05$  e \*\*\*  $p < 0,001$  quando comparado ao grupo controle tratado com veículo. Os resultados estão demonstrados como média  $\pm$  erro padrão.

#### 5.4 Curva de dose-resposta do efeito antinociceptivo da BS no teste do glutamato

O teste de glutamato se baseia na dor causada por estímulo químico, através da administração do glutamato na pata do animal. A BS nas doses de 10 mg/kg e 50 mg/kg reduziu o tempo que o animal utilizava lambendo ou mordendo a pata ( $F(3,36) = 5,361$ ;  $P = 0,0037$ ) (Figura 20), demonstrando seu efeito antinociceptivo neste teste.

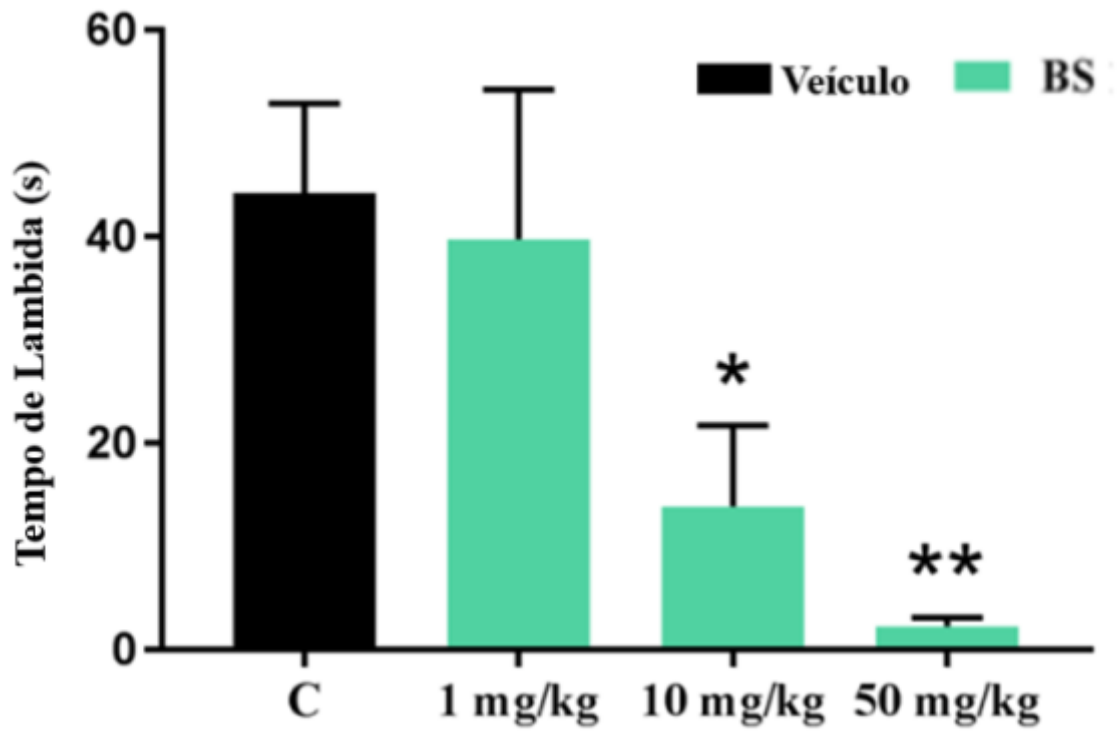


Figura 23. Curva de dose-resposta da BS no teste do glutamato. N: 9-10 animais por grupo. Onde \*  $p < 0,05$  e \*\*  $p < 0,01$  quando comparado ao grupo controle tratado com veículo. Os resultados estão demonstrados como média  $\pm$  erro padrão.

## **6 Conclusão**

O presente estudo demonstrou que o recém-sintetizado composto orgânico de Se contendo o núcleo benzamida demonstrou efeito antinociceptivo em diferentes testes de nocicepção em camundongos, sem alterar a atividade locomotora. Dada a importância do controle da dor na prática médica e suas diversas associações, como o seu grande impacto socioeconômico, este estudo torna-se de grande interesse.

A expectativa é que o uso do Se em novos medicamentos cresça, devido aos seus diversos benefícios apresentados, auxiliando nos problemas enfrentados pelos analgésicos atuais. Novos estudos devem ser realizados e aprimorados para que esta área avance mais rapidamente. Nos dias atuais o processo de criação de um fármaco ainda é demorado e por isso, quanto mais embasamento científico, mais rápido um novo medicamento pode ficar disponível aos pacientes.

Em estudos futuros, os mecanismos de ação da BS, bem como sua toxicidade serão investigadas, buscando explorar mais a fundo seus benefícios e limitações.

## 7 Referências

- ANDERSONH, F. et al. Cyclooxygenase-2 selective nosteroidal anti-inflammatory drugs and the risk of ischemia. **Stroke**, v. 37, n. 7, p. 1725-30, 2006.
- ANTI, S. M. A.; GIORGI, R. D. N; CHAHADE, W. H. Anti-inflamatórios hormonais: glicocorticoides. **Einstein**, v. 6, n. 1, p. 159-165, 2008.
- ANTMAN, E. M. et al. Use of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update for clinicians: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, v. 115, p. 1634-1642, 2007.
- ANTMAN, E. M.; DEMETS, D.; LOSCALZO, J.. Cyclooxygenase inhibition and cardiovascular risk. **Circulation**, v. 112, n. 5, p. 759-770, 2005.
- ANTONIOLLI, A. R.; VILLAR, J. C. Atividade antinociceptiva e toxicidade aguda do extrato aquoso de *Vitex agnus-castus* L. **Anais do seminário de Pesquisa FAPSE**, 2003.
- ANTONOV, K.; ISACSON, D. Prescription and nonprescription analgesic use in Sweden. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 32, n. 4, p. 485-494, 1998.
- ANTONOV, K.; ISACSON, D. Use of analgesics in Sweden—the importance of sociodemographic factors, physical fitness, health and health-related factors, and working conditions. **Social Science & Medicine**, v. 42, n. 11, p. 1473-1481, 1996.
- AXELROD, F. B.; HILZ, M. J. Inherited autonomic neuropathies. In: *Seminars in neurology*. **Copyright© 2003 by Thieme Medical Publishers, Inc.**, p. 381-390, 2003.
- BALBINO, C. A. Antiinflamatórios: uma compreensão total. **Revista Pharmacia Brasileira**, n. 81, 2011.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. Química Medicinal-: As bases moleculares da ação dos fármacos. **Artmed Editora**, 2014.
- BASBAUM, A. I. et al. Cellular and molecular mechanisms of pain. **Cell**, v. 139, n. 2, p. 267-284, 2009.

BATLOUNI, M. Anti-inflamatórios não esteroides: efeitos cardiovasculares, cerebrovasculares e renais. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 94, n. 4, p. 556-63, 2010.

BECKER, W. C.; FIELLIN, D. A. Limited evidence, faulty reasoning, and potential for a global opioid crisis. 2017.

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

BEIERLE, I.; MEIBOHM, B.; DERENDORF, H. Gender differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. **International journal of clinical pharmacology and therapeutics**, v. 37, n. 11, p. 529-547, 1999.

BEIRITH, A.; SANTOS, A.; CALIXTO, J. B. Mechanisms underlying the nociception and paw oedema caused by injection of glutamate into the mouse paw. **Brain research**, v. 924, n. 2, p. 219-228, 2002.

BEISE, R. D.; CARSTENS, E.; KOHLLÖFFEL, L. Psychophysical study of stinging pain evoked by brief freezing of superficial skin and ensuing short-lasting changes in sensations of cool and cold pain. **Pain**, v. 74, n. 2-3, p. 275-286, 1998.

BENEDETTI, A. et al. Liver glutathione peroxidase activity and CCl<sub>4</sub>-induced lipid peroxidation in selenium treated rats. **Research communications in chemical pathology and pharmacology**, v. 9, n. 4, p. 711-722, 1974.

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

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

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

CAMPBELL, J. N. The fifth vital sign revisited. **Pain**, v. 157, n. 1, p. 3-4, 2016.

CARDOSO, B. R. et al. Nutritional status of selenium in Alzheimer's disease patients. **British journal of nutrition**, v. 103, n. 6, p. 803-806, 2010.

CARDOSO, B. R. et al. Selenium status in elderly: relation to cognitive decline. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 28, n. 4, p. 422-426, 2014.

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

CARSON, J. L. et al. The association of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with upper gastrointestinal tract bleeding. **Archives of Internal Medicine**, v. 147, n. 1, p. 85-88, 1987.

CATERINA, M. J. et al. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. **Nature**, v. 389, n. 6653, p. 816, 1997.

CLARK, J. D. The pitfalls of profoundly effective analgesic therapies. **The Clinical journal of pain**, v. 24, n. 9, p. 825-831, 2008.

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

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

COMBS JR, G. F.; CLARK, Larry C. Can dietary selenium modify cancer risk?. **Nutrition reviews**, 1985.

COUTO, V. M. et al. Antinociceptive effect of extract of Emilia sonchifolia in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 134, n. 2, p. 348-353, 2011.

CRYER, B.; FELDMAN, Mark. Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 selectivity of widely used nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **The American journal of medicine**, v. 104, n. 5, p. 413-421, 1998.

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

DE ALMA ATA, Declaración. Conferencia internacional sobre atención primaria de salud. **Alma-Ata, URSS**, p. 6-12, 1978.

DEL RIO, M. C.; PRADA, C; ALVAREZ, F. J. The use of medication by the Spanish population. **Pharmacoepidemiology and drug safety**, v. 6, n. 1, p. 41-48, 1997.

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

DOROSHOW, J. H.; LOCKER, G. Y.; MYERS, C. E. Enzymatic defenses of the mouse heart against reactive oxygen metabolites: alterations produced by doxorubicin. **The Journal of clinical investigation**, v. 65, n. 1, p. 128-135, 1980.

DOWELL, D.; HAEGERICH, T. M.; CHOU, R. CDC guideline for prescribing opioids for chronic pain—United States, 2016. **Jama**, v. 315, n. 15, p. 1624-1645, 2016.

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

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

ECCLESTON, C. Role of psychology in pain management. **British journal of anaesthesia**, v. 87, n. 1, p. 144-152, 2001.

EGGEN, A. E. The Tromsø Study: frequency and predicting factors of analgesic drug use in a free-living population (12–56 years). **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 46, n. 11, p. 1297-1304, 1993.

FANG, K. et al. Trace element, antioxidant activity, and lipid peroxidation levels in brain cortex of gerbils after cerebral ischemic injury. **Biological trace element research**, v. 152, n. 1, p. 66-74, 2013.

FEDERICO, A. et al. Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration. **Journal of the neurological sciences**, v. 322, n. 1-2, p. 254-262, 2012.

FERREIRA, S. H.; LORENZETTI, B. B.; CORRÊA, F. Central and peripheral antialgesic action of aspirin-like drugs. **European journal of pharmacology**, v. 53, n. 1, p. 39-48, 1978.

FILLINGIM, R. B. Sex, gender, and pain: women and men really are different. **Current review of pain**, v. 4, n. 1, p. 24-30, 2000.



FILLINGIM, R. B.; MAIXNER, W. Gender differences in the responses to noxious stimuli. In: Pain forum. **Churchill Livingstone**, 1995. p. 209-221.

FITZGERALD, G. A. Coxibs and cardiovascular disease. **New England Journal of Medicine**, v. 351, n. 17, p. 1709-1711, 2004.

FITZGERALD, G. A. et al. Increased prostacyclin biosynthesis in patients with severe atherosclerosis and platelet activation. **New England Journal of Medicine**, v. 310, n. 17, p. 1065-1068, 1984.

FLEXNER, A. Medical education in the United States and Canada: a report to the Carnegie Foundation for the Advancement of Teaching. **Carnegie Foundation for the Advancement of Teaching**, 1910.

FOULKES, T; WOOD, J. N. Pain genes. **PLoS genetics**, v. 4, n. 7, p. e1000086, 2008.

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

GOODMAN, J; HOCHSTEIN, P. Generation of free radicals and lipid peroxidation by redox cycling of adriamycin and daunomycin. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 77, n. 2, p. 797-803, 1977.

GRITZENCO, F. Síntese de benzamidas organocalcogeno-propargílicas mediada por sais de cobre. 2017.

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

GUESS, H. A. et al. Fatal upper gastrointestinal hemorrhage or perforation among users and nonusers of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in Saskatchewan, Canada 1983. **Journal of clinical epidemiology**, v. 41, n. 1, p. 35-45, 1988.

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

HAIDER, S. et al. Age-related learning and memory deficits in rats: role of altered brain neurotransmitters, acetylcholinesterase activity and changes in antioxidant defense system. **Age**, v. 36, n. 3, p. 9653, 2014.

HANLON, J. T. et al. Factors associated with suboptimal analgesic use in community-dwelling elderly. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 30, n. 7-8, p. 739-744, 1996.

HARE, D. J. et al. A delicate balance: iron metabolism and diseases of the brain. **Frontiers in aging neuroscience**, v. 5, p. 34, 2013.

HARGREAVES, K. et al. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. **Pain**, v. 32, n. 1, p. 77-88, 1988.

HEINRICHER, M. M. et al. Descending control of nociception: specificity, recruitment and plasticity. **Brain research reviews**, v. 60, n. 1, p. 214-225, 2009.

HOWARD, P. A.; DELAFONTAINE, Patrice. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cardiovascular risk. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 43, n. 4, p. 519-525, 2004.

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

HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v. 30, n. 1, p. 103-114, 1987.

ISACSON, D.; BINGEFORS, K. Epidemiology of analgesic use: a gender perspective. In: European Journal of Anaesthesiology (EJA). **LWW**, 2002. p. 5-15.

JACOBSEN, B.; HANSEN, V. Mental problems and frequent use of analgesics. **The Lancet**, v. 333, n. 8632, p. 273, 1989.

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

JENSEN, K. et al. Pressure-pain threshold in human temporal region. Evaluation of a new pressure algometer. **Pain**, v. 25, n. 3, p. 313-323, 1986.

KIM, H. et al. Selenium deficiency potentiates methamphetamine-induced nigral neuronal loss; comparison with MPTP model. **Brain research**, v. 862, n. 1-2, p. 247-252, 2000.

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

KLECZKOWSKA, P.; LIPKOWSKI, A.W. Neurotensin and neurotensin receptors: Characteristic, structure–activity relationship and pain modulation—A review. **European journal of pharmacology**, v. 716, n. 1-3, p. 54-60, 2013.

KOSEK, E. et al. Do we need a third mechanistic descriptor for chronic pain states?. **Pain**, v. 157, n. 7, p. 1382-1386, 2016.

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

KUNG, F.; GIBSON, S. J.; HELME, R. D. Factors associated with analgesic and psychotropic medications use by community-dwelling older people with chronic pain. **Australian and New Zealand journal of public health**, v. 23, n. 5, p. 471-474, 1999.

LACROIX-FRALISH, M. L.; MOGIL, J. S. Progress in genetic studies of pain and analgesia. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 49, p. 97-121, 2009.

LE BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN, S. W. Animal models of nociception. **Pharmacological reviews**, v. 53, n. 4, p. 597-652, 2001.

LJUBISAVLJEVIC, S. et al. Glutathione homeostasis disruption of erythrocytes, but not glutathione peroxidase activity change, is closely accompanied with neurological and radiological scoring of acute CNS inflammation. **Neuroimmunomodulation**, v. 21, n. 1, p. 13-20, 2014.

MAO, P; REDDY, P. H. Aging and amyloid beta-induced oxidative DNA damage and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease: implications for early intervention and therapeutics. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1812, n. 11, p. 1359-1370, 2011.

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

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

MERSKEY, H. Part III pain terms, a current list with definitions and notes on usage. Classification of chronic pain-descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms, p. 207-214, 1994.

MÄNTYSELKÄ, P. et al. Pain as a reason to visit the doctor: a study in Finnish primary health care. **Pain**, v. 89, n. 2-3, p. 175-180, 2001.

MILLAN, M. J. Descending control of pain. **Progress in neurobiology**, v. 66, n. 6, p. 355-474, 2002.

MOGIL, Jeffrey S. Animal models of pain: progress and challenges. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 4, p. 283, 2009.

MÖLLER, K. Ä.; JOHANSSON, B. O.; BERGE, O. Assessing mechanical allodynia in the rat paw with a new electronic algometer. **Journal of neuroscience methods**, v. 84, n. 1-2, p. 41-47, 1998.

NADAL, X. et al. Involvement of the opioid and cannabinoid systems in pain control: new insights from knockout studies. **European journal of pharmacology**, v. 716, n. 1-3, p. 142-157, 2013.

NAVARRO-ALARCON, M.; CABRERA-VIQUE, C. Selenium in food and the human body: a review. **Science of the total environment**, v. 400, n. 1-3, p. 115-141, 2008.

NAZIROĞLU, M. et al. Protective effects of riboflavin and selenium on brain microsomal Ca<sup>2+</sup>-ATPase and oxidative damage caused by glyceryl trinitrate in a rat headache model. **Biological trace element research**, v. 164, n. 1, p. 72-79, 2015.

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

O'DONNELL, J. F.; BARON, J. A. A strategy to teach medical decision making within a medical school curriculum. **Journal of Cancer Education**, v. 6, n. 3, p. 123-128, 1991.

OSSIPOV, M. H.; DUSSOR, G. O.; PORRECA, F. Central modulation of pain. **The Journal of clinical investigation**, v. 120, n. 11, p. 3779-3787, 2010.

PARNHAM, M. J. et al. Ebselen: a new approach to the inhibition of peroxide-dependent inflammation. **International journal of tissue reactions**, v. 9, n. 1, p. 45-50, 1987.

PARNHAM, M. J. et al. Selenium, hydroperoxides and atherosclerosis. **Inflammation Research**, v. 22, n. 3, p. 353-354, 1987.

PARNHAM, M. J.; GRAF, E. Pharmacology of synthetic organic selenium compounds. In: Progress in Drug Research/Fortschritte der Arzneimittelforschung/Progrès des recherches pharmaceutiques. **Birkhäuser Basel**. p. 9-47. 1991.

PARNHAM, M. J.; WINKELMANN, J.; LEYCK, S. Macrophage, lymphocyte and chronic inflammatory responses in selenium deficient rodents. Association with decreased glutathione peroxidase activity. **International journal of immunopharmacology**, v. 5, n. 5, p. 455-461, 1983.

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

PERLA, A. Estudo do comportamento nociceptivo, por meio dos reflexos de auto-limpeza e retirada da cauda, em modelo de ativação periférica e sistêmica de vias trigeminais. 2007. Perspectives. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1842, n. 8, p. 1219-1231, 2014.

PICCO, A. et al. Plasma antioxidants and brain glucose metabolism in elderly subjects with cognitive complaints. **European journal of nuclear medicine and molecular imaging**, v. 41, n. 4, p. 764-775, 2014.

PIETROVSKI, E. F. **Avaliação da atividade antinoceptiva do extrato etanólico e de princípios ativos obtidos das flores de Combretum leprosum Mart. 2004.**

**71f.** 2004. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná.

PIMENTA, C. A. et al. League against pain: an experiment in extracurricular teaching. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 32, n. 3, p. 281-289, 1998.

PINHEIRO, B. G. et al. Chemical composition, antinociceptive and anti-inflammatory effects in rodents of the essential oil of *Peperomia serpens* (Sw.) Loud. **Journal of ethnopharmacology**, v. 138, n. 2, p. 479-486, 2011.

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

PURSER, L.; WARFIELD, K.; RICHARDSON, C. Making pain visible: an audit and review of documentation to improve the use of pain assessment by implementing pain as the fifth vital sign. **Pain management nursing**, v. 15, n. 1, p. 137-142, 2014.

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

RASCATI, R. J. Induction of retrovirus gene expression by selenium compounds. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 117, n. 1-2, p. 67-78, 1983.

REDDY, P. H. Abnormal tau, mitochondrial dysfunction, impaired axonal transport of mitochondria, and synaptic deprivation in Alzheimer's disease. **Brain research**, v. 1415, p. 136-148, 2011.

REILLY, M. M.; SHY, M. E. Diagnosis and new treatments in genetic neuropathies. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, v. 80, n. 12, p. 1304-1314, 2009.

RICHARDS, N.; MCMAHON, S. B. Targeting novel peripheral mediators for the treatment of chronic pain. **British journal of anaesthesia**, v. 111, n. 1, p. 46-51, 2013.

RIKKERT, O. et al. Differences in nutritional status between very mild Alzheimer's disease patients and healthy controls. **Journal of Alzheimer's disease**, v. 41, n. 1, p. 261-271, 2014.

ROSSI, A. C.; HSU, J. P.; FAICH, G. A. Ulcerogenicity of piroxicam: an analysis of spontaneously reported data. **Br Med J (Clin Res Ed)**, v. 294, n. 6565, p. 147-150, 1987.

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

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

SCHNELL, R. C. et al. Protective effects of selenium on acetaminophen-induced hepatotoxicity in the rat. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 95, n. 1, p. 1-11, 1988.

SCHWARZ, K.; FOLTZ, C. M. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. **Journal of the American Chemical Society**, v. 79, n. 12, p. 3292-3293, 1957.

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

SILBERSTEIN, S. D.; YOUNG, W. B. Analgesic rebound headache. **Drug safety**, v. 13, n. 3, p. 133-144, 1995.

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

SOUSA, F. S. S. et al. Evaluation of Se-phenyl-thiazolidine-4-carboselenoate protective activity against oxidative and behavioral stress in the maniac model induced by ouabain in male rats. **Neuroscience letters**, v. 651, p. 182-187, 2017.

SRIVASTAVA, T. N.; SRIVASTAVA, P. C.; SRIVASTAVA, S. K. Molecular Adducts of Triphenyltin Isoselenocyanate & their Biocidal Activity. 1981.

STONE, W. L. et al. Effects of dietary selenium and Vitamin E on plasma lipoprotein cholesterol levels in male rats. **Annals of nutrition and metabolism**, v. 30, n. 2, p. 94-103, 1986.

SVARSTAD, B. L. Stress and the use of nonprescription drugs: An epidemiological study. **Research in Community & Mental Health**, 1983.

SWERDLOW, R. H.; BURNS, J. M.; KHAN, S. M. The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis: progress and perspectives. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1842, n. 8, p. 1219-1231, 2014.

TASSET, I. et al. Peripheral oxidative stress in relapsing–remitting multiple sclerosis. **Clinical biochemistry**, v. 45, n. 6, p. 440-444, 2012.

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

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

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

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

VIZUETE, M. L. et al. 1-Methyl-4-phenylpyridinium has greater neurotoxic effect after selenium deficiency than after vitamin E deficiency in rat striatum. **European Journal of Pharmacology: Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 270, n. 2-3, p. 183-187, 1994.

VOLKOW, N. D.; MCLELLAN, A. T. Opioid abuse in chronic pain—misconceptions and mitigation strategies. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 13, p. 1253-1263, 2016.

VURAL, H. et al. Alterations of plasma magnesium, copper, zinc, iron and selenium concentrations and some related erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients



with Alzheimer's disease. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 24, n. 3, p. 169-173, 2010.

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

WALSH, R. N.; CUMMINS, R. A. The open-field test: a critical review. **Psychological bulletin**, v. 83, n. 3, p. 482, 1976.

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

WHITTLE, B. A. The use of changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and nonnarcotic analgesics. **British Journal of Pharmacology and Chemotherapy**, v. 22, n. 2, p. 246-253, 1964.

WILLETT, W. C.; STAMPFER, M. J. Selenium and cancer. *BMJ*: **British Medical Journal**, v. 297, n. 6648, p. 573, 1988.

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

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

YAKSH, Tony L. et al. The search for novel analgesics: targets and mechanisms. **F1000prime reports**, v. 7, 2015.

YOSHIYAMA, Y.; LEE, V.; TROJANOWSKI, J. Q. Therapeutic strategies for tau mediated neurodegeneration. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 84, n. 7, p. 784-795, 2013.

ZACHARA, B. A. et al. Tissue level, distribution and total body selenium content in healthy and diseased humans in Poland. **Archives of Environmental Health: An International Journal**, v. 56, n. 5, p. 461-466, 2001.

ZECCA, L. et al. The role of iron and copper molecules in the neuronal vulnerability of locus coeruleus and substantia nigra during aging. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 26, p. 9843-9848, 2004.

**ANEXO**



Pelotas, 05 de outubro de 2017

Certificado

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

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

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

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

**M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix**

*Presidente da CEEA*

Ciente em: 25/10/2017

Assinatura do Professor Responsável: \_\_\_\_\_