

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



Dissertação

Ação do tipo ansiolítica e antidepressiva do composto 3-((4-metoxifenil)selanil)-2-fenilbenzofurano em camundongos

Estela Hartwig Ribeiro

Pelotas, 2021

Estela Hartwig Ribeiro

Ação do tipo ansiolítica e antidepressiva do composto 3-((4-metoxifenil)selanil)-2-fenilbenzofurano em camundongos

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cristiani Folharini Bortolatto

Coorientador: Prof. Dr. César Augusto Brüning

Pelotas, 2021

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

R484a Ribeiro, Estela Hartwig

Ação do tipo ansiolítica e antidepressiva do composto 3-((4-metoxifenil)selanil)-2-fenilbenzofurano em camundongos / Estela Hartwig Ribeiro ; Cristiani Folharini Bortolatto, orientadora ; César Augusto Bruning, coorientador. — Pelotas, 2021.

116 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Selênio. 2. Benzofurano. 3. Transtornos psiquiátricos. 4. Depressão. 5. Ansiedade. I. Bortolatto, Cristiani Folharini, orient. II. Bruning, César Augusto, coorient. III. Título.

CDD : 574.192

Estela Hartwig Ribeiro

Ação do tipo ansiolítica e antidepressiva do composto 3-((4-metoxifenil)selanil)-2-fenilbenzofurano em camundongos

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

Data de defesa: 04 de agosto de 2021.

Banca examinadora:

Cristiani Folharini Bortolatto

.....
Prof^a. Dr^a. Cristiani Folharini Bortolatto (Orientadora)

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

Caroline Brandão Quines

.....
Prof^a. Dr^a. Caroline Brandão Quines

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

Tuane Bazanella Sampaio

.....
Prof^a. Dr^a. Tuane Bazanella Sampaio

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

Agradecimentos

Ao PPGBBio, à UFPel e a minha orientadora, professora **Cristiani Folharini Bortolatto**, pela sua dedicação e paciência durante o projeto. Por acreditar que, mesmo sem dedicação exclusiva, eu conseguiria alcançar meu objetivo.

Ao meu coorientador, professor **César Augusto Brüning**, pelas dicas nos seminários ao longo do curso e por toda a ajuda durante a realização deste trabalho.

Ao **Hospital Escola da Universidade Federal de Pelotas**, em especial a minha chefia **Camila Perceu Gautério** e **Kátia Leston Bacelo**, por me conceder turnos livres para realização das aulas e experimentos.

Aos meus colegas de curso pelas trocas de ideias e ajuda mútua. Em especial, as minhas colegas, **Ediandra Tissot Castro** e **Taís da Silva Teixeira Rech**, que me ajudaram nos experimentos no laboratório, sem elas não teria conseguido terminar o meu trabalho.

A aluna de iniciação científica **Letícia Devantier Kruger** pela colaboração nas etapas laboratoriais iniciais deste trabalho. Aos alunos de iniciação científica, **Dianer Nornberg Strelow** e **Amália Gonçalves Alves**, pela ajuda contínua. Também aos demais colegas do LABIONEM pelo aprendizado nos seminários ao longo do curso.

Aos membros da banca examinadora, **Tuane Bazanella Sampaio** e **Caroline Quines**, que tão gentilmente aceitaram participar e colaborar com esta dissertação.

Ao meu **marido e filhos** por todo amor, carinho, compreensão e apoio em tantos momentos difíceis desta caminhada. Obrigado por permanecerem ao meu lado, mesmo sem os carinhos rotineiros, sem a atenção devida e depois de tantos momentos de lazer perdidos.

A **Deus**, pela dádiva da vida e por me permitir realizar tantos sonhos nesta existência. Obrigado por me permitir errar, aprender e crescer e pela sua voz “invisível” que não me permitiu desistir.

Por fim, a **todos aqueles que contribuíram**, direta ou indiretamente, para a realização desta dissertação, o meu sincero agradecimento.

Resumo

RIBEIRO, Estela Hartwig. **Ação do tipo ansiolítica e antidepressiva do composto 3-((4-metoxifenil)selanil)-2-fenilbenzofurano em camundongos.**

Orientadora: Cristiani Folharini Bortolatto. 2021. 116f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.

A depressão é uma das patologias mais comuns na modernidade e frequentemente está associada a transtornos de ansiedade. Em razão de casos de resistência medicamentosa, efeitos adversos graves ou atraso na resposta terapêutica aos medicamentos atualmente disponíveis, diversos estudos têm almejado a caracterização farmacológica e toxicológica de candidatos a fármacos para o tratamento destas condições psiquiátricas. Compostos da classe 3-organoselanil benzofuranos (SeBZF) têm sido estudados por nosso grupo de pesquisa quanto às suas propriedades antioxidantes e psicoterapêuticas. Por esta razão, o objetivo deste estudo foi investigar a ação do tipo ansiolítica e antidepressiva de compostos SeBZF substituídos (SeBZF**2-5**) em camundongos *Swiss* machos, comparando-a ao seu protótipo não substituído (2-fenil-3-(fenilselanil)benzofurano - SeBZF**1**), ou seja, se a modificação estrutural pela adição de substituintes traria algum benefício ao composto. A triagem conduzida para a detecção do potencial do tipo ansiolítico no teste do claro-escuro (TCE) demonstrou que somente o SeBZF**3** (3-((4-metoxifenil)selanil)- 2-fenilbenzofurano) causou um significativo aumento do tempo gasto no compartimento claro do aparato. Além disso, os dados das curvas dose e tempo dependentes revelaram que o SeBZF**3** exerce efeitos do tipo antidepressivo no teste de suspensão pela cauda (TSC) (5-50 mg/kg) e no teste do nado forçado (TNF) (50 mg/kg), causando efeitos mais duradouros quando comparados ao protótipo da classe SeBZF**1**, previamente estudado. Testes adicionais foram realizados com o SeBZF**3**, o qual apresenta um substituinte metóxi, para investigar a possível contribuição do sistema serotoninérgico na ação do tipo antidepressiva do SeBZF**3**. Os efeitos anti-imobilidade do composto no TSC foram bloqueados pela pré-administração de antagonistas dos receptores serotoninérgicos (WAY100635, cetanserina e ondansetrona). Além disso, a administração combinada de doses subefetivas de SeBZF**3** e fluoxetina (um inibidor seletivo da recaptação de serotonina, ISRS) produziram um efeito sinérgico no TSC. Não foram detectadas alterações na atividade locomotora e exploratória dos animais expostos ao SeBZF**3** durante os diferentes grupos de experimentos comportamentais. Estudos de docagem molecular sugeriram possíveis interações moleculares entre o SeBZF**3** e os alvos moleculares serotoninérgicos avaliados (receptores 5-HT_{2A} e 5-HT_{2C} e transportador de serotonina - SERT). Por fim, os achados do ensaio para a avaliação da toxicidade oral aguda a uma dose elevada (300 mg/kg), sugerem uma relativa segurança deste composto, visto que não houve alterações nos parâmetros avaliados. Em conjunto, os achados do presente estudo fornecem evidências para a ação do tipo ansiolítica e antidepressiva do SeBZF**3** e seu baixo potencial em gerar efeitos adversos graves. Ademais, os dados sugerem uma possível interação entre o SeBZF**3** e o sistema serotoninérgico. Portanto, o SeBZF**3** apresenta-se como um

potencial candidato para tratar transtornos psiquiátricos tais como a depressão e ansiedade.

Palavras chave: selênio; benzofurano; transtornos psiquiátricos; depressão; ansiedade; serotonina; testes pré-clínicos.

Abstract

RIBEIRO, Estela Hartwig. **Anxiolity and antidepressant-like action of compound 3-((4-methoxyphenyl)selanyl)-2-phenylbenzofuran in mice.** Advisor: Cristiani Folharini Bortolatto. 2021. 116f. Dissertation (Master of Science) – Biochemistry and Bioprospecting Postgraduate Program – Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2021.

Depression is one of the most common pathologies in modern times and is frequently associated with anxiety disorders. Due to cases of drug resistance, serious adverse effects, or delay in therapeutic response to currently available drugs, several studies have aimed at the pharmacological and toxicological characterization of drug candidates for the treatment of these psychiatric conditions. Compounds of the 3-organoselanyl benzofurans (SeBZF) class have been studied by our research group for their antioxidant and psychotherapeutic properties. For this reason, this study aimed to investigate the anxiolytic and antidepressant-like action of substituted SeBZF compounds (SeBZF2-5) in male Swiss mice, comparing it to its unsubstituted prototype (2-phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran - SeBZF1), i.e., whether the structural modification by the addition of substituents would bring any benefit to the compound. The screening conducted for the detection of an anxiolytic-type potential in the light-dark test (LDT) demonstrated that SeBZF3 (3-((4-methoxyphenyl)selanyl)-2-phenylbenzofuran) alone caused a significant increase in the time spent in the light compartment of the apparatus. In addition, dose- and time-dependent curve data revealed that SeBZF3 exerts antidepressant-like effects in the tail suspension test (TST) (5-50 mg/kg) and forced swim test (FST) (50 mg/kg), causing longer-lasting effects when compared to the previously studied prototype SeBZF1 class. Additional tests were performed with SeBZF3, which features a methoxy substituent, to investigate the possible contribution of the serotonergic system in the antidepressant-like action of SeBZF3. The anti-immobility effects of the compound on the TST were blocked by pre-administration of serotonergic receptor antagonists (WAY100635, ketanserin, and ondansetron). In addition, the combined administration of sub-effective doses of SeBZF3 and fluoxetine (a selective serotonin reuptake inhibitor, SSRI) produced a synergistic effect on TST. No changes were detected in the locomotor and exploratory activity of animals exposed to SeBZF3 during the different behavioral sets. Molecular docking studies suggested possible molecular interactions between SeBZF3 and the serotonergic molecular targets evaluated (5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors and serotonin transporter - SERT). Finally, the assay findings for the evaluation of acute oral toxicity at a high dose (300 mg/kg) suggest a relative safety of this compound, as there were no changes in the parameters evaluated. Taken together, the findings of the present study provide evidence for the anxiolytic and antidepressant-type action of SeBZF3 and its low potential to generate serious adverse effects. Furthermore, the data suggest a possible interaction between SeBZF3 and the serotonergic system. Therefore, SeBZF3 presents itself as a potential candidate to treat psychiatric disorders such as depression and anxiety.

Keywords: selenium; benzofuran; psychiatric disorders; depression; anxiety; serotonin; preclinical testing.

Lista de figuras

Figura 1	Fatores metabólicos envolvidos no eixo cérebro-intestino- coração associados com a depressão.....	26
Figura 2	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.....	27
Figura 3	Alteração na expressão de BDNF em decorrência do polimorfismo Val/Met.....	29
Figura 4	Estrutura das monoaminas.....	30
Figura 5	Caminhos de sinalização de receptores 5-HT _{1B}	33
Figura 6	Reação geral de síntese de 3 calcogênio benzo[b]furanos....	45
Figura 7	Estrutura dos compostos SeBZF.....	46

Lista de tabelas

Tabela 1	Sintomas do Transtorno Depressivo Maior.....	22
Tabela 2	Fatores associados à depressão.....	23
Tabela 3	Receptores 5-HT e seus subtipos.....	31

Lista de abreviaturas e siglas

5-HT	5-hidroxitriptamina ou Serotonina
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
ADT	Antidepressivo tricíclico
ATP	Adenosina trifosfato
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
BHE	Barreira hematoencefálica
CaM	Calmodulina
AMPC	Adenosina 3',5' monofosfato cíclico
CID	Classificação Internacional de Doenças
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
DA	Dopamina
DSM-V 5ªEdição	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais –
GABA	Ácido gama aminobutírico
HHA	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
IL-1 β	Interleucina 1-beta
IL-6	Interleucina 6
IMAO	Inibidor da monoamino oxidase
IRND	Inibidor da recaptação de noradrenalina e dopamina
ISRS	Inibidor seletivo da receptação de serotonina
JAK2	Proteína janus quinase 2
MAO-A	Monoamina oxidase A

Met	Metionina
NA	Noradrenalina (norepinefrina)
NADPH-oxidase	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase
OMS	Organização mundial da saúde
PI3K	Fosfatidilinositol-3-quinase
SeBZF1	2-fenil-3-(fenilselanil)benzofurano
SeBZF2	3-(4-fluorofenil)selanil)-2-fenilbenzofurano
SeBZF3	3-((4-metoxifenil)selanil)-2-fenilbenzofurano
SeBZF4	3-(4-clorofenil)selanil)-2-fenilbenzofurano
SeBZF5	2-fenil-3-(p-tolilselanil)benzofurano
SeBZF-S	3-organoselanil-benzofurano substituído
SNC	Sistema nervoso central
TDM	Transtorno depressivo maior
TNF	Teste do nado forçado
TSC	Teste de suspensão pela cauda
Val	Valina
VP	Vasopressina
8-OH-DPAT	8-hidroxi-2- (di-n-propilamino) tetralina

Sumário

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS.....	18
2.1 OBJETIVO GERAL	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3 REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1 ASPECTOS GERAIS DA ANSIEDADE.....	19
3.2 ASPECTOS GERAIS DA DEPRESSÃO	20
3.3 FISIOPATOLOGIA DA DEPRESSÃO.....	22
3.3.1 <i>Hipótese glutamatérgica da depressão</i>	<i>24</i>
3.3.2 <i>Hipótese neuroinflamatória da depressão.....</i>	<i>25</i>
3.3.3 <i>Hipótese neuroendócrina da depressão.....</i>	<i>27</i>
3.3.4 <i>Hipótese neurotrófica da depressão.....</i>	<i>28</i>
3.3.5 <i>Hipótese monoaminérgica da depressão</i>	<i>29</i>
3.4 TRATAMENTOS FARMACOLÓGICOS PARA DEPRESSÃO	37
3.5 USO DE ROEDORES EM EXPERIMENTAÇÃO	39
3.6 SELÊNIO E COMPOSTOS ORGÂNICOS DE SELÊNIO	40
3.7 BENZOFURANO.....	44
3.8 COMPOSTOS HÍBRIDOS DA CLASSE 3-ORGANOSELANIL-BENZOFURANOS (SEBZF)....	45
4. MANUSCRITO	47
5. DISCUSSÃO	93
6. CONCLUSÃO	99
REFERÊNCIAS.....	100
PARECER CEEA.....	116

1 Introdução

Transtornos mentais comuns, incluindo depressão e ansiedade, afetam negativamente a saúde geral e a qualidade de vida das pessoas. O transtorno depressivo maior (TDM) é uma doença multifatorial caracterizada por humor negativo persistente, sofrimento profundo, psicomotor e sintomas cognitivos (TAKAO *et al.*, 2021). A depressão afeta mais de 300 milhões de pessoas em todo o mundo (OMS, 2017), e a pandemia do coronavírus (COVID-19, do inglês, *coronavirus disease*) teve um impacto negativo na saúde mental da população, sendo associada a uma alta prevalência global de transtornos psiquiátricos (BUENO-NOTIVOL *et al.*, 2021) porque as pessoas estão mais vulneráveis psicologicamente neste momento.

A depressão é uma das patologias mais comuns na modernidade, acometendo pessoas de diferentes idades, sendo considerada uma causa preocupante de morbidade e mortalidade no Brasil (SANTOS *et al.*, 2021), ocupando a quinta colocação entre os países com mais casos de depressão no mundo, com 11,5 milhões de diagnósticos, o que representa 9,3% da população (BRITO; LOPES; BARROS, 2020). Frequentemente a doença está associada a transtornos de ansiedade, com 18,6 milhões de casos, com destaque para o Brasil, que é o país com maior número de casos de ansiedade no mundo (BRITO; LOPES; BARROS, 2020).

Esses dados alarmantes se somam a sua sintomatologia, que é caracterizada por sintomas que atingem o corpo, abalam o humor, determinam comportamentos e afetam as esferas pessoais e profissionais de quem sofre com a doença. Melancolia, perda de interesse por atividades rotineiras tidas como afáveis e cansaço fácil são alguns dos sintomas descritos na depressão (ZANONATO; COSTA; AOSANI, 2021). Nas crianças e adolescentes, estão associadas a baixa aprendizagem, desinteresse pelo processo de socialização, brincadeiras e afeto, também atinge o corpo com casos de psoríase, ganho ou perda de peso (MEHANNA; JAMAL; CAMPAGNOLO, 2015).

Os impactos da depressão geram perdas para o sistema de saúde, oneram a previdência social e geram problemas familiares e sociais. No entanto, apesar do seu contexto relevante ainda não existe um consenso sobre suas causas, havendo

várias teorias que visam explicar os mecanismos fisiopatológicos da depressão. A partir do exposto, percebe-se a complexidade desta doença refletida por mecanismos fisiopatológicos múltiplos, os quais, muito frequentemente, estão inter-relacionados. Além disso, dos pacientes que recebem algum tipo de tratamento, cerca de 30% não respondem adequadamente às terapias (resistência medicamentosa) (OMS, 2017). Soma-se a isso, a resposta terapêutica tardia bem como uma série de efeitos colaterais importantes que podem surgir com o uso de fármacos antidepressivos, tornando esta doença um grande desafio na área médica (KESSLER, *et al.*, 2003; BELUJON, *et al.*, 2017). O estudo destes mecanismos e o processo de desenvolvimento de novas terapias estão usualmente pautados, em algum momento, na utilização de modelos pré-clínicos. Com base nisso, cabe mencionar que os modelos animais têm auxiliado nas investigações acerca da depressão humana, uma vez que as mudanças comportamentais e estruturais encontradas nos animais assemelham-se às encontradas nos humanos (SEEWOO *et al.*, 2020).

Estudos também relataram ações biológicas dos derivados de benzofurano (heterociclos contendo oxigênio) incluindo ações antioxidantes e ações semelhantes aos antidepressivos, além de perspectiva para tratar os sintomas da doença de Alzheimer (GALL *et al.*, 2020; GOYAL *et al.*, 2018; YU-HANG, 2019), inferindo que compostos que contenham o núcleo benzofurano na sua estrutura sejam promissores para o desenvolvimento de novas drogas. Além disso, a inserção de selênio (Se) em moléculas contendo o núcleo de benzofurano foi usado como estratégia sintética por Gay *et al.* (2010), resultando em uma classe de 3-calcogênio benzo[b]furanos (SeBZF).

Nosso grupo de pesquisa recentemente demonstrou a ação do tipo antidepressiva do 2-fenil-3-(fenilselanil)benzofurano (SeBZF1) em camundongos (GALL *et al.*, 2020). Segundo Gall e colaboradores (2020) todos os compostos SeBZF apresentaram ação antioxidante em cérebro de camundongos *in vitro*. Além disso, o tratamento oral agudo com o SeBZF1 causou ação do tipo antidepressiva em camundongos machos submetidos ao teste do nado forçado (TNF) e ao teste de suspensão pela cauda (TSC). Em relação aos mecanismos de ação, foi sugerido possíveis modulações sobre o sistema serotoninérgico pelo composto, além de atuar como um agente protetor contra o estresse oxidativo em hipocampo induzido pela

depleção de 5-HT. Rech e colaboradores (2021) demonstraram que o SeBZF1 também parece agir sobre o sistema dopaminérgico, além de apresentar atividade do tipo antidepressiva em fêmeas.

Considerando o potencial biológico desta classe de compostos SeBZF, o nosso grupo de pesquisa investigou se a adição de diferentes substituintes à estrutura base do composto poderia trazer alguma vantagem frente ao protótipo SeBZF1, o qual tem sido descrito como um importante alvo de estudo na busca de terapêuticas para o tratamento da depressão. Subsequentemente, realizou-se a caracterização e elucidação da atividade do tipo ansiolítica e antidepressiva do composto mais promissor (SeBZF3) e a testagem de sua relativa segurança.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial do tipo ansiolítico e antidepressivo de um 3-organoselanil-benzofurano substituído (SeBZF-S) em camundongos Swiss machos.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar o potencial do tipo ansiolítico e antidepressivo de diferentes compostos SeBZF-S (SeBZF**2-5**) em testes comportamentais preditivos de ação do tipo antidepressiva e ansiolítica, comparando os efeitos ao protótipo da classe não substituído (SeBZF**1**);
- ✓ Selecionar o mais promissor SeBZF-S e caracterizar a sua ação do tipo ansiolítica e antidepressiva através da realização de curvas de dose e tempo-resposta;
- ✓ Investigar, através de estratégias de farmacologia comportamental, a contribuição do sistema serotoninérgico na ação do tipo antidepressiva do SeBZF-S selecionado;
- ✓ Avaliar a possível interação entre o SeBZF-S selecionado e proteínas-alvo serotoninérgicas (receptores 5-HT_{2A} e 5-HT_{2C} e SERT) através de docagem molecular;
- ✓ Realizar o ensaio de toxicidade oral aguda do SeBZF-S selecionado para prever sua segurança.

3 Revisão de literatura

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) mais de 300 milhões de pessoas sofrem de depressão em todo o mundo (OMS, 2017). Esses dados refletem a dinâmica da sociedade moderna e a sua relação com o estresse crônico, que contribui para o surgimento de transtornos mentais e comportamentais (FERNANDES, *et al.*, 2018). Ainda, segundo a OMS, o número de casos de transtornos mentais comuns (depressão e ansiedade) vem aumentando, em particular, nos países de baixa e média renda. O Brasil tem o maior número de pessoas ansiosas do mundo, e muitas pessoas experimentam ambas as condições simultaneamente (comorbidade). O fato destas doenças poderem coexistir favorece a cronicidade da depressão, atrasa a recuperação, aumenta a taxa de recaída após o tratamento e pode aumentar o número de tentativas de suicídio (OMS, 2017).

3.1 Aspectos gerais da ansiedade

A ansiedade é tida como um estado de angústia e inquietação na iminência de um perigo incerto e este comportamento é inerente ao ser humano, porém quando a ansiedade se torna generalizada, ela pode ser debilitante e ser considerada patológica (HUR *et al.*, 2020). De acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-V, do inglês *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*) para ser considerada ansiedade generalizada devem ser incluídos critérios como ansiedade e preocupação excessivas de difícil controle, inquietação, dificuldade em concentrar-se, tensão muscular e perturbação do sono. A presença de tais fatores gera um comprometimento significativo do funcionamento social e profissional do indivíduo, no entanto, muitas vezes são subdiagnosticados (RAUPP *et al.*, 2021).

O estresse tem sido associado como principal fator para o desenvolvimento da ansiedade (OMS, 2017). Neste contexto, o estresse oxidativo, aumento dos níveis de glicocorticoide e redução dos fatores neurotróficos no cérebro tem sido associado à fisiopatologia da ansiedade. O ácido gama-aminobutírico (GABA) é um importante neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central (SNC), e disfunções no sistema GABAérgico parecem estar envolvidas com transtornos de ansiedade, insônia, epilepsia e esquizofrenia. Com base nisso, os receptores

GABA têm sido alvo de drogas ansiolíticas, como por exemplo, os benzodiazepínicos (PALTIAN *et al.*, 2020).

A 5-HT também demonstrou envolvimento significativo na regulação do humor e estados afetivos. Clinicamente, a buspirona, um agonista parcial 5-HT_{1A}, tem sido efetiva para o tratamento da ansiedade generalizada. Ela atua preferencialmente em nível dos autoreceptores 5-HT_{1A} nos núcleos da rafe e a ativação desses autoreceptores pré-sinápticos diminui a quantidade de 5-HT em nível pós-sináptico (provavelmente na amígdala e hipocampo) (PINHEIRO *et al.*, 2002). Mosaffa e colaboradores (2020) demonstraram um envolvimento dos receptores 5-HT₂ no desenvolvimento do comportamento do tipo ansiolítico e antidepressivo de camundongos machos. Em virtude disso, compostos que atuem via sistema serotoninérgico têm sido promissores para o tratamento de distúrbios psiquiátricos como a depressão e a ansiedade.

3.2 Aspectos gerais da depressão

Os primeiros relatos de depressão datam do século II D.C. e eram identificados como transtornos de humor, habitualmente caracterizada também como esquizofrenia. Foi somente no final do século XIX que o psiquiatra alemão Emil Kraepelin ofereceu uma classificação diagnóstica para a depressão (LAURINDO, 2017). A depressão é um dos transtornos mentais mais recorrentes da contemporaneidade (GONÇALVES *et al.*, 2019; KIM *et al.*, 2017; VENTURA *et al.*, 2016; ZANONATO; COSTA; AOSANI, 2021). A OMS estimou que, em 2015, 264 milhões (3,6%) de pessoas em todo o mundo apresentavam algum transtorno de ansiedade e/ou depressão, sendo mais comum entre as mulheres (BRITO; LOPES; BARROS, 2020; GONÇALVES *et al.*, 2018), que possuem o risco duas vezes maior que os homens de desenvolver quadros depressivos iniciais (KIM *et al.*, 2017; VENTURA *et al.*, 2016).

Trata-se da segunda maior causa de incapacidade no mundo, perdendo apenas para as doenças cardíacas isquêmicas (COLAÇO, 2018). Morrem, a cada ano, aproximadamente 800 mil pessoas por suicídio atribuído à depressão, sendo essa a segunda maior causa de morte de pessoas com idades entre 15 e 29 anos (BRITO; LOPES; BARROS, 2020). Economicamente, o impacto nos Estados Unidos da América foi estimado em mais de US\$ 210 bilhões anuais, com quase

45% atribuíveis a custos diretos, 5% para os custos relacionados com suicídio e 50% para custos no local de trabalho (COLAÇO, 2018). No Brasil, cerca de 9,3% da população é afetada por este transtorno (SANTOS *et al.*, 2021), ocupando a quinta colocação entre os países com mais casos de depressão no mundo, com 11,5 milhões de diagnósticos (BRITO; LOPES; BARROS, 2020). Frequentemente a doença está associada a transtornos de ansiedade, com 18,6 milhões de casos, destaque para o Brasil, que é o país com maior número de casos de ansiedade no mundo (BRITO; LOPES; BARROS, 2020).

Atualmente, o diagnóstico para transtornos psiquiátricos baseia-se em critérios como o DSM-V, conforme Classificação Internacional de Doenças (CID) ou métodos classificatórios que amparam a identificação e rastreamento da doença (DINIZ; NEVES; VIEIRA, 2020; GUERRA; MESQUITA, 2020) que deve apresentar sinais clínicos com presença de humor triste, vazio ou irritável, acompanhado de alterações somáticas e cognitivas que afetam de forma significativa a capacidade funcional do indivíduo (CRUZ; BONFIM, 2020), afetando também suas relações familiares e sociais, caracterizada por uma profunda tristeza, pensamentos pessimistas, sentimento de culpa, alterações no sono e apetite (SANTOS *et al.*, 2021). Outro estudo (SANTANA, 2017) acrescenta que pode haver também uma perda ou ganho de peso sem estar em dieta, insônia ou sono excessivo, agitação ou retardo psicomotor, cansaço, diminuição da concentração, indecisão, sentimento de inutilidade ou culpa e pensamentos suicidas.

O TDM é o subtipo de depressão mais comumente diagnosticado e com maior gravidade. Caracteriza-se por episódios distintos com, no mínimo, duas semanas de duração, envolvendo: presença de humor deprimido e/ou perda de prazer ou interesse, somados à presença de alguns ou todos os seguintes sintomas: alteração do sono, alteração do peso e do comportamento alimentar, alteração psicomotora, fadiga ou perda de energia, prejuízo das funções cognitivas, sentimento de menos - valia ou sentimento excessivo de culpa e ideação suicida (ZANONATO; COSTA; AOSANI, 2021). Para o correto diagnóstico do TDM, de acordo com o DSM-V (2014), o indivíduo deve apresentar, no mínimo, cinco sintomas (Tabela 1) em um período de duas semanas, sendo esses, na maioria das vezes, descritos por relatos subjetivos ou observações de

peessoas próximas ao paciente. Entre esses cinco sintomas, existe, ao menos, humor deprimido durante a maior parte do dia ou a perda de interesse ou prazer ao realizar as atividades que antes lhe eram satisfatórias (DINIZ; NEVES; VIEIRA, 2020; RAUPP *et al.*, 2021).

Tabela 1 - Sintomas do Transtorno Depressivo Maior

Crítérios	Sintomas
A1	Humor deprimido na grande parte do dia, quase todos os dias.
A2	Perda do fascínio, prazer, interesse na maioria, ou em todas as atividades cotidianas, quase todos os dias.
A3	Perda ou ganho considerável de peso sem estar em período de dieta, ou perda ou aumento do apetite (alterações no apetite), quase todos os dias.
A4	Insônia ou hipersonia, quase todos os dias.
A5	Agito ou retardo psicomotor (alterações psicomotoras), quase todos os dias.
A6	Fadiga ou escassez de energia, quase todos os dias.
A7	Sentimentos inapropriados, inutilidade e/ou culpa excessiva, autorrecriinação, que podem resultar em delírios.
A8	Perda de concentração, indecisão ou dificuldade em pensar, quase todos os dias.
A9	Pensamento contínuo de morte, intenção de suicídio sem planejamento e tentativa suicida.

Fonte: Adaptado de DINIZ; NEVES; VIEIRA, 2020.

3.3 Fisiopatologia da depressão

Não existe um consenso sobre a fisiopatologia da depressão (COLAÇO, 2018). AZEVEDO; SANTOS (2021), dividem a depressão em três estágios, também denominados de níveis ou fases, sendo elas: leve, moderada e grave. Inicialmente, na fase leve, não se indica o emprego da farmacoterapia, utilizando-se outras vertentes como terapias cognitivas, comportamentais e a psicoterapia interpessoal. Nos casos em que o transtorno já está em um nível mais avançado como moderado a grave, aplica-se a farmacoterapia, mesmo não tendo uma eficácia exata do tratamento, visto que os pacientes podem não aderir a essa terapêutica devido aos efeitos adversos, tolerabilidade do paciente e a ação farmacocinética.

Outros autores classificam a depressão de acordo com característica de alguns fatores como influências biológicas, psicológicas e genéticas (AZEVEDO; SANTOS, 2021; CRUZ; BONFIM, 2020; KUMAR; CHONG, 2018; PARK *et al.*, 2017). Esses mesmos estudos apontam que esta condição clínica envolve um conjunto de redes neuronais, neurotransmissores, hormônios, enzimas, genes e inclusive fatores ambientais. Considerando a análise dos fatores que se associam à depressão, estes podem ter origem ambiental, patológica e/ou fisiológica (Tabela 2). Esses fatores em conjunto podem desencadear o TDM e são apontados por uma extensa literatura.

Tabela 2 - Fatores associados à depressão

Fatores	Condições	Pesquisas
Fisiológicos	Idade	(GONÇALVES <i>et al.</i> , 2018)
	Sexo	(VENTURA <i>et al.</i> , 2016)
	Hormônios	(GONÇALVES <i>et al.</i> , 2018)
	Alterações de neurotransmissores	(DINIZ; NEVES; VIEIRA, 2020; VENTURA <i>et al.</i> , 2016)
	Genética	(DRUMOND, 2017; VIKTORIN <i>et al.</i> , 2015; WRAY <i>et al.</i> , 2018)
	Menopausa	(OLIVEIRA, 2018; PINHEIRO; COSTA, 2020)
	Sedentarismo	(ANIBAL; ROMANO, 2017; BORGES <i>et al.</i> , 2020; VENTURA <i>et al.</i> , 2016)
Fatores Ambientais	Uso de entorpecentes	(LUCCHESE <i>et al.</i> , 2017; PEREIRA, 2019)
	Etilismo/Alcoolismo	(ARAGÃO <i>et al.</i> , 2019; PEREIRA, 2019)
	Estresse	(MAIA, 2017; TEIXEIRA, 2017; TEIXEIRA <i>et al.</i> , 2020)
	Alimentação	(LOPES, 2020; PATIER <i>et al.</i> , 2018; RIBEIRO <i>et al.</i> , 2018)
	Condições socioeconômicas	(VENTURA <i>et al.</i> , 2016)
Fatores Patológicos	Doenças crônicas: câncer, diabetes, obesidade e infecções sexualmente transmissíveis	(GUERRA; MESQUITA, 2020; CRUZ; BONFIM, 2020; RAUPP <i>et al.</i> , 2021; GONÇALVES <i>et al.</i> , 2019; ANIBAL; ROMANO, 2017; VENTURA <i>et al.</i> , 2016)

Durante décadas, a hipótese monoaminérgica foi aceita para a explicação da fisiopatologia da depressão. No entanto, novas hipóteses foram surgindo, através de vários estudos científicos realizados, os quais foram e são úteis para complementar o mecanismo fisiopatológico (JUCÁ, 2018). Para fins desse estudo, se faz imprescindível relatar as diversas hipóteses da fisiopatologia do TDM, devido à alta prevalência e relevância desse tema, conforme descritas a seguir.

3.3.1 Hipótese glutamatérgica da depressão

Essa hipótese afirma que a exposição a eventos estressores promove aumento na liberação de glutamato no hipocampo. O glutamato é captado quando existe necessidade de finalizar a transmissão neural e utilizado para produzir glutamina (empregada na síntese de glutamato e GABA). A adulteração na transmissão glutaminérgica afeta os neurônios, além da neurotransmissão noradrenérgica, serotoninérgica e dopaminérgica, que são regulados por glutamato e GABA (SOUZA; GODINHO, 2020).

O glutamato é um dos neurotransmissores mais prevalentes liberados por neurônios excitatórios no SNC; entretanto, o glutamato residual no espaço extracelular é, potencialmente, neurotóxico. Atualmente está bem estabelecido que uma das funções fundamentais dos astrócitos é captar a maior parte do glutamato liberado simpaticamente, o que otimiza as funções neuronais e evita a excitotoxicidade glutamatérgica. No SNC, a depuração de glutamato é mediada por transportadores de captação de glutamato expressos, principalmente, pelos astrócitos (SOUZA *et al.*, 2019).

Curiosamente, estudos recentes (FELGER, 2019; SOUZA *et al.*, 2019) demonstram que o glutamato extracelular estimula a liberação de cálcio (Ca^{2+}) dos estoques intracelulares dos astrócitos, que desencadeia a liberação de glutamato dos astrócitos para os neurônios adjacentes, principalmente por um mecanismo exocitótico. Acredita-se que esse glutamato liberado coordene o disparo neuronal e pondere a sua atividade excitatória ou inibitória. Portanto, os astrócitos contribuem para a homeostase do glutamato no SNC, mantendo o equilíbrio entre suas funções opostas de captação e liberação de glutamato. Esta função dupla dos astrócitos

representa um alvo terapêutico potencial para doenças do SNC associadas à excitotoxicidade glutamatérgica.

3.3.2 Hipótese neuroinflamatória da depressão

Essa hipótese surgiu na década de 1980 por meio de trabalhos que demonstraram o componente neuroinflamatório da depressão, através da ativação de células mononucleares, no entanto, foi em 1991 que o papel das citocinas passaram a ser investigados (LAURINDO, 2017). As citocinas são moléculas proteicas ou glicoproteicas que variam entre 6 e 70 kDa, que podem ser produzidas por células do sistema imune ou células endoteliais e epiteliais da mucosa (MAIA, 2017). Com os estudos desenvolvidos concluíram que as citocinas pró-inflamatórias são responsáveis pela resposta da fase aguda na inflamação, colaborando para vários aspectos clínicos da depressão, dos quais se destacam a hiperatividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e distúrbio no metabolismo da 5-HT (GROSSO; VALENTÃO; ANDRADE, 2016; LAURINDO, 2017).

Outros estudos acrescentam que as citocinas apresentam três funções, sendo elas, a função autócrina (atuam na célula que as produzem), parácrina (atuam na proximidade da célula) e endócrina (agem como hormônios) (JUCÁ, 2018; MAIA, 2017). Também, as citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6 e TNF- α) exercem influência tanto no metabolismo de noradrenalina (NA), serotonina (5-HT) e dopamina (DA) como nas funções neuroendócrinas, levando à redução da curva de cortisol e ao aumento das concentrações de cortisol noturno, indicando a existência de uma ligação entre a ativação do eixo HHA e a resposta depressiva (GROSSO; VALENTÃO; ANDRADE, 2016).

A neuroinflamação é uma forma de resposta inflamatória no SNC, que é expressivamente afetada pelo estado da atividade neuronal e pela permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE). As respostas inflamatórias moderadas podem proteger o SNC, enquanto uma inflamação intensa agrava o comprometimento da homeostase do tecido (FREIBERGER, 2018). Sintomas depressivos e déficits cognitivos são frequentemente relatados em pacientes tratados com a citocina interferon alfa (RAUPP *et al.*, 2021; ZORN *et al.*, 2017).

A literatura tem demonstrado a importância para a abordagem sistêmica que tenha por objetivo melhorar o processo de neurotransmissão, trabalhando na crise energética, otimizando a adenosina trifosfato (ATP) e diminuindo níveis de cortisol (GUERRA; MESQUITA, 2020). Para alguns pesquisadores também deve-se evitar a disbiose e as alterações no sistema cardiovascular (CRUZ-FUENTES *et al.*, 2014; GUERRA; MESQUITA, 2020; JACKA *et al.*, 2015). Ademais, a mesma literatura aponta que a plasticidade neuronal está de modo íntimo ligado à produção endógena de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), que pode obter ganhos com a atividade física, consequentemente reduzindo o processo neuroinflamatório e prevenindo a obesidade. Para ilustrar esse processo, a Figura 1 apresenta os fatores metabólicos que envolvem o eixo cérebro-intestino-coração e estão associados com a depressão.

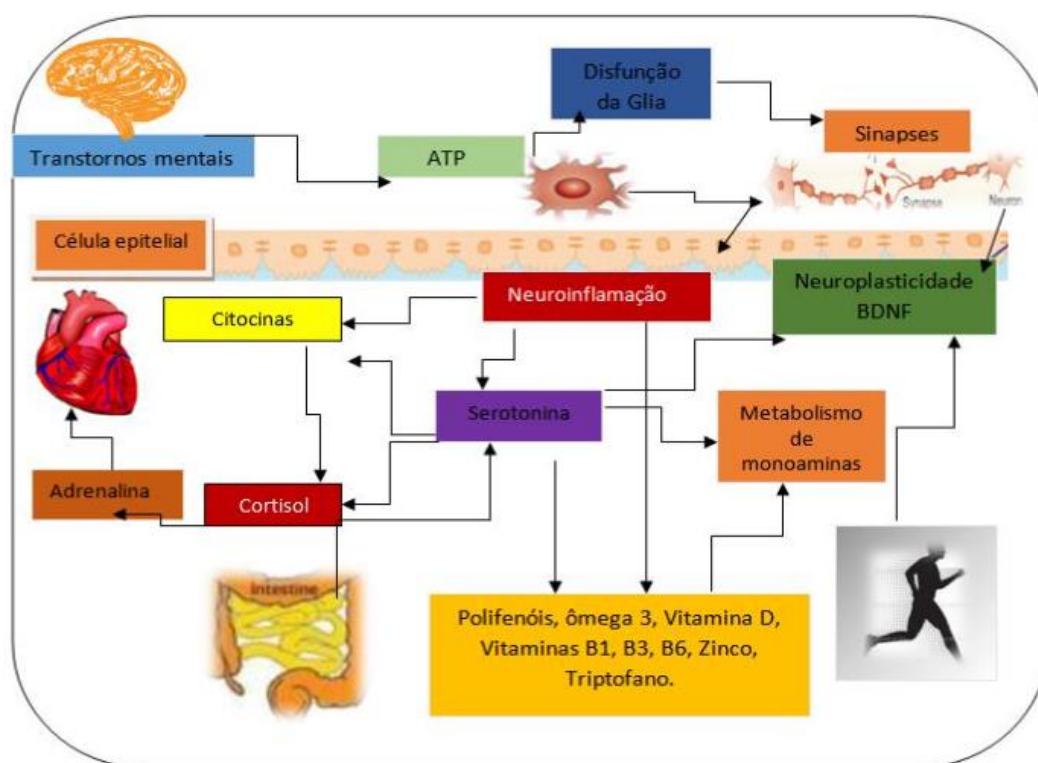


Figura 1 - Fatores metabólicos envolvidos no eixo cérebro-intestino-coração associados com a depressão.

Indivíduos com transtornos mentais podem ter redução de ATP, disfunções das células gliais, alterações na neuroplasticidade e formação do processo de neuroinflamação, que desencadeiam a liberação de citocinas e cortisol. Este quadro leva à diminuição de 5-HT, que pode ser revertida com a prática de atividade física, prevenção da disbiose e de alteração cardiovascular e suplementação.

Fonte: GUERRA; MESQUITA, 2020.

3.3.3 Hipótese neuroendócrina da depressão

No caso da depressão, a resposta inflamatória exacerbada, a partir da influência no eixo HHA parece gerar uma resistência aos glicocorticoides (RAUPP *et al.*, 2021). Em relação à fisiologia, tem-se que a exposição a um fator estressante agudo ativa o eixo HHA, que promoverá uma cascata de eventos endócrinos. Essa cascata contém a liberação e transporte do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e vasopressina (VP) de neurônios do núcleo paraventricular do hipotálamo para a hipófise anterior, onde ocorrerá o estímulo à liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) para a circulação sistêmica (LOPES, 2017). O ACTH, por sua vez, irá estimular a produção e liberação de glicocorticóides (cortisol em humanos e corticosterona em roedores) do córtex da adrenal para a circulação sistêmica, conforme demonstrado na Figura 2. Os neurônios hipotalâmicos são responsáveis por controlar a função hipofisária. Estes possuem aferências noradrenérgicas e serotoninérgicas, sendo responsáveis pela liberação do CRH, que estimula a secreção de cortisol. Nos pacientes depressivos há uma elevação da concentração de cortisol (TAVARES, 2018).

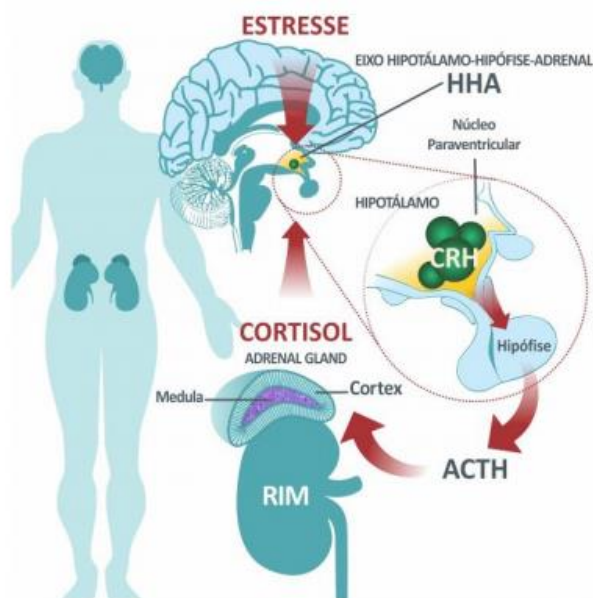


Figura 2 - Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.

Eventos estressores levam à ativação do eixo HHA promovendo uma cascata de eventos endócrinos, culminando na produção de cortisol.

Fonte: LOPES, 2017.

O estresse e o envolvimento do eixo HHA também apresenta relação com algumas estruturas como o hipocampo e a amígdala (LIYANARACHCHI; ROSS; DEBONO, 2017; MAIA *et al.*, 2020). O estímulo aumenta os níveis de cortisona e ocasiona um aumento da glândula pituitária, esse estímulo também tem sido relacionado com o aparecimento do déficit cognitivo nos pacientes e acarreta uma atrofia do tecido linfóide, com redução de células T e anticorpos, o que torna o indivíduo imunodeprimido (JUCÁ, 2018; LIYANARACHCHI; ROSS; DEBONO, 2017; ZORN *et al.*, 2017).

Inter-relacionando as duas teorias, sabe-se que concentrações séricas aumentadas de citocinas pró-inflamatórias estimulam o SNC e ativam o eixo HHA, aumentando o estresse oxidativo no cérebro. Além disso, evidências crescentes também sugerem que a resposta inflamatória mediada por citocinas está associada à depressão (RAUPP *et al.*, 2021; ZORN *et al.*, 2017). Alpert e colaboradores (2020) constataram em um estudo que pessoas com a síndrome Covid-19 na fase aguda da doença apresentavam altas concentrações sanguíneas das citocinas pró-inflamatórias, como por exemplo a interleucina-6 (IL-6), e a presença de comportamentos depressivos. Estes dados encontrados corroboram com a hipótese entre a associação de altas concentrações de citocinas e depressão.

3.3.4 Hipótese neurotrófica da depressão

Essa hipótese trabalha na expressão da depressão desencadeada pela redução das neurotrofinas nas áreas cerebrais. As neurotrofinas são proteínas responsáveis por regular a neurogênese, o desenvolvimento e a diferenciação, assim como, satisfazer a plasticidade neuronal, a morte celular e a diferenciação fenotípica. A primeira neurotrofina, o fator de crescimento do nervo (NGF – do inglês, *Nerve Growth Factor*), foi identificada em 1953 e estendeu os avanços da neurobiologia diante dos aspectos moleculares relacionado à fisiopatologia dos distúrbios neurológicos (JUCÁ, 2018).

Caracterizada como a principal neurotrofina do cérebro, o BDNF é bastante estudado, sendo alvo do desenvolvimento dos fármacos benéficos para o tratamento das doenças neuropsiquiátricas e neurodegenerativas. Estudos demonstraram que a resistência ao tratamento com os antidepressivos está relacionada a um

polimorfismo no gene BDNF (EL-HAGE *et al.*, 2015; LOPES, 2017). Esse polimorfismo, que pode ser induzido pelo estresse, consiste na substituição do aminoácido valina (Val) por metionina (Met) no códon 66 do BDNF e mostrou alterar a expressão e o processamento de BDNF, como representado na Figura 3. Esse fator de crescimento neurotrófico pode ser encontrado no hipocampo, neocórtex, amígdala e cerebelo, e é produzido pelas células da glia e núcleos neuronais. Também são produzidos, em menor quantidade, pelas células endoteliais, leucócitos e células satélites de músculo esquelético (JUCÁ, 2018).

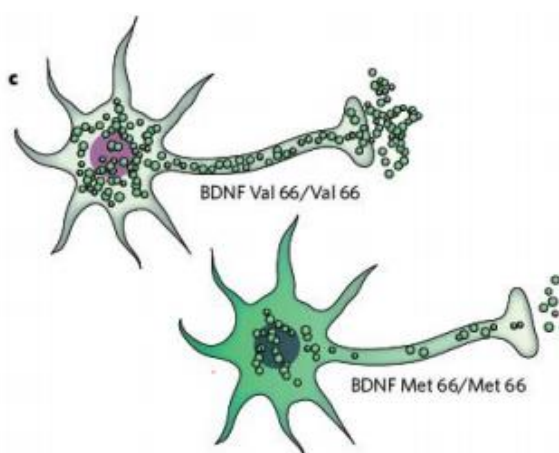


Figura 3 - Alteração na expressão de BDNF em decorrência do polimorfismo Val/Met.

Representação esquemática do polimorfismo no códon 66 do gene BDNF onde houve substituição de Val por Met.

Fonte: LOPES, 2017.

3.3.5 Hipótese monoaminérgica da depressão

A principal e mais antiga hipótese para o surgimento da depressão, datada de 1960, fundamenta-se nas monoaminas (MAIA, 2017), que são neurotransmissores cerebrais. As monoaminas são a DA, a NA, a 5-HT e a adrenalina e acredita-se que há uma redução destes neurotransmissores em indivíduos depressivos (SANTANA, 2017). Esta hipótese baseia-se na capacidade dos neurotransmissores do sistema monoaminérgico, como NA e 5-HT, desempenharem um papel central na fisiopatologia, regulando humor, motivações, disposições e padrões psicomotores e, suas disfunções resultam em uma anomalia desses neurotransmissores que *per se* podem prejudicar a homeostase cerebral e com isso levar ao desenvolvimento de quadros depressivos (COLAÇO, 2018;

MAIA, 2017). Neurotransmissores monoaminérgicos incluindo 5-HT, DA, NA são ativamente envolvidos na fisiopatologia da depressão (Figura 4) (COLAÇO, 2018).

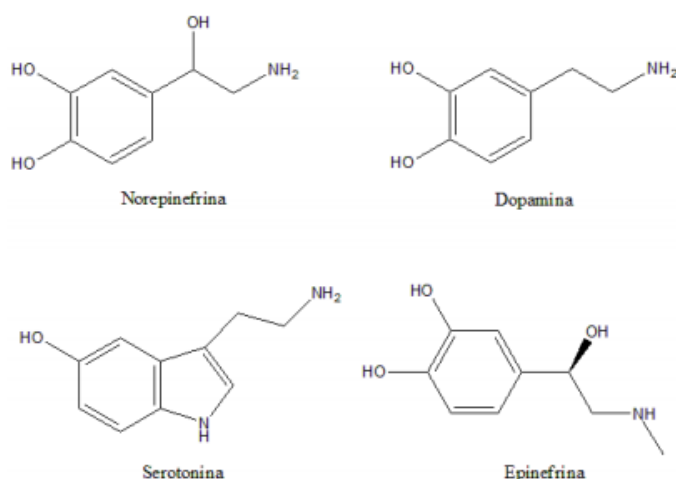


Figura 4 - Estrutura das monoaminas.

Representação das estruturas químicas dos neurotransmissores do sistema monoaminérgico.

Fonte: COLAÇO, 2018.

O sistema serotoninérgico está altamente envolvido tanto em estresse quanto em angústia. Isso indica que este sistema de neurotransmissão é fundamental para entender melhor a resposta dos organismos a eventos estressantes, bem como às patologias associadas à sua exposição prolongada (KOLACZYNSKA *et al.*, 2019). Os neurônios serotoninérgicos localizam-se, sobretudo, no núcleo da rafe mesencefálica dorsal e mediana, mas apesar desta limitação a ação da 5-HT está amplamente difundida no SNC. A biossíntese da 5-HT ocorre a partir do triptofano, que é hidroxilado a 5-hidroxitriptofano, pela ação da enzima triptofano hidroxilase. Posteriormente, pela ação da enzima aminoácido aromático descarboxilase, ocorre a descarboxilação do 5-hidroxitriptofano em 5-hidroxitriptamina ou 5-HT, ficando esta armazenada nas vesículas sinápticas. A 5-HT é degradada em ácido 5-hidroxitriptacético a partir da monoamina oxidase A (MAO-A), geralmente no espaço intersináptico. A 5-HT liberada pelas vesículas sinápticas atua sobre os receptores pós-sinápticos. Os receptores de 5-HT simulam uma família, sendo disseminados dependendo do subtipo celular (DE DEURWAERDÈRE; DI GIOVANNI, 2017; LIU *et al.*, 2019; JONES, 2020).

Os receptores de 5-HT são encontrados em todo o SNC e periférico, principalmente em regiões cerebrais envolvidas na neurobiologia da ansiedade e da depressão. Os receptores de 5-HT estão atualmente no auge da descoberta de novas drogas para o tratamento de distúrbios que vão desde enxaqueca e distúrbios alimentares até perturbações neuropsiquiátricas, como ansiedade e depressão. É bem descrito na literatura atual que o cérebro expressa sete tipos de receptores 5-HT que compreendem quatorze subtipos (Tabela 3) estruturalmente e farmacologicamente distintos, que participam de processos fisiológicos e homeostáticos (HAO *et al.*, 2017; SHARP T, BARNES NM., 2020; VILAS-BOAS, 2021) .

Tabela 3 - Receptores 5-HT e seus subtipos

Receptor 5-HT	Subtipos de receptores 5-HT
5-HT₁	5-HT _{1A} , 5-HT _{1B} , 5-HT _{1D} , 5-HT _{1E} e 5-HT _{1F}
5-HT₂	5-HT _{2A} , 5-HT _{2B} e 5-HT _{2C}
5-HT₃	-
5-HT₄	-
5-HT₅	5-HT _{5A} e 5-HT _{5B}
5-HT₆	-
5-HT₇	-

Fonte: SHARP; BARNES, 2020.

Os cinco subtipos de receptores 5-HT₁ são metabotrópicos acoplados à proteína G (proteínas ligantes de trifosfato de guanosina- GTP) inibitória (Gi ou G_o); ou seja, a ativação do receptor inibe a atividade da enzima adenilato ciclase (AC), reduzindo a conversão de ATP em adenosina 3',5' monofosfato cíclico (AMPc), que é responsável pela ativação da proteína quinase A (PKA) (SHARP; BARNES, 2020). Os receptores 5-HT_{1A} são distribuídos no núcleo límbico, cortical e dorsal e mediano da rafe e são expressos na membrana pré e pós-sináptica dos neurônios onde atuam, regulando a concentração extracelular de 5-HT e a transmissão do potencial de ação (FAKHFOURI *et al.*, 2019).

A ativação dos receptores pós-sinápticos, heteroreceptores 5-HT_{1A}, promove a hiperpolarização, semelhante ao que ocorre no receptor pré-sináptico 5-HT_{1A}, reduzindo a hiperatividade neuronal, importante para o tratamento de algumas

doenças como ansiedade e esquizofrenia (RODRIGUES DA SILVA *et al.*, 2020). Por um mecanismo ainda não conhecido, a ativação deste receptor também está relacionada ao aumento do número de espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio, e à estimulação de uma enzima semelhante ao fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina oxidase (NADPH-oxidase) (ALBERT; VAHID-ANSARI, 2019). A ativação dos heteroreceptores 5-HT_{1A} com o 8-OH-DPAT (agonista 5-HT_{1A}) produzem efeito antidepressivo (AZEVEDO *et al.*, 2019). Esta atividade foi associada à inibição dos neurônios GABAérgicos da via límbica que expressam 5-HT_{1A}, que, uma vez ativado, induz a hiperpolarização neuronal, inibindo a liberação do GABA, um neurotransmissor inibidor envolvido no desenvolvimento de depressão e distúrbios de humor, aumentando a influência glutamatérgica (STUIVENGA *et al.*, 2019).

Ademais, a estimulação dos receptores 5-HT_{1A}, mencionada anteriormente, leva à ativação das quinases reguladas por fatores extracelulares (ERK, do inglês *extracellular signal regulated kinase*) e proteína quinase B (PKB), que são importantes para a reorganização do citoesqueleto. A ativação da ERK aumenta a atividade do fator nuclear kappa B (NF-κB, do inglês *nuclear factor kappa B*), que inibe a caspase 3, prevenindo a morte celular. Por sua vez, a ativação da PKB, que é mediada por fosfatidil inositol 3 quinase (PI3K, do inglês *phosphoinositide 3-kinase*), é estimulada por *feedback* negativo quando há altos níveis de ERK ativa. Esse aumento na PKB ativa promove a inibição da proteína glicogênio sintase quinase 3 (GSK3, do inglês *glycogen synthase kinase-3*) a quinase responsável pela fosforilação e ativação da ERK, reduzindo assim a concentração de ERK. Em contraste, com a atividade anti-apoptótica, a ativação do 5-HT_{1A} também está relacionada com o aumento da atividade da proteína quinase que atua na regulação do processo de auto-destruição celular (JNK, do inglês *c-Jun N-terminal kinase*) induzindo a apoptose (ALBERT; VAHID-ANSARI, 2019; RODRIGUES DA SILVA *et al.*, 2020; ROJAS *et al.*, 2017). A estimulação de 5-HT_{1A} induz a ativação da proteína Janus quinase 2 (JAK2, do inglês *Janus Kinase 2*), que fosforila a calmodulina (CaM), a qual está associada ao transportador de sódio e hidrogênio, causando sua ativação e aumento no pH intracelular devido à saída de prótons. É importante ressaltar que o equilíbrio entre essas atividades e o efeito final depende do tecido analisado (MCKEAGE, 2016).

Como autoreceptores, 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B} promovem a ativação de canais de potássio, que permitem um aumento na condução deste íon, levando à hiperpolarização dos neurônios no hipocampo, o que, por sua vez, inibe a abertura de canais de cálcio dependentes de voltagem e a liberação de 5-HT (SHARP; BARNES, 2020). Como receptores pós-sinápticos, eles inibem a AC através da via de sinalização desencadeada pela proteína $G_{i/o}$, diminuindo, assim, a síntese de AMPc e a ativação da PKA. A PKA é responsável pela fosforilação de proteínas e enzimas, possuindo uma estreita ligação com a proteína de ligação responsiva ao AMPc (CREB, do inglês *cAMP response element-binding protein*), que é um fator de transcrição intranuclear (MONTALBANO; CORRADETTI; MLINAR, 2015; ROJAS *et al.*, 2016; ROJAS *et al.*, 2017). A ativação de 5-HT_{1B} induz a via ERK, PKB, e da Rho-quinase (ROCK, do inglês *Rho-associated protein kinase*), o que estimula a translocação da ERK ativa para o núcleo. Como forma de regular esta via de sinalização, a GSK3 foi associada a uma possível fosforilação do receptor, aumentando o seu potencial inibidor na AC (Figura 5) (VILLAS-BOAS, *et al.*, 2021).

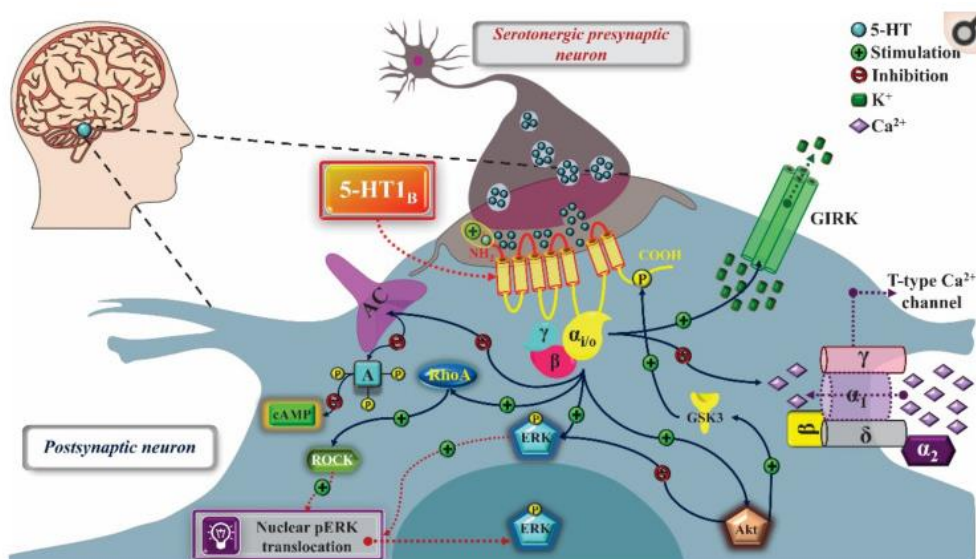


Figura 5 - Caminhos de sinalização de receptores 5-HT_{1B}.

O receptor 5-HT_{1B} está acoplado à proteína $G_{i/o}$. A sua ativação bloqueia a atividade da AC, reduzindo a conversão de ATP em AMPc, que é responsável por ativar a PKA. A ativação desses receptores diminui a liberação de neurotransmissores nos neurônios através do aumento na condutância de K⁺ e diminuição no influxo de Ca²⁺. Após a ativação de 5-HT_{1B}, uma cascata de quinases regula a translocação de ERK. Além disso, a PKB é estimulada com a consequente ativação da GSK3, que está envolvida na fosforilação e regulação da atividade do receptor 5-HT_{1B}.

Fonte: VILLAS-BOAS, *et al.*, 2021.

O receptor 5-HT_{1D} é expresso na membrana pré e pós-sináptica de neurônios em várias regiões do sistema nervoso. Como autoreceptores, quando ativados, inibem a liberação de 5-HT do terminal pré-sináptico através do mesmo mecanismo observado para os receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B}, mudança de condutância de potássio e influxo de cálcio. Embora os mecanismos resultantes da ativação dos receptores pós-sinápticos 5-HT_{1D} ainda não foram elucidados, sabe-se que eles agem através da inibição de AC, comum entre receptores 5-HT₁ e que é estruturalmente semelhante ao receptor 5-HT_{1B} (MCKEAGE, 2016). Quanto aos receptores 5-HT_{1e} e 5-HT_{1F}, há uma falta de estudos com tratamentos antidepressivos que visam esses receptores ou que os correlacionam com a patogênese da depressão (DAVID; GARDIER, 2016; ORSOLINI *et al.*, 2016).

Os receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} e 5-HT_{2C} são acoplados à fosfolipase C (Gq) levando ao aumento na formação de Inositol trifosfato e diacilglicerol (SHARP, *et al.* 2021). Os receptores 5-HT_{2A} são encontrados predominantemente em áreas corticais (BHAGWAGAR *et al.*, 2006). O aumento dos níveis dos receptores de 5-HT_{2A} foi reportado em diferentes regiões cerebrais de pacientes com Desordem Depressiva Principal (MDD, do inglês *Major depressive disorder*) (ANISMAN *et al.*, 2008; PANDEY *et al.*, 2002). Sugere-se que o receptor 5-HT_{2A} seja mediador dos efeitos alucinógenos de drogas psicodélicas, como por exemplo a dietilamida do ácido lisérgico (LSD), nos seres humanos e que o uso de agonistas deste receptor estaria relacionado à diminuição dos sintomas depressivos (SHARP, *et al.*, 2021). O bloqueio do receptor 5-HT_{2A} parece melhorar os efeitos clínicos dos inibidores seletivos da recaptação de 5-HT (ISRS), e embora o mecanismo por detrás deste efeito não seja certo, pode estar ligado à evidência de um *feedback* inibitório mediado pelo receptor 5-HT_{2A} em neurônios 5-HT (CELADA *et al.*, 2004; SHARP, *et al.*, 2021). Os receptores 5-HT_{2C} parecem estar envolvidos em distúrbios alimentares e de humor (FEIJÓ *et al.*, 2011). O uso de agonistas de receptores 5-HT_{2C} parecem ter efeito ansiogênico, além de induzir a polifagia, ao passo que a administração de antagonistas deste receptor, como por exemplo amitriptilina (antidepressivo tricíclico - ADT), são considerados benéficos em estados depressivos e de ansiedade (CHAGRAOUI *et al.*, 2016).

Os receptores 5-HT₃, diferentemente dos demais receptores 5-HT, são ionotrópicos e membros da superfamília dos receptores ligantes catiônicos que inclui os receptores colinérgicos, GABAérgicos e glicinérgicos. Nos seres humanos, são compostos por cinco subunidades formando uma estrutura pentamérica circundando um canal iônico central permeável ao sódio (Na⁺), potássio (K⁺) e cálcio (Ca²⁺) (SHARP; BARNES, 2020). Os receptores 5-HT₃ são bem conhecidos por serem expressos no SNC em regiões que têm significância no reflexo do vômito, percepção da dor, sistema de recompensa, cognição, depressão e ansiedade (BHATT *et.al.*, 2020).

Através de mecanismos ainda não elucidados, os antagonistas alosetron, ondasetron e zacopride demonstraram atividade ansiolítica em modelos animais de avaliação de ansiedade (COSTESCU *et al.*, 2019). N-cyclohexyl-3-methoxyquinoxaline-2-carboxamida (QCM-13) é um antagonista 5-HT₃ que mostrou potente atividade ansiolítica no teste do claro-escuro (TCE) e no teste do labirinto em cruz elevado. Esta atividade estava relacionada ao aumento da disponibilidade de 5-HT após o bloqueio de receptores 5-HT₃, eles são possivelmente receptores localizados em interneurônios GABAérgicos, uma vez que este bloqueio causaria desinibição dos neurônios serotoninérgicos subjacentes. Além disso, o receptor 5-HT₃ pós-sináptico pode ser expresso em neurônios adrenérgicos, GABAérgicos e dopaminérgicos, cuja modulação da neurotransmissão pode promover efeitos ansiolíticos (KURHE; MAHESH, 2017; FAKHFOURI *et al.*, 2019). Por outro lado, o tratamento com agonistas 5-HT₃ pode reverter o comportamento do tipo ansiolítico induzido em camundongos tratados com esteroides anabólicos androgênicos (MORRISON, *et al.*, 2015). Desta forma, observa-se que os dados da literatura não são completamente convergentes e que novos estudos são necessários para elucidar o mecanismo pelo qual isso acontece.

Os receptores 5-HT também são expressos em fibras nociceptivas diferentes no chifre dorsal da medula espinhal; assim, terapias com antagonistas de autoreceptores 5-HT_{1A} e agonistas heteroreceptores aumentam a concentração disponível de 5-HT e diminuem a liberação de neurotransmissores nociceptivos, permitindo não apenas o tratamento da depressão, mas também da dor crônica, muitas vezes associada a transtornos mentais (MONTALBANO; CORRADETTI;

MLINAR, 2015; RODRIGUES DA SILVA *et al.*, 2020; SHARP; BARNES, 2020). Depressão e ansiedade são as comorbidades mais comuns apresentadas pelos pacientes que sofrem de dor crônica, como por exemplo a fibromialgia (KREMER *et al.*, 2021).

Em relação ao sistema noradrenérgico, tem-se que a fonte inicial de NA é originada dos neurônios do *locus coeruleus* que se localiza no assoalho do quarto ventrículo (BELUJON; GRACE, 2017). Esse neurotransmissor tem por função regular a função encefálica de variadas maneiras. O *locus coeruleus* ganha projeções aferentes de determinadas regiões encefálicas como amígdala, córtex e hipotálamo. De forma similar à 5-HT, a NA possui autoreceptores (α -adrenoceptores) que regulam com função inibitória a liberação de NA, ao passo que os β -adrenoceptores estimulam a liberação de NA após a sua ativação. Em grande parte, a liberação de NA é modulada por meio da recaptação deste neurotransmissor pelo neurônio pré-sináptico (LIU *et al.*, 2019).

A área tegmental ventral é um agrupamento de neurônios localizados no centro do mesencéfalo, e é um dos principais centros dopaminérgicos. Neurônios dopaminérgicos que se projetam da área tegmentar ventral para o *nucleus accumbens* são essenciais na via de recompensa encefálica. Disfunções no sistema dopaminérgico estão relacionadas a diversas patologias neuropsiquiátricas, tais como a doença de Parkinson, depressão e esquizofrenia. É importante ressaltar que o sistema dopaminérgico também pode ser ativado por estímulos estressantes e é de suma importância que os níveis de DA sejam satisfatórios para que se consiga modular este sistema de recompensa, fazendo com que o indivíduo consiga lidar com esses eventos estressantes (BAIK, 2020).

Os antidepressivos tricíclicos, desenvolvidos apoiando-se nessa hipótese, agem tanto no sistema serotoninérgico quanto nos sistemas dopaminérgico e noradrenérgico, bloqueando a recaptação dos neurotransmissores 5-HT, DA e NA de maneira satisfatória, uma vez que pacientes depressivos têm seus sintomas somáticos atenuados (COLAÇO, 2018; FLORA *et al.*, 2020; LIU *et al.*, 2019). Por outro lado, pacientes com genótipos combinados de polimorfismo de transportador de NA (NET182C) e 5-HT (5-HTTLPR) proporcionam piores respostas ao tratamento, e as interações funcionais com diferentes sistemas se mostram

afetadas. Diversas pesquisas apontam que as modificações que ocorrem nas monoaminas, provocam alterações tanto no tônus glutamatérgico, como nas enzimas metabólicas (RAMSAY; DEURWAERDÈRE; GIOVANNI, 2016; RÉUS; QUEVEDO; RODRIGUES, 2015; ZHANG *et al.*, 2018).

3.4 Tratamentos farmacológicos para depressão

A depressão tem como principal método de tratamento a farmacoterapia com antidepressivos (AZEVEDO; SANTOS, 2021). Os mais utilizados são pertencentes às classes dos psicofármacos, drogas que têm seu mecanismo de ação no SNC (AZEVEDO; SANTOS, 2021). O tratamento farmacológico antidepressivo inclui os inibidores de monoamina oxidase (IMAO), ADT, ISRS, inibidores da recaptação da NA e DA (IRND), inibidores da recaptação da 5-HT e NA (IRSN), antidepressivos atípicos e a escetamina que age via sistema glutamatérgico - utilizada nos casos de depressão refratária (AZEVEDO; SANTOS, 2021; KAUR *et al.*, 2021). Dentre os principais psicofármacos, os ISRSs são os mais aconselhados (recomendação 1A), a exemplo da fluoxetina e sertralina (COLAÇO, 2018; RAUPP *et al.*, 2021).

As dosagens de um fármaco se relacionam diretamente com os quatro diferentes tipos de metabolismo existentes, sofrendo grande interferência dos polimorfismos, já que são diferenciados pela presença ou alteração de alelos determinantes. Os metabolizadores lentos apresentam dois alelos inativos; os intermediários apresentam uma alteração em um de seus alelos; os metabolizadores rápidos ou extensivos apresentam alelos normais, ou seja, sem nenhum polimorfismo e os metabolizadores ultrarrápidos apresentam um dos alelos duplicados (AZEVEDO; SANTOS, 2021).

Os efeitos terapêuticos e adversos desses medicamentos são resultado dos processos de farmacocinética e farmacodinâmica que sofrem grande influências dos diferentes genes responsáveis pela metabolização (AZEVEDO; SANTOS, 2021). Apenas 70 a 80% dos pacientes respondem positivamente ao tratamento e, com isso, há uma alta taxa de não adesão que varia de 42 a 46%, isto se deve aos efeitos antidepressivos tardios (SANTANA, 2017). Além disso, menos da metade das pessoas acometidas por essa patologia recebem tratamento adequado (SANTOS *et al.*, 2021).

O importante papel da 5-HT na regulação do humor fez com que o sistema serotoninérgico se tornasse um alvo determinante para o tratamento da depressão. Nesse sentido, os ISRSs estiveram entre os primeiros tratamentos destinados a aumentar a concentração de 5-HT; ou seja, promover a reação oposta à observada em transtornos depressivos, em que essa concentração poderia estar reduzida. Os ISRSs atuam inibindo o transportador 5-HT (SERT, do inglês *serotonin transporter*), expresso na membrana pré-sináptica dos neurônios serotoninérgicos. A capacidade dessas drogas de bloquear este transporte sem afetar outros neurorreceptores fez com que se destacassem de outras terapias com antidepressivos, com menos efeitos adversos e colaterais (STUIVENGA *et al.*, 2019).

A vilazodona, um ISRS e agonista parcial do receptor 5-HT_{1A}, é alternativa para o tratamento de transtorno depressivo grave e transtorno de ansiedade generalizada. Sua ação agonista em 5-HT_{1A} é possivelmente responsável pelo efeito rápido desta substância, diferente de outros ISRSs (STUIVENGA *et al.*, 2019). Semelhante a vilazodona, tandospirona é um agonista seletivo do receptor 5-HT_{1A}, cuja administração, a curto prazo, promove uma diminuição na liberação de 5-HT (HUANG *et al.*, 2017). A administração crônica de tandospirona, responsável pelo seu desfecho farmacológico, induz a dessensibilização desses receptores e, consequentemente, um aumento na concentração de 5-HT, apresentando atividade antidepressiva, com início tardio. No entanto, esta não é a única maneira que a substância pode ser usada para tratar a depressão. A administração concomitante de tandospirona com ISRS ou ADTs é ainda mais eficaz, aumentando o efeito dessas drogas e até mesmo reduzindo seus efeitos adversos (HUANG *et al.*, 2017; MCKEAGE, 2016).

A brexpiprazol é uma droga usada para tratar MDD e esquizofrenia. Esta substância age como agonista para os seguintes receptores: 5-HT_{1A}; dopaminérgica D₂ e D₃, e como antagonista dos seguintes receptores: 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT₇, e α adrenérgico 1A, α _{1B}, α _{1D} e α _{2C}, com maior afinidade que a aripiprazol, que pertence à mesma classe e com a ausência de acatisia, um efeito adverso característico. O uso de brexpiprazol é recomendado como adjunto a terapias antidepressivas, onde age aumentando o efeito de antidepressivos como a fluoxetina. Essa ação pode ser observada em modelos animais para avaliação da

depressão e ansiedade, como o TNF e o teste de conflito Vogel (CHA *et al.*, 2019; STUIVENGA *et al.*, 2019).

Os antagonistas 5-HT_{1B} também têm sido considerados adjuvantes à terapia antidepressiva. A monoterapia com essas substâncias não induz resultados efetivos, o que pode ser explicado pelo fato de que 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B} têm menos distribuição e menos atividade pronunciada do que o SERT. Assim, sua aplicação como melhorador terapêutico é mais eficiente, intensificada através da inibição do mecanismo de feedback que impede a liberação de 5-HT (ORSOLINI *et al.*, 2016). Embora estruturalmente diferentes, 5-HT_{1B} e 5-HT_{1D} podem desempenhar papéis semelhantes em distúrbios depressivos. Ambos são hipersensíveis em pacientes diagnosticados com esses transtornos; assim, são facilmente ativados e inibem a liberação de 5-HT, fator característico da condição. O antidepressivo multimodal Vortioxetina age antagonizando 5-HT_{1D}, aumentando a liberação de 5-HT (DAVID; GARDIER, 2016; ORSOLINI *et al.*, 2016).

3.5 Uso de roedores em experimentação

Estudar a depressão, fazendo do humano o participante da pesquisa, exige a atenção a diversos protocolos, além de submeter o indivíduo a estímulos, tanto agradáveis como desagradáveis, e risco de provocar danos psíquicos e neurológicos que nem sempre podem ser mensuráveis (LOCKWOOD, 2016; MARCONI, 2020; MEYZA *et al.*, 2017). Ademais, haveria a necessidade de utilizar métodos invasivos ou não, tais como, magnetoencefalografia, eletroencefalografia, ressonância magnética funcional e tensor de difusão (MARCONI, 2020). Como se observa em humanos, os métodos supracitados possuem limitações tanto éticas como técnicas.

Em vista das limitações expostas é comum o emprego de roedores em processos de experimentação em pesquisas envolvendo transtornos psiquiátricos, dentre eles o transtorno de ansiedade e depressão, diante da possibilidade de se obter informações sobre a organização complexa dos circuitos neuronais subjacentes aos comportamentos emocionais (MEYZA *et al.*, 2017). Outra justificativa para o emprego de roedores surge em decorrência da variedade de seus comportamentos sociais. Há roedores com vida solitária, assim como, existem grupos altamente sociáveis, com inclusive divisão de castas (MARCONI, 2020).

Especificamente sobre a depressão, os modelos animais são recursos indispensáveis na identificação de novos fármacos antidepressivos mais efetivos, bem como no melhor entendimento da fisiopatologia deste transtorno. Em modelos animais não existe uma condição conhecida que corresponda à exata condição congênita da depressão em seres humanos, porém, esses modelos são um excelente método na identificação de novos antidepressivos, de seu mecanismo de ação e no estudo da neurobiologia da depressão (PINHEIRO *et al.*, 2018).

Neste trabalho, utilizamos os testes comportamentais: TNF, TSC, teste do campo aberto (TCA) e TCE. Apesar do TNF e TSC utilizarem agentes estressores diferentes, um cilindro contendo água no qual o camundongo é colocado e a suspensão pela cauda a cerca de 50 cm do chão, respectivamente, o comportamento característico do tipo depressivo observado no animal é o mesmo, ou seja, o tempo de imobilidade observado no teste representa uma ação de desistência frente ao estímulo estressante, e quanto maior este tempo maior será o comportamento do tipo depressivo do animal. No TCA avaliamos se a atividade locomotora dos animais pode ter sido afetada, sendo uma ferramenta útil para que os testes comportamentais sejam considerados válidos. O TCE é normalmente utilizado como um rastreio pré-clínico da eficácia do efeito do tipo ansiolítico em animais após a administração dos compostos a serem estudados. Isso permite a detecção rápida de substâncias com atividade semelhante aos medicamentos ansiolíticos, evidenciada pelo tempo mais longo gasto na parte clara da caixa, que denota um comportamento menos ansioso que é produzido pela maioria dos ansiolíticos clinicamente utilizados (IMAIZUMI, 1993; BANASIKOWSKI, *et al.*, 2015). É notório que a maioria das pesquisas *in vivo* utiliza ratos e camundongos como animal experimental, tornando a espécie imprescindível para o estudo dos transtornos psiquiátricos, sobretudo, para o desenvolvimento de novos fármacos.

3.6 Selênio e compostos orgânicos de selênio

A inadequação nutricional desempenha um papel extremamente importante na saúde mental, podendo contribuir para a patogênese da depressão (RUBIO-LÓPEZ *et al.*, 2016). O papel promissor da intervenção nutricional vem sendo muito estudado, como agente adjuvante na melhoria da qualidade de vida, aumentando

resultados terapêuticos, assim como retardamento do aparecimento e progressão da depressão. Como a fonte de ingestão de Se é através do consumo de grãos, a sua ingestão é altamente dependente do seu teor nos alimentos, que, por sua vez, depende do seu teor dos solos em que é cultivado. Estima-se que uma em cada sete pessoas tenha baixa ingestão de Se dietético, e a sua deficiência foi implicada em uma variedade de condições, como doença renal e obesidade (IGLESIAS *et al.*, 2013).

O Se foi descoberto em 1817, pelo químico sueco Jöns Jacob Berzelius (JESSE, 2011). Suas principais pesquisas estão relacionadas aos estudos observacionais e em ensaios clínicos como agente preventivo para doenças cardiovasculares, diabetes e câncer de próstata e colorretal (RAYMAN, 2012). Desde a década de 1990, a reputação do Se como antioxidante tem crescido, com a consequência de que suplementos e alimentos enriquecidos com Se tornaram-se mais comuns, no entanto, sua toxicidade não deve ser desprezada. Diversos estudos nos últimos vinte anos têm expressado a necessidade de cautela na ênfase excessiva dos benefícios e na negligência da toxicidade potencial (COLANGELO *et al.*, 2014).

Um estudo (RUBIO-LÓPEZ *et al.*, 2016) mostrou que adolescentes em uma dieta saudável eram menos propensos a relatar depressão sintomática, enquanto aqueles que comem alimentos mais processados eram mais propensos a relatar depressão. Jacka *et al.* (2011) relataram que a qualidade da dieta foi negativamente associada à saúde mental dos adolescentes ao longo do tempo. O mesmo estudo também relatou que as mudanças na qualidade da dieta estiveram associadas a mudanças na saúde mental, e as melhorias na qualidade da dieta foram relacionadas com maiores escores de saúde mental após o acompanhamento, mas não vice-versa. Um estudo norueguês encontrou uma relação significativa entre padrões alimentares e problemas de saúde mental em adolescentes jovens, independentemente da atividade física, atividade sedentária e vários outros fatores de fundo (OELLINGRATH; SVENDSEN; HESTETUN, 2014). Este artigo mostrou que a pior qualidade da dieta estava associada ao declínio do funcionamento psicológico. Um estudo chinês (WENG *et al.*, 2012) relatou uma relação entre um padrão alimentar insalubre e sintomas emocionais em pessoas de 11 a 16 anos.

A depressão e o Se podem estar associados tanto positivamente quanto negativamente. Os estudos demonstram que a baixa ingestão deste pode ser preditiva aos sintomas depressivos, assim como os altos níveis também podem aumentar as chances de apresentarem a doença. De acordo com o estudo de Pasco *et al.*, (2012), a baixa ingestão de Se entre mulheres participantes de um estudo de osteoporose foi relacionada com o risco de desenvolver sintomas depressivos altos, apoiando que este apresenta um papel positivo no humor. Diferentemente do encontrado por Colangelo *et al.* (2014) em um estudo com participantes afro-americanos e caucasianos. Neste estudo, foi demonstrado uma associação entre os elevados níveis de Se nas unhas dos pés com a presença dos sintomas depressivos.

Estudos observacionais também investigaram a relação entre Se e sintomatologia depressiva ou risco de depressão, mas têm proporcionado resultados inconsistentes. Um estudo transversal realizado em uma população de meia-idade no Oeste do Texas demonstrou uma relação inversa entre o nível de Se e os sintomas depressivos medidos pela Escala de Depressão Geriátrica (JOHNSON *et al.*, 2013). Jesse (2011), por sua vez, aponta a necessidade de respeitar os limites mínimo de necessidade e máximo para a toxicidade.

Estudos de intervenção de suplementação de Se em humanos relataram achados igualmente inconsistentes. Um estudo de controle randomizado entre 166 mulheres iranianas descobriu que a suplementação de Se durante a gravidez estava associada ao aumento dos níveis de Se no soro, bem como a menores escores na Escala de Depressão Pós-Natal de Edimburgo (EPDS) em comparação com aquelas que receberam placebo após 8 semanas de tratamento (MOKHBER *et al.*, 2011).

Os efeitos modulatórios do Se no metabolismo podem influenciar a suscetibilidade de um indivíduo ao desenvolvimento da depressão. O Se, que é incorporado às deiodinases de iodotironina (DIOs), é essencial para a síntese adequada e o metabolismo dos hormônios da tireoide. Há muito se reconhece, por pesquisadores clínicos, que a função da tireoide está associada à manifestação neuropsiquiátrica, como transtornos de humor, disfunção cognitiva e outros sintomas psiquiátricos (MŁYNIEC *et al.*, 2015). A deficiência de Se e a consequente desregulação da função tireoide podem desempenhar um papel no desenvolvimento

da depressão. Diversos estudos também indicam que exista uma "faixa ideal" dos níveis de Se sérico em relação à sintomatologia depressiva (COLANGELO *et al.*, 2014; CONNER; RICHARDSON; MILLER, 2015).

Estudos descobriram que altos e baixos níveis de Se têm sido associados à desregulação de vias oxidativas e inflamatórias, oferecendo outro mecanismo potencial que poderia explicar a associação observada entre os níveis de Se e a depressão. Selenoproteínas, como glutathione peroxidase, tioredoxina redutase e selenoproteína P, são conhecidas por fornecer proteção contra lipoperoxidação e danos celulares oxidativos. Uma baixa concentração de Se tem sido associada a um aumento do nível de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, proteína C-reativa e fator de diferenciação de crescimento-5 (GDF-5, do inglês *Growth Differentiation Factor-5*) (MERTENS *et al.*, 2015; PRYSTUPA *et al.*, 2017).

Além disso, um estudo demonstrou associação entre distúrbios nos níveis de colesterol e aumento dos riscos de depressão e suicídio, sugerindo um possível papel para as ações anti-lipoperoxidativas do Se em seu efeito protetor contra a depressão (DE BERARDIS *et al.*, 2012). No entanto, em um nível ideal de suplementação de Se, há um efeito enzimático e de saturação de proteínas que envia o excesso deste elemento para um processo metabólico para restringir a criação de selenoproteínas. Os metabólitos em excesso têm demonstrado ser pró-oxidativos e resultam em aumento dos níveis de EROs.

O estudo de Mlyniec *et al.*, (2015) mostrou que a depressão está associada ao aumento dos níveis de biomarcadores de estresse oxidativo, fortalecendo a hipótese de que o estresse oxidativo e a inflamação podem ser fatores significativos na patogênese da depressão. À luz das propriedades duplas antioxidantes e pró-oxidativas do Se, é concebível que a hiperatividade das vias oxidativas e inflamatórias possa contribuir para a fisiopatologia da depressão. Da mesma forma, os neurônios dopaminérgicos vulneráveis ao estresse oxidativo têm se mostrado modulados pela selenoproteína, permitindo assim que o Se desempenhasse um papel preventivo na neurodegeneração (SOLOVYEV, 2015).

Por fim, compostos contendo Se poderiam potencialmente exercer efeitos antidepressivos através de seu papel modulatório em vários sistemas

neurotransmissores, dentre eles: o sistema dopaminérgico, serotoninérgico e noradrenérgico, que estão todos envolvidos na fisiopatologia da depressão e outras doenças psiquiátricas (BJÖRKHOLM; MONTEGGIA, 2016). Em um estudo realizado em camundongos, Brüning *et al.* (2011) mostraram que a administração de diselenida de m-trifluorometil-difenil ($m\text{-CF}_3\text{-PhSe}$)₂, um composto multialvo à base de Se, reduziu os sintomas depressivos medidos pelo tempo de imobilidade no TNF, em camundongos fêmeas, sugerindo um potencial efeito antidepressivo deste composto contendo Se. Dados neuroquímicos indicam que ($m\text{-CF}_3\text{-PhSe}$)₂ modula o sistema serotoninérgico através de mecanismos que envolvem a inibição seletiva da MAO-A, enzima implicada na degradação de 5-HT, resultando em um aumento global da disponibilidade de 5-HT na fenda sináptica, contribuindo para seus efeitos farmacológicos. Embora mais estudos sejam necessários para esclarecer a relação entre Se e depressão, esses achados sugerem vários mecanismos plausíveis através dos quais o Se poderia ser protetor contra a depressão.

3.7 Benzofurano

O benzofurano é um composto que se forma pela condensação do núcleo furano com anel de benzeno, frequentemente encontrado em moléculas bioativas. Os derivados furanos pertencem ao grupo de heterocíclicos aromáticos, que são costumeiramente empregados em muitos fármacos e compostos químicos, como por exemplo o citalopram, escitalopram, vilazodona e griseofulvina (ZHA, *et al.* 2016; FERNANDES, 2018).

As estruturas de tais compostos variam de moléculas simples a altamente complexas de 5-metoxibenzofurano. Sua síntese pode ser vista na Figura 6. Uma grande variedade de moléculas sintéticas e naturais que incluem o motivo benzo[b]furano em sua estrutura foram relatadas para diversas atividades biológicas e outras características especiais, que fornecem aplicações potenciais nos campos da biomedicina e das ciências dos materiais (GAY *et al.*, 2010; SOUZA, 2012).

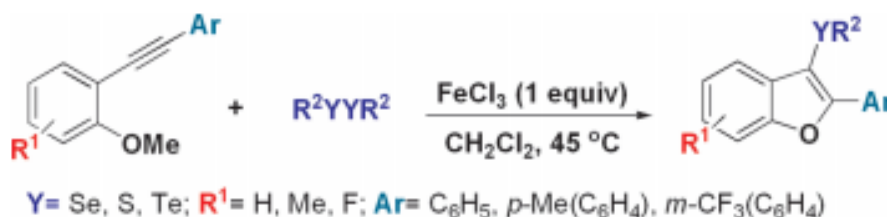


Figura 6 - Reação geral de síntese de 3-calcogênio benzo[b]furanos.

Esquematização da reação geral da síntese de 3-calcogênio benzo[b]furanos a partir da ciclização intramolecular de um 2-alquinil-metoxibenzeno.

Fonte: GAY *et al.*, 2010.

Diferentes ações farmacológicas têm sido descritas para compostos contendo o núcleo benzofurano (MA *et al.*, 2020; ZHA *et al.*, 2016; SHAKYA *et al.*, 2016). Além disso, há relatos de pesquisas experimentais com compostos orgânicos contendo o núcleo benzofurano testados como alternativas terapêuticas para os transtornos depressivos (DAWOOD, 2019). O núcleo benzofurano pode, inclusive, ser encontrado em alguns fármacos antidepressivos de referência no mercado (SAHLI *et al.*, 2016; SZOKE-KOVACS *et al.*, 2020; SELPH AND MCDONAGH, 2019).

3.8 Compostos híbridos da classe 3-organoselanil-benzofuranos (SeBZF)

Nosso grupo de pesquisa observou que os compostos SeBZF1-5 (Figura 7) apresentaram ação antioxidante *in vitro*. Primeiramente Gall e colaboradores (2020) avaliaram o protótipo da classe SeBZF1 em camundongos machos e verificaram que ele possuía ação do tipo antidepressiva no TSC e TNF, e a administração de antagonistas de receptores 5-HT_{2A/C} e 5-HT_{1A} e de síntese de 5-HT foram capazes de bloquear este efeito, sugerindo um envolvimento do sistema serotoninérgico no mecanismo de ação deste composto. Neste mesmo estudo, percebeu-se que a depleção de 5-HT resultou em alterações nos indicadores de estresse oxidativo, como aumento da peroxidação lipídica, redução no conteúdo de tióis totais e aumento da atividade da catalase em hipocampo, assim como inibição da Na⁺/K⁺-ATPase, características comuns em pacientes com TDM.

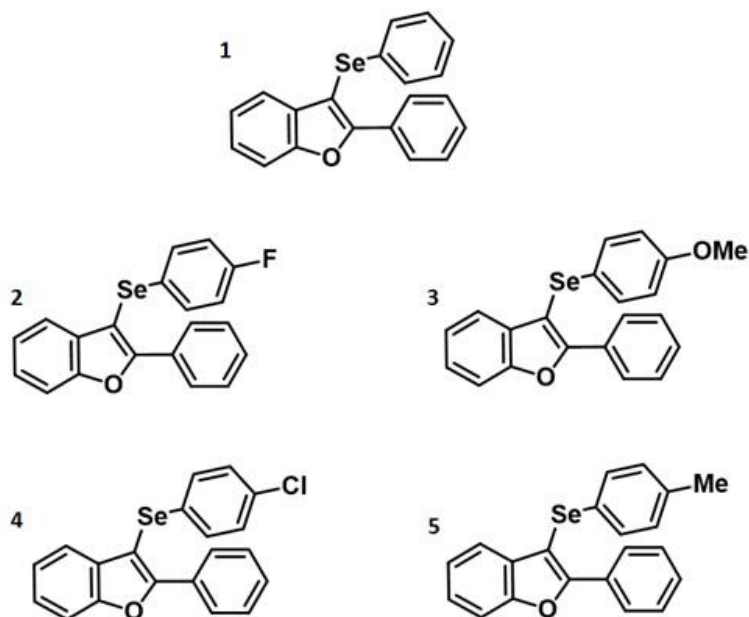


Figura 7 - Estrutura dos compostos SeBZF

Legenda: **(1)** SeBZF1, **(2)** SeBZF2, **(3)** SeBZF3, **(4)** SeBZF4, **(5)** SeBZF5

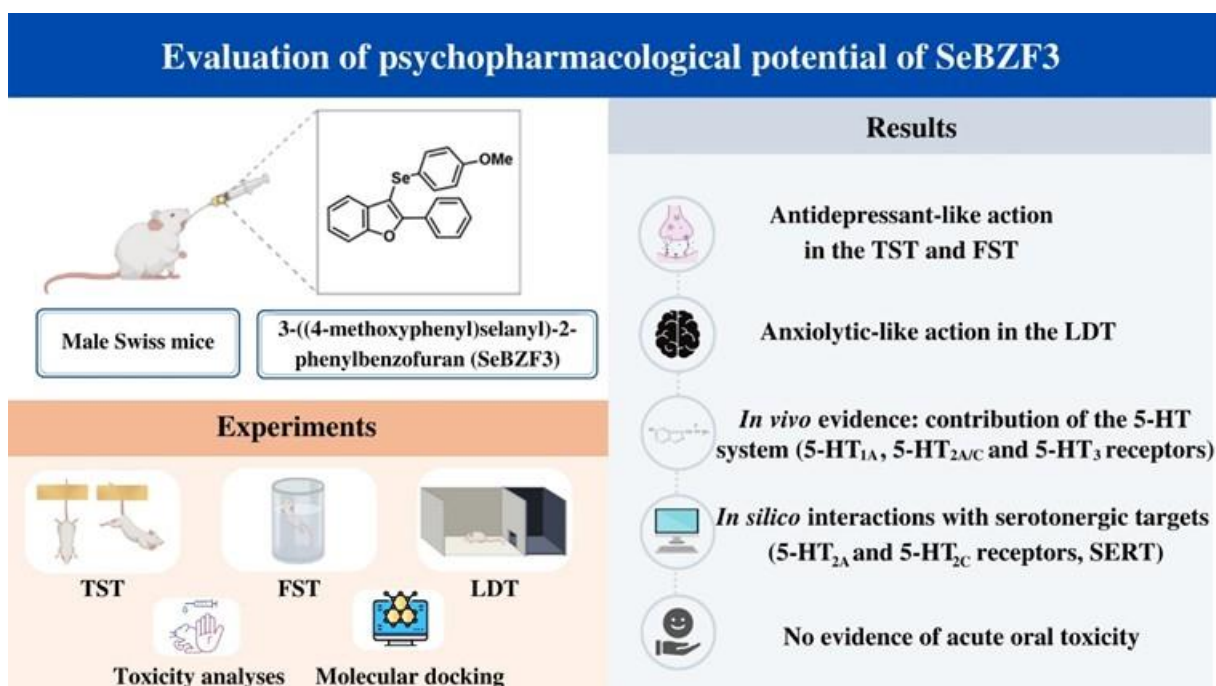
Dando sequência aos estudos, Rech e colaboradores (2021) avaliaram o envolvimento do sistema dopaminérgico na ação do tipo antidepressiva aguda do SeBZF1 em camundongos machos, o qual foi evidenciado pela administração de antagonistas de receptores dopaminérgicos. Além disso, efeitos anti-imobilidade no TSC foram observados no tratamento agudo em camundongos fêmeas e o tratamento repetido por um período de 7 dias demonstrou ser efetivo em camundongos em ambos os sexos.

Neste trabalho avaliamos se as substituições na estrutura do SeBZF1 seriam capazes de trazer algum benefício adicional sem causar toxicidade sistêmica, conforme será discutido a seguir.

4. MANUSCRITO

O desenvolvimento desta dissertação está apresentado sob a forma de um manuscrito científico. Este contém os itens 'Introdução', 'Materiais e Métodos', 'Resultados' e 'Discussão' bem como material suplementar e se apresentam estruturados de acordo com o periódico. As referências utilizadas para elaboração do manuscrito encontram-se no próprio documento.

Graphical abstract



Highlights

- ✓ SeBZF3 elicits anxiolytic and antidepressant-like actions in male mice
- ✓ 5-HT system modulation is involved in the antidepressant-like action of SeBZF3
- ✓ *In vivo* evidence for interaction between SeBZF3 and 5-HT_{1A}R, 5-HT_{2A/C}R, or 5-HT₃R
- ✓ *In silico* evidence for interaction between SeBZF3 and 5-HT_{2A}R, 5-HT_{2C}R, or SERT
- ✓ No signals of acute oral toxicity in mice exposed to a high dose of SeBZF3

Antidepressant and anxiolytic-like potential of a functionalized 3-selanyl benzo[*b*]furan compound in mice: focus on the serotonergic system

Taís da Silva Teixeira Rech^a, Estela Harwig Ribeiro^a, Ediandra Tissot Castro^a, Amália Gonçalves Alves^a, Dianer Nornberg Strelow^a, José Sebastião dos Santos Neto^b, Antonio Luiz Braga^b, César Augusto Brüning^{a*}, Cristiani Folharini Bortolatto^{a*}

^aPrograma de Pós-graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM), Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia (GPN), Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), Universidade Federal de Pelotas (UFPel), CEP 96010-900, Pelotas, RS, Brasil.

^bPrograma de Pós-graduação em Química (PPGQ), Laboratório de Síntese de Derivados de Selênio e Telúrio (LabSelen), Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, CEP 88040-900, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

***Address for correspondence**

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

César Augusto Brüning - Post-Graduation Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Center of Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel), Capão do Leão Campus, Pelotas, RS, 96010-900, Brazil. Phone: 55-53-32757355. ORCID: 0000-0003-0814-0203. Electronic address: cabruning@yahoo.com.br

Abstract

Aims: The present study investigated the psychopharmacological potential of a functionalized 3-selanyl benzo[*b*]furan (SeBZF) in male Swiss mice. **Main methods:** To evaluate possible anxiolytic and antidepressant-like actions, the compounds SeBZF1-5 (50 mg/kg, intragastric route, i.g.) were acutely screened in the light-dark (LDT) and tail suspension (TST) tests. The compound 3-((4-methoxyphenyl)selanyl)-2-phenylbenzofuran (SeBZF3) was then selected and its antidepressant-like action further studied by *in vivo* and *in silico* experiments. **Key findings:** SeBZF3 simultaneously produced anxiolytic and antidepressant-like actions. By focusing on its antidepressant-like activity, dose- and time-response curves revealed that SeBZF3 exerts antidepressant-like effects in the TST (5-50 mg/kg) and forced swimming test (FST; 50 mg/kg), causing longer-lasting effects when compared with its prototype SeBZF1. Additional tests demonstrated that the pretreatment with WAY100635 (5-HT_{1A} antagonist; 0.1 mg/kg, s.c.), ketanserin (5-HT_{2A/C} receptor antagonist; 1 mg/kg, i.p.), or ondansetron (5-HT₃ receptor antagonist; 1 mg/kg, i.p.) blocked the SeBZF3 antidepressant-like effects (50 mg/kg) in the TST. Besides, the coadministration of subeffective doses of SeBZF3 (1 mg/kg, i.g.) and fluoxetine (a selective serotonin reuptake inhibitor, SSRI; 5 mg/kg, i.p.) produced synergistic action. Molecular docking analyses pointed out possible interactions of SeBZF3 with serotonergic targets including 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors and 5-HT transporter (SERT). A high dose of SeBZF3 (300 mg/kg) did not produce oral acute toxicity. **Significance:** The present results provide evidence for the antidepressant and anxiolytic-like actions of SeBZF3 and its relative safety, as well as predict the possible interactions with the serotonergic system, aiding in the development of novel options to alleviate psychiatric disabilities.

Keywords: Selenium; Benzofuran; Anxiety; Depression; Monoaminergic System; Serotonin.

1. Introduction

Common mental disorders adversely affect the life quality. Major depressive disorder (MDD) is a multifactorial disease characterized by persistent negative mood, deep suffering, psychomotor and cognitive symptoms [56], and depressive patients often experience a lot of anxiety. COVID-19 pandemic has impacted the mental health being associated with a high global prevalence of psychiatric disorders [9].

The pathophysiology of depression is not completely understood, even so, is commonly associated as a complex outcome of genetic, cognitive, behavioral, and environmental risk factors [44]. Monoaminergic hypothesis is a neurobiological theory which postulates the monoamine depletion as responsible for mood alterations [46]. Antidepressants have limitations as relative effectiveness, delayed drug response, and adverse effects [6, 31]. The selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) act on serotonin transporter (SERT) and are the most commonly used among depressive patients and are also prescribed for anxiety disorders. SSRIs are still preferred among antidepressant categories [40].

The serotonergic system is highly complex with diverse signaling networks. Serotonin (5-HT) is certainly one of the neurotransmitters able to activate the largest number of receptor subtypes and modulates an increasing number of physiological functions as anxiety, mood, cognition, sleep, and appetite [7]. Research has sought to find molecules capable of modulating the serotonergic dysfunction with a lower load of adverse effects.

Selenium is an essential trace element eliciting important functions in the brain which varies from antioxidant protection to neuronal signaling [53], and its benefits on improving the mood are described [17, 59]. Moreover, the organoselenium compounds have been widely used in the field of pre-clinical screening for antidepressant activity [23, 25, 33].

There is a significant number of approved benzofuran-containing drugs [13], including antidepressants [20]. Studies also have reported several biological actions of benzofuran derivatives including antioxidative and neuroprotective properties [25, 27, 62]. The insertion of Se in molecules containing the benzofuran nucleus has been used as a synthetic strategy by Gay et al. [26] and others, resulting in a class of 3-selanyl benzo[*b*]furans (SeBZF). Recently, the antidepressant-like action of 2-phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran (SeBZF1) was demonstrated in mice [25, 50]. However, psychotropic actions of the functionalized SeBZF are still unknown.

Therefore, this study aimed to select the most promising functionalized SeBZF by comparing the psychopharmacological effects of SeBZF1 (the class prototype) and its functionalized parent compounds in mice. Behavioral experiments were designed to characterize the SeBZF3 pharmacological actions. The possible involvement of the serotonergic system in its antidepressant-like action was investigated by *in vivo* tests and ligand-protein docking. Lastly, general toxicity parameters in mice treated with a high dose of SeBZF3 were assessed to predict its safety.

2. Material and methods

2.1. Animals

Male Swiss mice weighing between 25-35g (approximate age of 6-7 weeks) were obtained from a local breeding colony. Animals were kept in a separate animal room under controlled temperature $22 \pm 1^\circ\text{C}$ and a 12-h light/12-h dark cycle with free access to water and food. Experiments were approved by the Ethical Committee on Animal Experimentation of the Federal University of Pelotas (Nº 14283-2021), Brazil, affiliated to the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA) and in compliance with the National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. All behavioral tests

were performed in the light cycle, and the animals were habituated for at least 1 hour before the beginning of the tests. The apparatuses were cleaned with 20% ethanol between animals to avoid odor cues.

2.2. Chemicals

The compound named 3-selanyl benzo[*b*]furans (SeBZF1–5) (Fig. 1S) named 2-phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran (SeBZF1), 3-((4-fluorophenyl)selanyl)-2-phenylbenzofuran (SeBZF2), 3-((4-methoxyphenyl) selanyl)-2-phenylbenzofuran (SeBZF3), 3-((4-chlorophenyl)selanyl)-2-phenylbenzofuran (SeBZF4) and 2-phenyl-3-(4-tolylselanyl)benzofuran (SeBZF5) were synthesized and characterized in the Laboratory of Synthesis of Selenium and Tellurium Derivatives (LabSelen) located at the Federal University of Santa Catarina (UFSC) employing the method previously described by Gay et al. [26]. The technique of Nuclear Magnetic Resonance (NMR) of carbon (^{13}C) and hydrogen (^1H) was used to verify and confirm the chemical structure of the compound, proving that the synthesis was effective. Chemical purity of SeBZF1-5 (99.9%) was determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS). SeBZF1-5 were dissolved in canola oil and administered by the intragastric (i.g.) route. All other chemicals were obtained from Sigma (St. Louis, MO, USA) or from other standard commercial suppliers.

2.3. Experimental design

Each mouse was used only once in each test. The sample size was chosen for each experiment in accordance with Ethical Committee and behavior assessments were conducted by blinded investigators. Each behavioral experiment was replicated 2-3 times to reach the final “*n*” per group (7-9 mice/group). Tail suspension test (TST), open-field test (OFT), forced swim test (FST), and Light-Dark Test (LDT), were employed for behavioral assessments.

2.3.1. Screening of antidepressant-like and anxiolytic-like actions in mice treated with SeBZF1-5 and subjected to the TST and LDT

The mice were weighed and separated into seven experimental groups to evaluate the antidepressant-like and anxiolytic-like actions of SeBZF2-5 compounds, and the prototype SeBZF1 compound was used for comparisons. At time zero, the animals were treated with SeBZF1-5 (50 mg/kg, i.g.) or its vehicle (canola oil). Diazepam was used as an anxiolytic standard drug (1 mg/kg, intraperitoneal route, i.p.). After 26 min, one by one, the animals went through the OFT (4 min), LDT (5 min), and finally, TST (6 min), as shown in Fig. 1A. According to the effect size results, SeBZF3 was selected for next experiments.

2.3.2. Dose-response curve for SeBZF3 in the TST and LDT

Behavioral experiments were performed to assess the SeBZF3 psychopharmacological effects at different doses in the TST and LDT. The mice received SeBZF3 at the doses of 1, 5, 25 and 50 mg/kg or fluoxetine (20 mg/kg, i.p., antidepressant standard drug) [25]. After 26 min, the animals were subjected to the OFT (4 min), LDT (5 min) and TST (6 min) (Fig. 2A). Given the greater robustness regarding the antidepressant-like property, additional experiments were designed to characterize the antidepressant-like potential of SeBZF3.

2.3.3. Investigation of antidepressant-like action of SeBZF3 in mice subject to the FST

To provide additional support to the evidence of antidepressant-like action of SeBZF3, an additional behavioral test for antidepressant prediction, FST, was conducted. For this purpose, the compound was administered following a dose range: 5, 25, and 50 mg/kg (i.g.). Fluoxetine (20 mg/kg i.p.) was used as a positive control to validate the results [25]. Twenty-six min later, mice were tested in the OFT (4 min) and subsequently in the FST (6 min) (Fig. 3A).

2.3.4. Time-response curve for SeBZF3 in the TST

In parallel, to better characterize the antidepressant-like action of SeBZF3, a time-response curve was carried out in the TST. Animals were treated with a fixed dose (50 mg/kg, i.g.), and after 15, 30, 60, 120, and 240 min pretreatment times the animals were tested in the TST (Fig 4A). Immediately before TST, animals had the locomotor activity evaluated in the OFT.

2.3.5. Investigation of the contribution of different 5-HT receptors in the antidepressant-like action of SeBZF3 in the TST

A set of experiments was designed to verify the possible involvement of the serotonergic system in the acute antidepressant-like action of SeBZF3 in the mouse TST (Fig. 5A). For this, mice were pretreated with distinct serotonergic receptor antagonists: WAY100635 (0.1 mg/kg, subcutaneous route, s.c., a selective 5-HT_{1A} antagonist), ketanserin (1 mg/kg, i.p., a 5-HT_{2A/2C} antagonist), ondansetron (1 mg/kg, i.p., a 5-HT₃ receptor antagonist) or vehicle (saline solution). Fifteen min later, they received SeBZF3 (50 mg/kg, i.g.) or its vehicle (canola oil). After 30 min of SeBZF3 or vehicle administration, the animals were subjected to the TST. OFT was assessed 4 min before the TST. Doses and pre-treatment time for 5-HT receptor antagonists were based on a previously published study [3, 25].

With the purpose of gain further evidence for the serotonergic hypothesis in the antidepressant-like action of SeBZF3 in mice, the interaction between subeffective doses of SeBZF3 and fluoxetine was investigated (Fig. 6A). Animals were pretreated with a subeffective dose of fluoxetine (5 mg/kg, i.p.) or its vehicle (saline), and 10 min after received the compound SeBZF3 at a subeffective dose of 1 mg/kg (i.g.) or its vehicle. Thirty min later, the mice were tested in the TST. OFT was assessed 4 min before the TST.

2.3.6. Investigation of the toxic effects of the compound SeBZF3 in mice

Finally, the evaluation of acute toxicity after oral administration of SeBZF3 was performed in male Swiss mice in accordance with protocol 423 of the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). SeBZF3 was orally administered at a dose of 300 mg/kg, and control animals received canola oil. The animals were monitored for 14 days, with consumption of water and food control where they were periodically weighed and evaluated for behavioral changes, such as lethargy, piloerection, and diarrhea. After 14 days the animals were subjected to the OFT to detect any locomotor changes. The mice were euthanized with isoflurane, heparinized blood was collected by cardiac puncture, the blood was centrifuged for 10 min at 2500 rpm and the plasma was collected for biochemical analysis such as dosage of the activity of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT), and urea levels. All tests were performed in duplicate. Transaminases and urea measurements were carried out using Labtest® kit.

2.4. Behavioral tests

2.4.1 Open-field test (OFT)

OFT is a habitual measure of spontaneous locomotion and exploratory activity in rodents. OFT was performed immediately before FST or LDT and/or TST according to the protocol of Walsh and Cummins [58], which was applied to exclude possible locomotor changes caused by the treatments. The open-field box (30 × 30 × 15 cm) was made of plywood and the floor was divided into 9 quadrants. Each animal was placed individually at the center of the apparatus and the total number of crossings and rearings were recorded during 4 min.

2.4.2 Light-Dark Test (LDT)

The method described by Crawley and Goodwin [15] is applied to analyze the possibility that the increase in exploratory behavior is an index for anxiolytic effects. A wooden apparatus divided into two chambers, a light and a dark chamber, with a division allowing the animals to cross between the chambers. The positive drive to explore new areas versus the negative drive to avoid brightly lit areas is the conflict aspect of this paradigm. Anxiolytics increase the time spent in the light area. Thus, mice were placed in the light area and allowed to freely explore the apparatus for 5 min. The time the animal spent in the light area was recorded in sec.

2.4.3 Tail suspension test (TST)

TST is an alternative method in which mice are suspended by their tails 50 cm above the floor by adhesive tape placed approximately 1 cm from the tip of the tail. The experimental protocol was performed in an acoustically and visually isolated place. Total immobility time (sec), defined as the absence of scape-oriented behavior, and latency time for the first immobility episode (sec) were manually recorded during 6 min according to the method described by Steru et al. [54]. Depressive-like behavior in this test is based on the supposition that immobility indicates a measure of behavioral despair, and thus reductions of immobility reflect the antidepressant-like effects of therapeutic interventions.

2.4.4 Forced swim test (FST)

In this protocol, originally described by Porsolt et al. [47], each animal was placed in an open cylindrical container (10 cm in diameter and 25 cm in height), containing 19 cm of water at ± 25 °C. Total immobility time (sec) and latency for the first immobility episode (sec) were observed during a 6-min period. Immobility was considered when mice remained

floating in the water without struggling or they made only enough movements to keep their head above the surface. This physical immobility is thought to be an indication of behavioral despair, while its reduction predicts the antidepressant-like behavior.

2.5 *In silico* analysis by molecular docking

To further investigate the possible contribution of serotonergic modulation in the SeBZF3 effects, *in silico* analyses by molecular docking were employed aiming to predict possible interactions of this compound with some target proteins, including 5-HT receptors and SERT. Given that 5-HT receptors have a high sequence similarity, and some 3D structures are unavailable [60], among 5-HT receptors tested here we choose 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors as targets for these inspections. Thus, the interaction of the compound SeBZF3 with 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors (PDB:6A94; PDB:6BQH) and serotonin transporter (SERT) (PDB:5I74), was predicted by the software Autodock Vina 1.1.2 [51, 57]. The SeBZF3 molecule was designed using ChemDraw software and its 3D geometry was optimized in Avogadro 1.2.0 software through UFF molecular mechanics force field calculations [49]. The crystal structures of the SERT and 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors were obtained from the Protein Data Bank (PDB) (<http://www.pdb.org/>).

For the removal of ions, water, and ligands from the receptors, the software CHIMERA 1.15 was used, while the Auto Dock Tools 1.5.6 was used to fix hetero groups and structure optimization (Seeliger and Groot, 2010), the Auto Dock Tools was also used to ensure that the SeBZF3 bonds rotate freely and the receptors were considered rigid [42]. The grid box was centered on the active site of enzymes with high resolution, allowing the program to search for additional locations of likely interactions using Autodock Tools 1.5.6. Ligand-protein interactions and images were obtained using BIOVIA Discovery Studio Visualizer software.

2.6 Statistical analysis

Experimental results were analyzed by GraphPad Prism software (version 8.2.0.) and expressed as the mean $\pm$ standard error of the mean (S.E.M.). D'Agostino Pearson normality test was applied to test if the data are normally distributed. Parametric data were analyzed by one-way or two-way analysis of variance (ANOVA), with a consecutive application of Dunnett's or Tukey's *post hoc* test, respectively. Unpaired t-test was employed in the toxicity experiments (Control *versus* SeBZF3). Probability values less than 0.05 ($p < 0.05$) were considered significant. Cohen's *d* and effect-size *r* were calculated using "Effect Size Calculators" available in <https://www.uccs.edu/lbecker>.

3. Results

3.1 Antidepressant-like and anxiety-like actions of SeBZF1-5 in mice subjected to the TST and LDT

Experimental data obtained from mice treated with SeBZF1-5 (50 mg/kg) in TST and LDT are shown in Fig 1. One-way ANOVA analysis also showed significant differences in the time spent in the light side among the groups [$F_{(6,54)}=3.559$, $p=0.0048$] (Fig. 1B), as can be seen, the number of transitions in LDT was not different between the experimental groups [$F_{(6,54)}=0.2901$, $p=0.9391$] (Fig. 1C). The animals treated with SeBZF3 ($p=0.0049$) or diazepam ($p=0.0011$) demonstrated a significant increase in the time spent on the light side as compared with the control mice.

Statistical differences were detected among the groups regarding behavioral parameters evaluated in the TST, evidenced by changes in the latency for the first episode of immobility [$F_{(5,44)}=5.208$, $p=0.0008$] (Fig. 1D) and total immobility time [$F_{(5,44)}=2.818$, $p=0.0271$] (Fig. 1E). *Post-hoc* analysis revealed a significant increase in the latency to reach the first immobility episode for animals treated with SeBZF1 ($p=0.0081$) (as expected), as

well as for those that received the compounds SeBZF2 ($p=0.0401$) and SeBZF3 ($p=0.0001$). Reductions in the total immobility time were observed in SeBZF1 ($p=0.0359$), SeBZF3 ($p=0.0077$), and SeBZF4 ($p=0.0318$) groups. A tendency for immobility reduction in mice treated with SeBZF2 also can be noted ($p=0.0711$). No significant changes were observed in the locomotor and exploratory activities of animals in the OFT (Table S1).

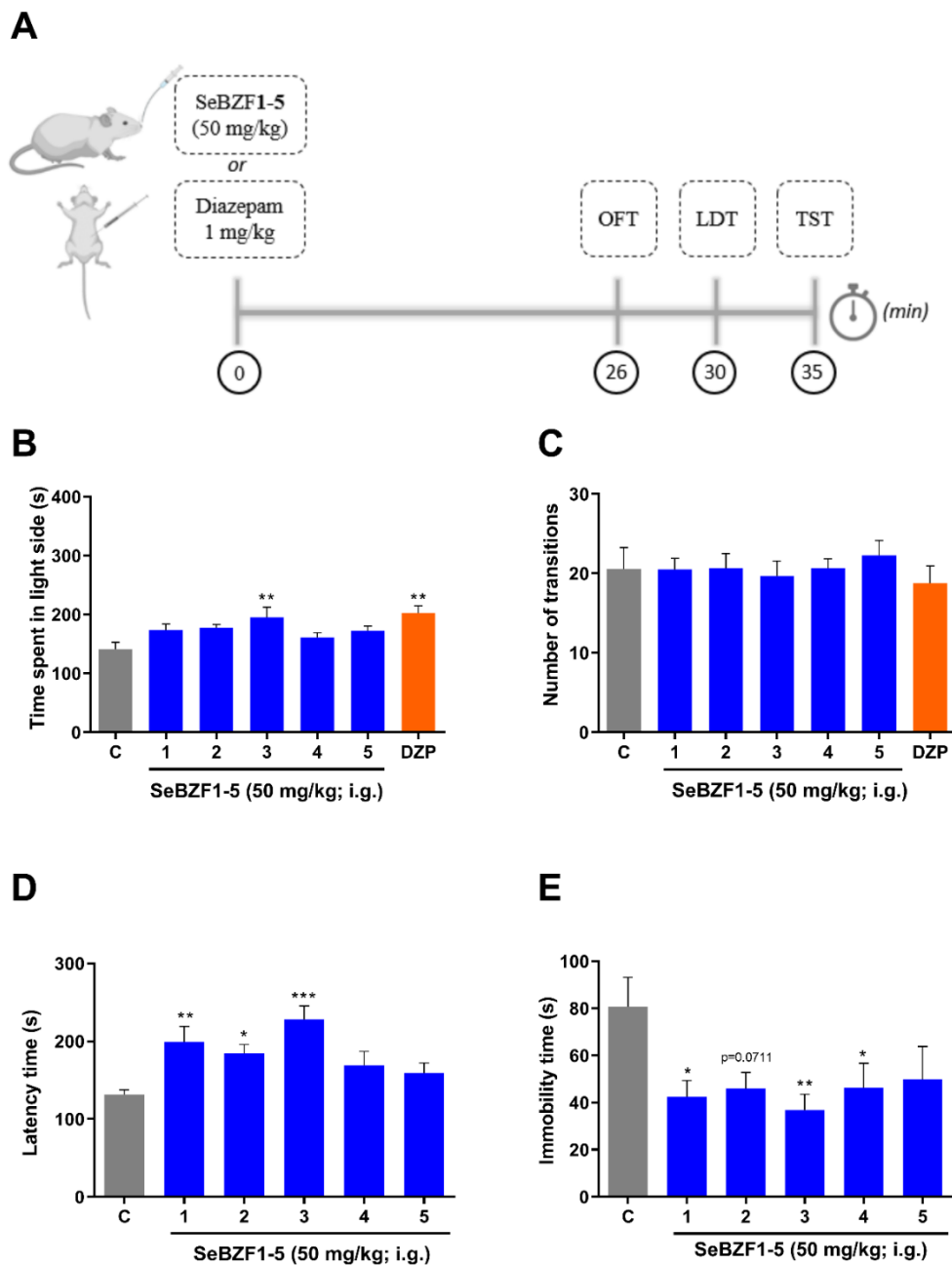


Fig. 1. Effects of acute treatment with SeBZF1-5 on the mouse LDT and TST. **(A)** Experimental design, **(B)** time spent in the light side, **(C)** number of transitions, **(D)** latency time to the first episode of immobility, and **(E)** total immobility time in male Swiss mice ($n = 8-9$ mice/group) treated with SeBZF1-5 (50 mg/kg; i.g., 30 min of pretreatment). Diazepam (1 mg/kg; i.p., 30 min) was used as a reference anxiolytic drug. Values are presented as mean $\pm$ S.E.M. and statistical analysis was performed by one-way ANOVA/Dunnett's *post hoc* test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ as compared with the control group.

Cohen- d and effect-size r depicted in the Table 1 suggest that SeBZF3 had a larger effect if compared to other functionalized SeBZF. These values were obtained to select the most promising functionalized SeBZF for a better characterization of the antidepressant-like action and action mechanisms studies.

Table 1. Cohen- d values and effect size r for effects of functionalized SeBZF (2-5) in the mouse TST.

Treatment	Latency time		Total immobility time	
	Cohen's- d	Effect-size r	Cohen's- d	Effect-size r
Control <i>versus</i> SeBZF2	2.038	0.714	1.184	0.509
Control <i>versus</i> SeBZF3	2.826	0.816	1.558	0.614
Control <i>versus</i> SeBZF4	0.945	0.427	1.049	0.464
Control <i>versus</i> SeBZF5	0.853	0.392	1.078	0.474

3.2 SeBZF3 effects on mouse TST and LDT in a dose-response design

Based on TST and LDT results, the compound SeBZF3 was selected to be tested in a dose-response curve design (Fig. 2). One-way ANOVA analysis showed significant differences in the time spent in the light side among the groups [$F_{(5,49)}=2.750$, $p=0.0288$] (Fig.

2B). Dunnett's *post hoc* test showed that mice treated with the compound at a dose of 50 mg/kg ($p=0.0073$) or treated with fluoxetine (positive control; $p=0.0159$) had an increase in the time spent in the light side of the test apparatus. No significant changes were observed in the number of transitions in the LDT [$F_{(5,49)}=0.5642$, $p=0.7269$] (Fig. 2C).

One-way ANOVA revealed significant effects in the TST when latency time [$F_{(5,49)}=16.73$, $p<0.0001$] (Fig. 2D) and total immobility time [$F_{(5,49)}=8.068$, $p<0.0001$] (Fig. 2E) were evaluated. In the *post hoc* test, latency time was significantly increased in SeBZF3 groups that were treated with the doses of 25 mg/kg ($p=0.0073$) and 50 mg/kg ($p=0.0276$). Fluoxetine, a positive control, increased the latency time ($p<0.0001$). Furthermore, SeBZF3 at the doses of 5 ($p=0.0203$), 25 ($p=0.0056$) and 50 mg/kg ($p=0.0040$) or fluoxetine ($p=0.0005$) induced a significant reduction in the total immobility time. No significant changes were observed in the locomotor activity of mice in the OFT (Table S2).

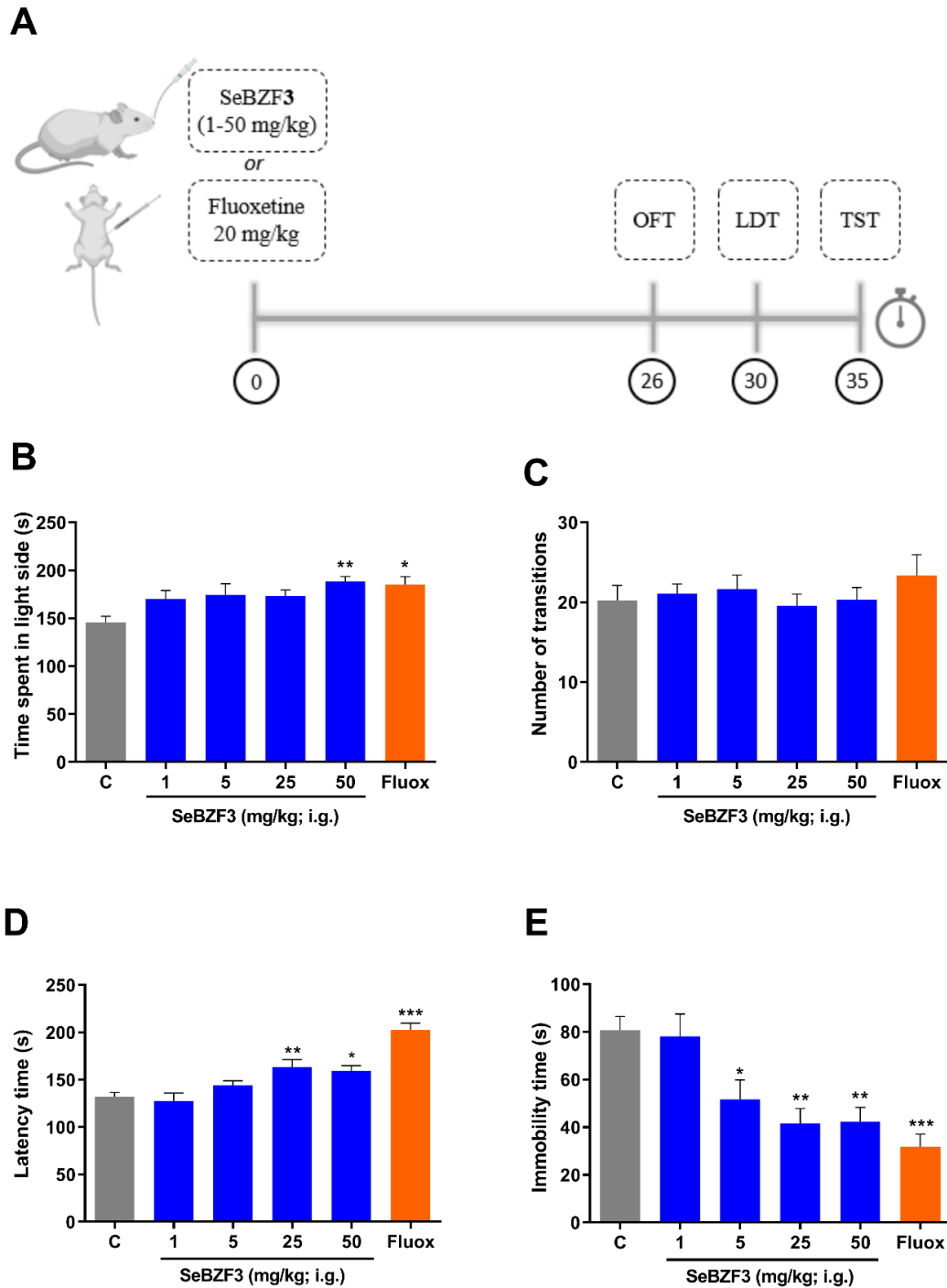


Fig. 2. Effects of acute treatment with SeBZF3 on the mouse LDT and TST. **(A)** Experimental design, **(B)** time spent in the light side (LDT), **(C)** number of transitions (LDT), **(D)** latency time to the first episode of immobility (TST), and **(E)** total immobility time (TST) in a SeBZF3 dose-response curve (1-50 mg/kg; i.g., 30 min of pretreatment) in mice ($n = 8-9$)

mice/group). Fluoxetine (20 mg/kg; i.p., 30 min) was used as a reference antidepressant drug. Values are presented as mean $\pm$ S.E.M. and statistical analysis was performed by one-way ANOVA/Dunnett's *post hoc* test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ as compared with the control group.

3.3 Antidepressant-like action of SeBZF3 in mice subjected to the FST

Examining the SeBZF3 dose-response curve in the FST (Fig. 3), a one-way ANOVA revealed significant effects of treatments to latency to the first episode of immobility [$F_{(4,34)}=19.31$, $p < 0.0001$] (Fig. 3B) and total immobility time [$F_{(4,34)}=8.000$, $p=0.0001$] (Fig. 3C). Dunnett's *post hoc* test indicated that SeBZF3 at the dose of 50 mg/kg markedly increased the latency time for the first episode of immobility ($p < 0.0001$) and decreased the time that animals remained immobile ($p=0.0092$), a result also observed for the fluoxetine group ($p < 0.0001$ and $p=0.0002$, respectively). No significant changes were observed in the locomotion of experimental groups in the OFT (Table S3).

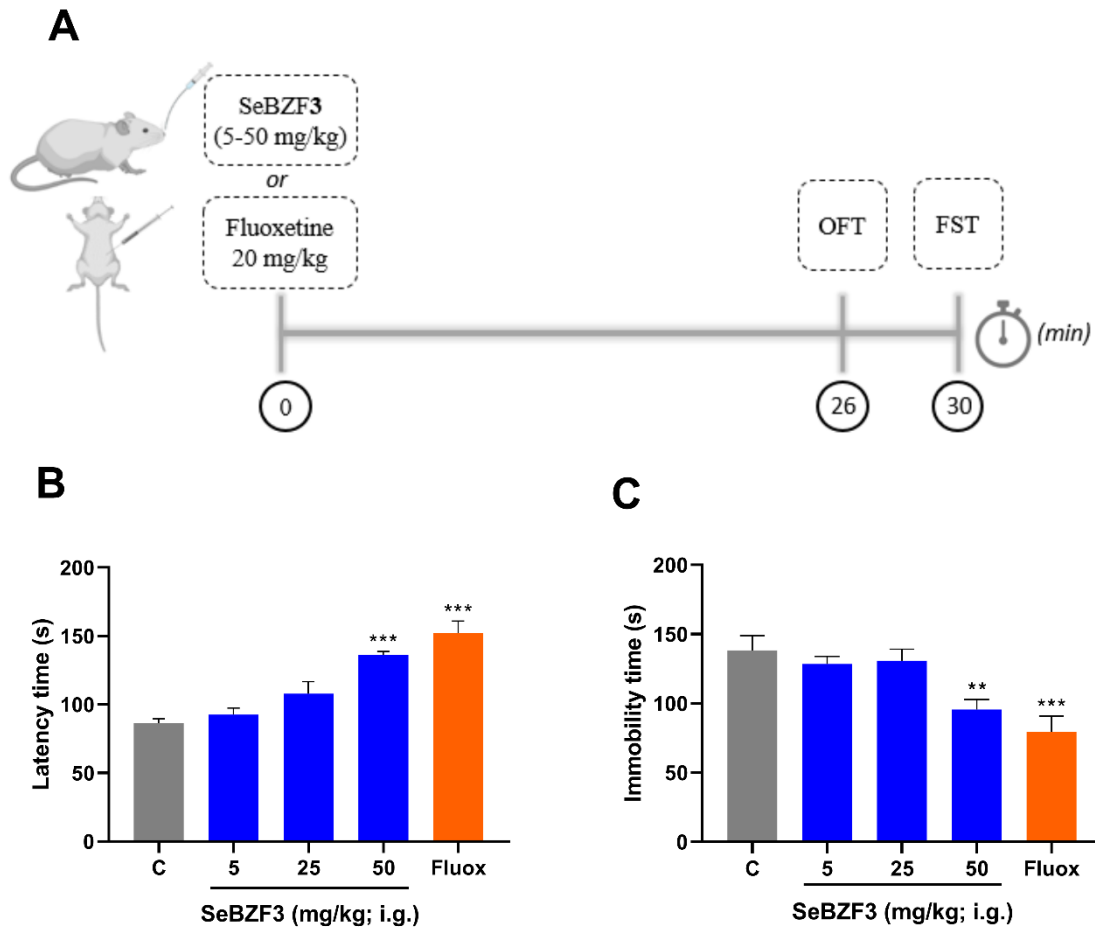


Fig. 3. Effects of acute treatment with SeBZF3 or fluoxetine on despair behavior in the mouse FST. **(A)** Experimental design, **(B)** latency time to the first episode of immobility, and **(C)** total immobility time in a SeBZF3 dose-response curve (5-50 mg/kg; i.g., 30 min of pretreatment) in mice ($n = 7-8$ mice/group). Fluoxetine (20 mg/kg; i.p., 30 min) was used as a reference antidepressant drug. Values are presented as mean $\pm$ S.E.M. and statistical analysis was performed by one-way ANOVA/Dunnett's *post hoc* test ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ as compared with the control group.

3.4 Antidepressant-like action of SeBZF3 in mice subjected to the TST in a time-response curve

The effects of treatment with SeBZF3 (50 mg/kg, i.g.) in a time-response curve conducted in the TST is shown in Fig. 4. One-way ANOVA revealed significant effects of treatments on latency to the first immobility episode [$F_{(5,42)}=16.06$; $p<0.0001$] (Fig. 4B) and immobility time [$F_{(5,42)}=9.346$; $p<0.0001$] (Fig. 4C) at different times after treatment. As revealed by Dunnett's *post hoc* test, SeBZF3 significantly increased the latency to reach the first immobility episode at 30 ($p<0.0001$), 60 ($p=0.0003$), and 120 min ($p=0.0116$) after the treatment. Its administration significantly reduced the total immobility time at 30 ($p=0.0006$), 60 ($p=0.0045$), and 120 min ($p=0.0449$) time points. No significant changes were observed in the locomotor activity of experimental groups in the OFT (Table S4).

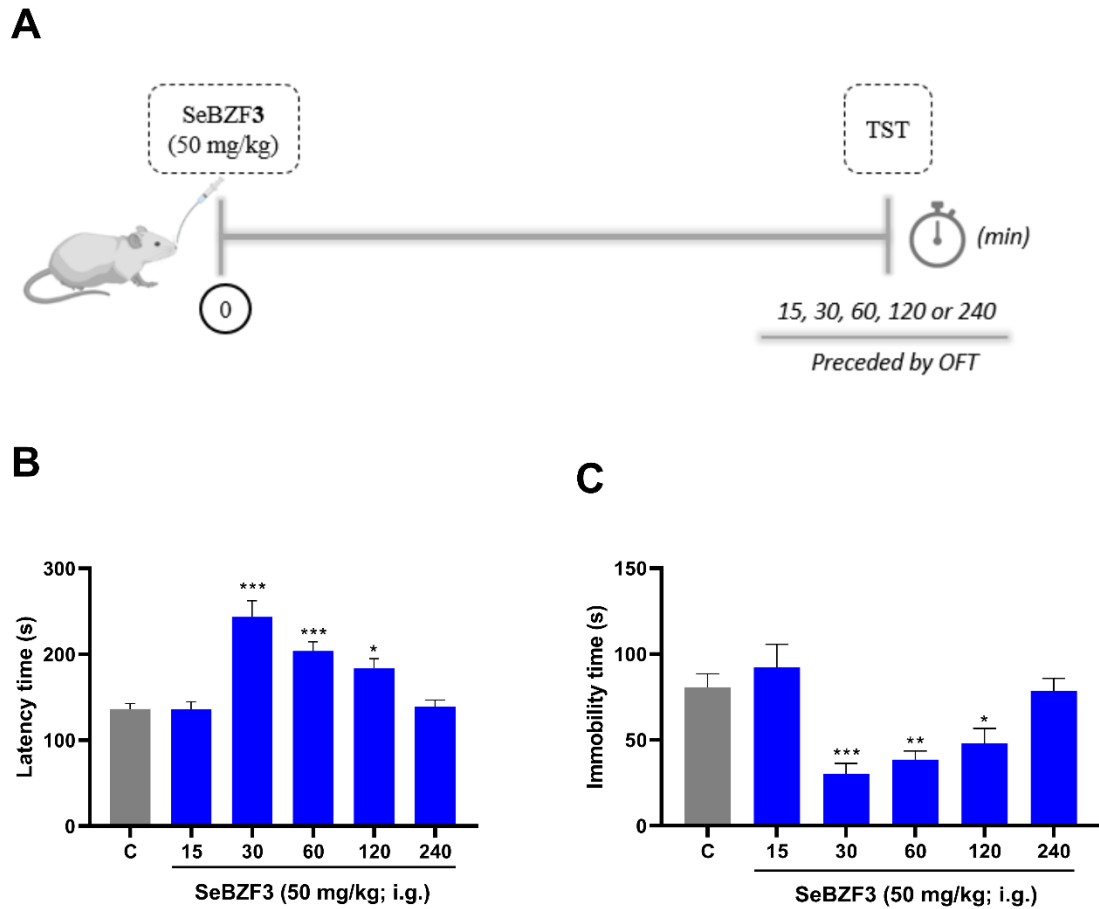


Fig. 4. Effects of acute treatment with SeBZF3 on despair behavior in the mouse TST. **(A)** Experimental design, **(B)** latency time to the first episode of immobility, and **(C)** total immobility time in a SeBZF3 time-response curve (50 mg/kg; i.g., 15-240 min) in mice ($n = 7-8$ mice/group). Values are presented as mean $\pm$ S.E.M. and statistical analysis was performed by one-way ANOVA/Dunnett's *post hoc* test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ as compared with the control group.

3.5 Involvement of 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A/2C} and 5-HT₃ receptors in the antidepressant-like action of SeBZF3

The results of the experiments designed to investigate the contribution of different 5-HT receptors in the antidepressant-like action of SeBZF3 in the TST can be seen in Fig.5. Two-way ANOVA analysis revealed there was an interaction between the WAY100635 (a selective 5-HT_{1A} receptor antagonist) and SeBZF3 treatments when the latency time to the first episode of immobility [$F_{(1, 27)}=21.61$, $p<0.0001$] and total immobility time [$F_{(1, 27)}=6.982$, $p=0.0135$] were analyzed (Fig. 5B e 5C). Tukey *post hoc* test demonstrated that WAY100635 blocked the antidepressant-like effects of SeBZF3 (50 mg/kg) in the TST, as revealed by statistical analyses of the latency time ($p<0.0001$) and total immobility time ($p=0.0021$).

Fig. 5D and 5E illustrate the effects of the pretreatment with ketanserin (a 5-HT_{2A/2C} receptor antagonist) on the antidepressant-like effects of SeBZF3 in the TST. The two-way ANOVA demonstrated a significant SeBZF3 $\times$ ketanserin interaction when rated the latency time [$F_{(1, 28)}=11.51$, $p=0.0021$] and total immobility time [$F_{(1, 28)}=24.24$, $p<0.0001$]. Values for Tukey *post hoc* comparisons demonstrated that the increase in the latency for the first immobility episode ($p=0.0013$) and the decrease in the total immobility time ($p=0.0004$) caused by the SeBZF3 administration (50 mg/kg) were blocked by the pretreatment with ketanserin.

In a parallel experiment using ondansetron (a 5-HT₃ receptor antagonist), two-way ANOVA analyses revealed an interaction between SeBZF3 and ondansetron treatments when the latency time [$F_{(1, 31)}=7.468$, $p=0.0103$] (Fig. 5F) and total immobility time [$F_{(1, 31)}=4.187$, $p=0.0493$] (Fig. 5G) were evaluated. Tukey's *post hoc* test showed that the pretreatment of mice with this 5-HT₃ receptor antagonist blocked the effect of SeBZF3 in the TST when rated

the latency time ($p < 0.0001$) and total immobility time ($p = 0.0026$). No significant changes were observed in the locomotor activity of experimental groups in the OFT (Table S5).

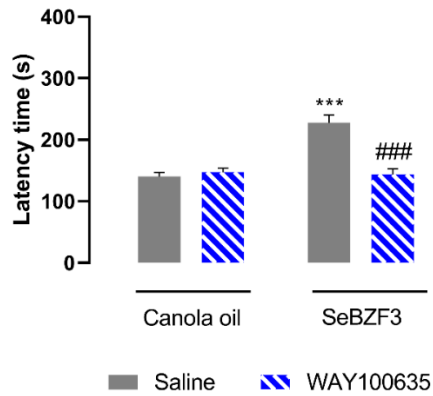
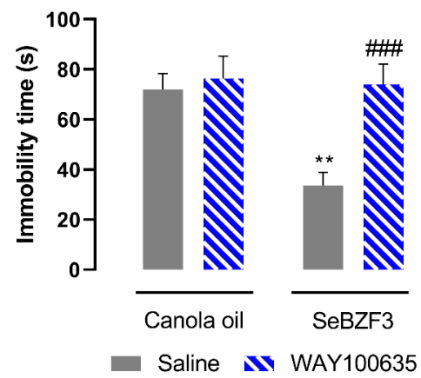
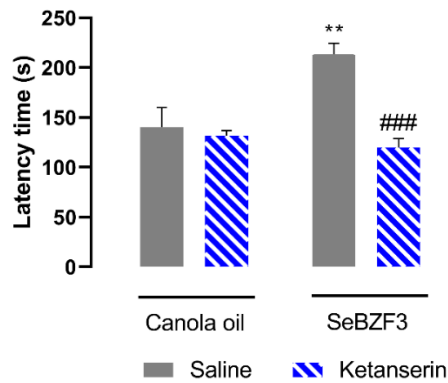
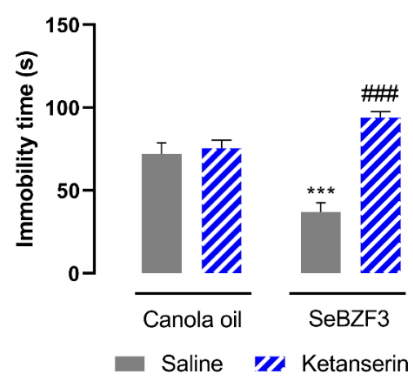
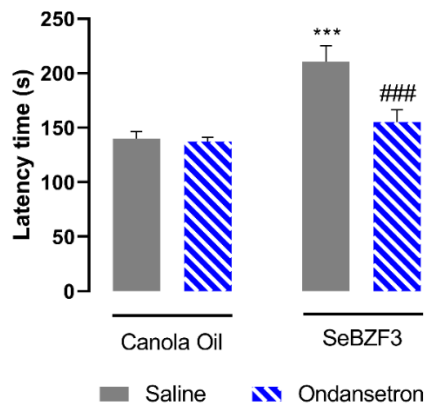
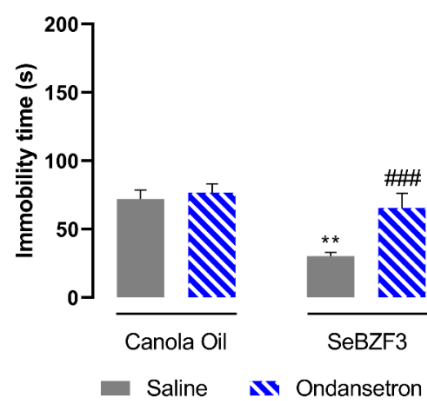
B**C****D****E****F****G**

Fig. 5. Effects of the pre-administration of serotonergic antagonists on the acute antidepressant-like action of SeBZF3 (50 mg/kg, i.g.) in the mouse TST. **(A)** Experimental design. The left panel shows the latency time and the right panel the total immobility time for the pre-treatments with **(B and C)** WAY100635 (0.1 mg/kg, s.c., a selective 5-HT_{1A} receptor antagonist), **(D and E)** ketanserin (1 mg/kg, i.p., a 5-HT_{2A/C} receptor antagonist) and **(F and G)** ondansetron (1 mg/kg, i.p., a 5-HT₃ receptor antagonist) in mice (n = 7-9 mice/group). Values are presented as mean ± S.E.M. and statistical analysis was performed by two-way ANOVA/Tukey *post hoc* test. **p<0.01 and ***p<0.001 as compared with the control group. ###p<0.001 as compared with the SeBZF3 group.

3.6 Antidepressant-like action of the combination of SeBZF3 and fluoxetine subeffective doses in the mouse TST

The results depicted in Fig. 6 represent a co-administration of subeffective doses of SeBZF3 and fluoxetine (a SSRI antidepressant drug) in the TST. The two-way ANOVA analyses revealed a significant SeBZF3 × fluoxetine interaction for the latency time [$F_{(1,31)}=45.57$, $p<0.0001$] (Fig. 6B) and total immobility time [$F_{(1,31)}=11.51$, $p=0.0019$] (Fig. 6C). *Post hoc* analyses demonstrated that a combination of subeffective doses of fluoxetine and SeBZF3 promoted an effective increase in latency time for the first immobile posture, as well as a reduction in total immobility time (both $p<0.0001$) in the TST. No significant changes were observed in the locomotor activity of experimental groups in the OFT (Table S6).

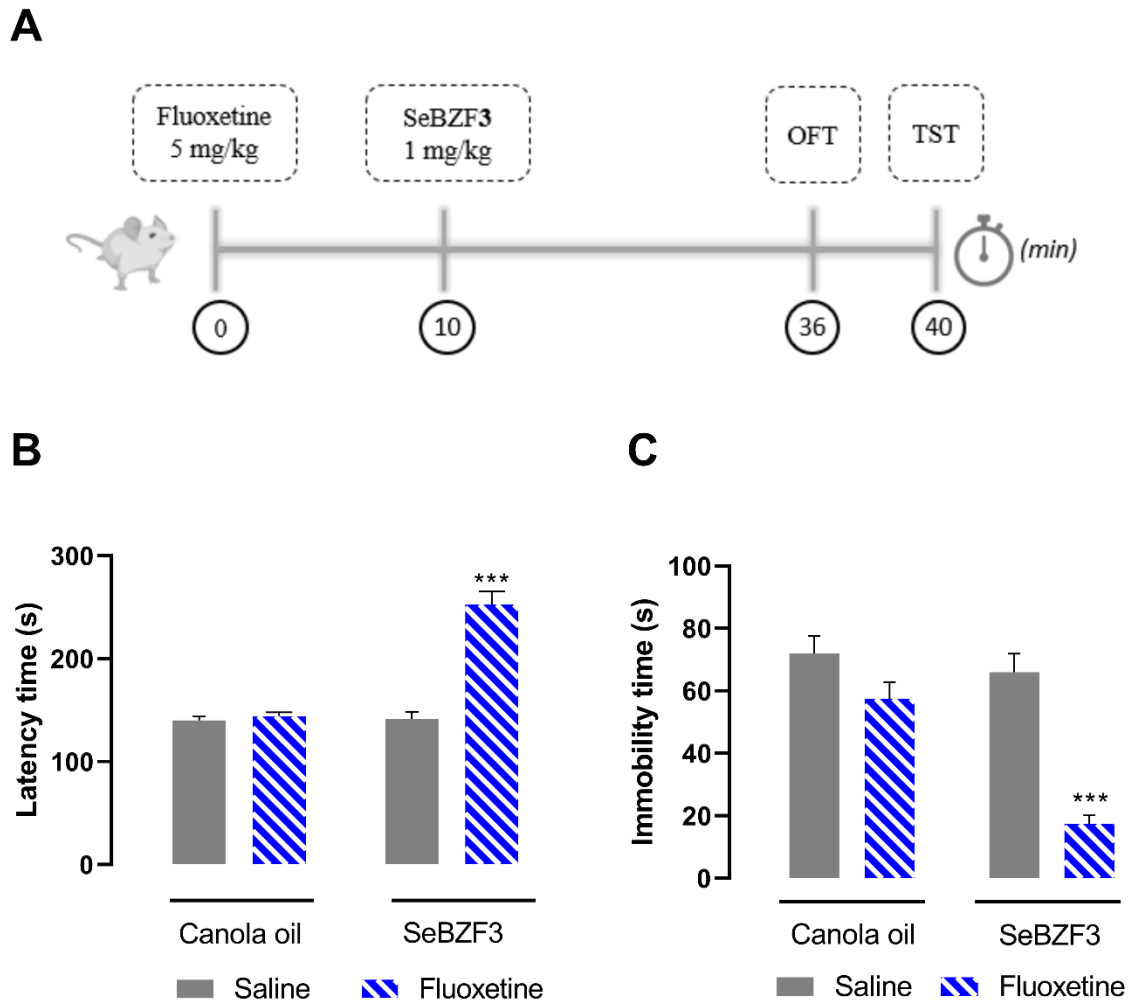


Fig. 6. Effects of the coadministration of subeffective doses of SeBZF3 (1 mg/kg, i.g.) and fluoxetine (5 mg/kg, i.p., a selective serotonin reuptake inhibitor | SSRI) on despair behavior of mice in the TST. **(A)** Experimental design, **(B)** latency time to the first episode of immobility, and **(C)** total immobility time ($n = 8-9$ mice/group). Data are reported as mean $\pm$ S.E.M. and statistical analysis was performed by two-way ANOVA/Tukey *post hoc* test. *** $p < 0.001$ as compared with the control group.

3.7 Molecular docking predicts possible interactions with serotonergic targets

Molecular docking analyses revealing binding sites for SeBZF3 with 5-HT_{2A} are depicted in Fig. 7A and B. Significant interactions were formed between SeBZF3 and the residues LEU229, LEU228, ASN363, TYR139, VAL366, and ILE152 (-7,7 kcal/mol). Molecular docking analyses revealed optimal binding sites for SeBZF3 with 5HT_{2C} are depicted in Fig. 7C and D. Significant interactions were formed between SeBZF3 and the residues TRP324, SER138, ILE142, PHE223, PHE327, PHE328, VAL135, ALA222, LEU209, and VAL215 (-8,6 kcal/mol). The interaction value for SeBZF3 and 5HT_{2C} was better (-8.6 kcal/mol) than that of SeBZF3 and 5HT_{2A} (-7.7 kcal/mol).

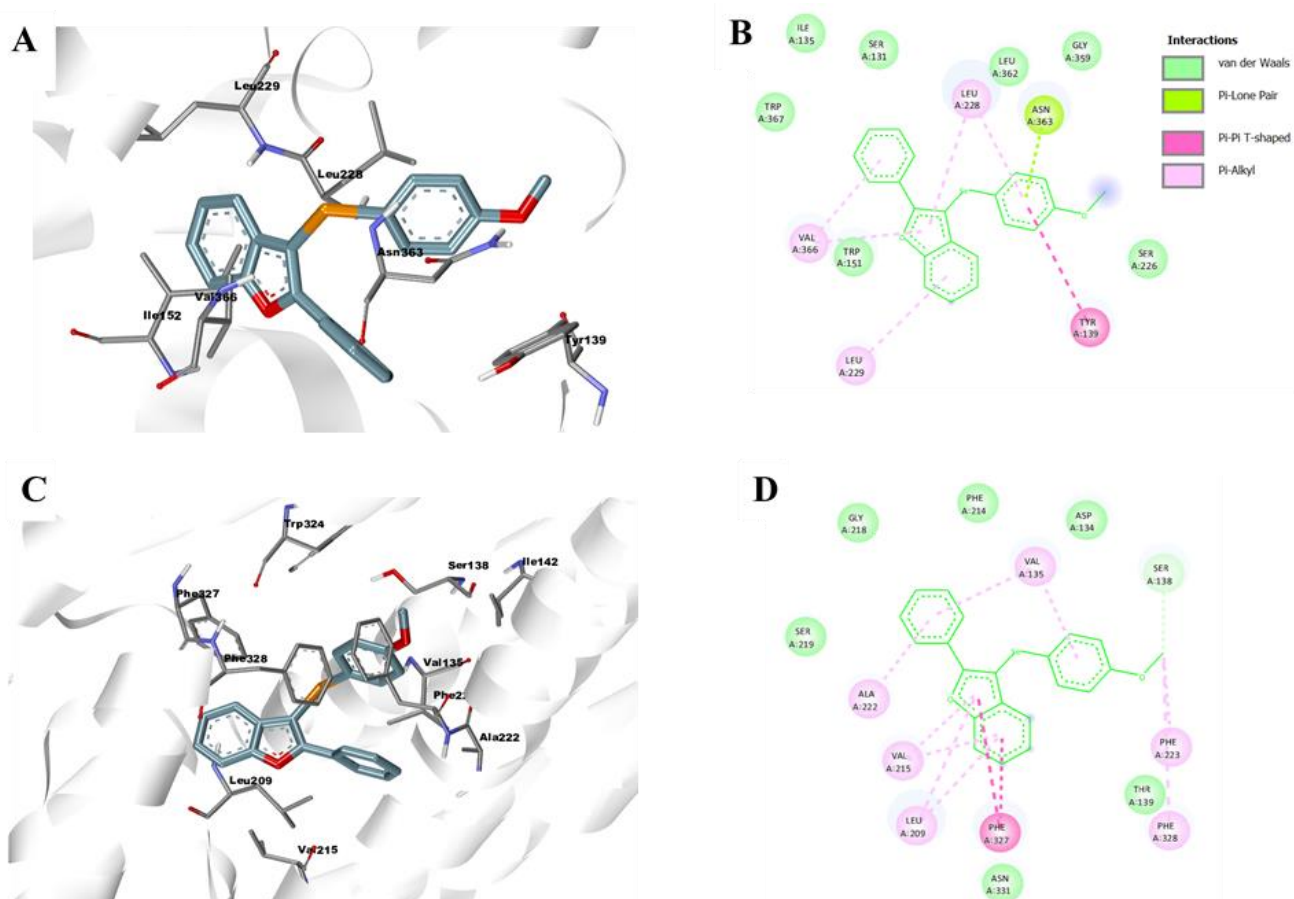


Fig. 7. The predicted binding site and the protein-ligand interactions of the SeBZF3 residues in 5-HT_{2A} (A and B, respectively) and with 5-HT_{2C} (C and D, respectively).

To analyze possible interactions with other important protein targets in the pathophysiology of MDD, molecular docking analyses were directed to the SERT. Results of molecular docking analyses for SeBZF3 and SERT are showed in Fig. 8A and B, and demonstrated significant interactions were formed between SeBZF3 and the residues VAL501, TYR175, PHE335, THR497, ILE172, GLY442 and PHE341 (-9.5 kcal/mol).

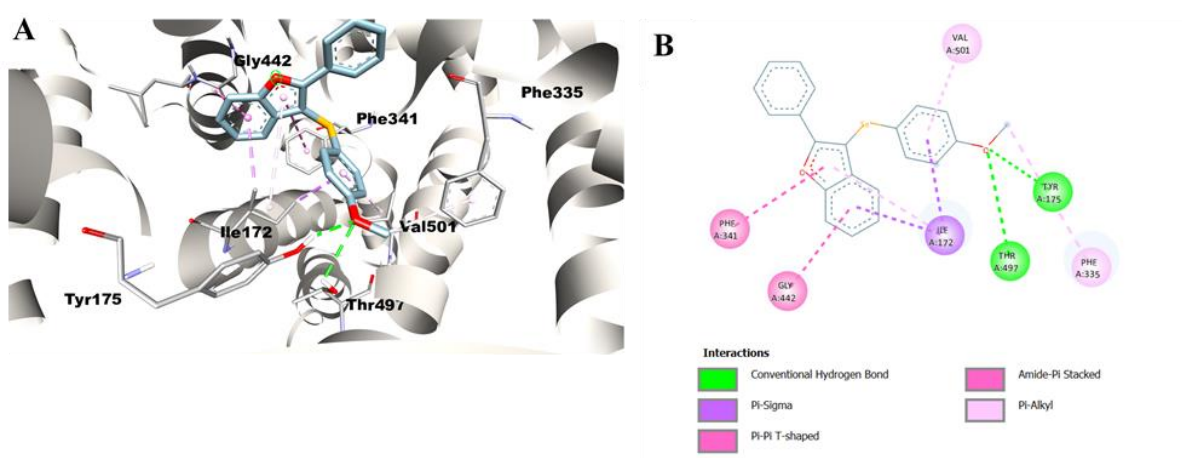


Fig. 8. The predicted binding site (A) and the protein-ligand interactions (B) of the SeBZF3 residues in SERT.

3.8. SeBZF3 did not alter the parameters of acute toxicity

T-test demonstrated that the administration of a high dose of SeBZF3 (300 mg/kg, i.g.) to male mice did not induce significant changes in general parameters of acute toxicity ($p > 0.05$; see in supplementary material). Plasma biochemical analyses showed that SeBZF3 did not cause changes in ALT and AST activities or urea levels as compared to the control group (Fig. 2S A-C). In addition, the body weight of the animals (Fig 2S D), food intake (Fig. 2S E) and water consumption (Fig. 2S F) also remained without significant variations between the groups (Fig. 2S D). In the OFT, performed before euthanasia, the animals did not exhibit any locomotor impairments (Fig. 2S G and H).

4. Discussion

The present study reported pioneering findings concerning the psychopharmacology of a functionalized SeBZF (SeBZF3) in mice. Our data revealed its anxiolytic-like and antidepressant-like actions, and no systemic toxicity signals were detected. By focusing on the antidepressant-like activity, behavioral studies and molecular docking established evidence for the serotonergic modulation by SeBZF3. Like SeBZF1, functionalized compounds of a SeBZF class (SeBZF2-5) were previously tested and exhibited *in vitro* brain antioxidant capacity [25], however their neuroprotective potential *in vivo* had not yet been investigated.

Trials for anxiolytic and antidepressant-like activities of SeBZF class were carried out in an initial experimental set, and SeBFZ1 (prototype) used to comparisons. Findings from LDT, a behavioral paradigm able to detect standard therapies to anxiety and drug candidates [8], showed anxiolytic-like effect for SeBZF3 (50 mg/kg). On the other hand, the compounds SeBFZ3 and SeBFZ4 reduced the total immobility time in the TST, suggesting potential antidepressant actions. Results were validated by positive control use and absence of psychostimulant bias in the OFT. Although not all compounds had statistically differences in relation to the control, all functionalized SeBZF (SeBZF2-5) resulted in “large effects” in TST. Since the effect size refers to the magnitude of the difference between groups [55], these findings indicate the antidepressant potential of this chemical class.

Compounds having benzofuran scaffold have attracted medicinal chemists and pharmacologists [13]. Citalopram and escitalopram, efficacious serotonergic drugs for a range of mood and anxiety disorders, contains benzofuran moiety. Vilazodone, a SSRI and partial 5-HT_{1A} agonist, is also a reference antidepressant drug containing benzofuran nucleus [20, 39]. Concurrently, synergistic action of inorganic selenium with some antidepressants and

diazepam (a classic anxiolytic drug) is already reported in mice [35]. Further, anxiolytic or antidepressant-like actions have been described for several organoselenium compounds [43].

Behavioral experiments focusing on antidepressant-like action were extended in this study. Based on the effect size values, SeBZF compound containing a methoxyl substituent (SeBZF3) was chosen among the functionalized SeBZF. Similar to results found with SeBZF1 by Gall et al. [25], data from dose-response curves in male mice revealed that SeBZF3 exerts antidepressant-like effects in the TST (5-50 mg/kg) and FST (50 mg/kg). Besides, SeBZF3 seems to produce longer-lasting effects compared with its prototype. FST and TST paradigms measure an animal's behavioral response strategy to an extremely stressful (inescapable) situation [32], and a stable immobility readout that can be countered by acute pretreatment with antidepressant agents [16]. The mouse FST has not traditionally been viewed as a consistently sensitive model for detecting SSRI activity whereas TST exhibits apparent increased sensitivity [16], justifying TST employment for studies on serotonergic mechanisms. This fact could explain the need for a higher dose of SeBZF3 (50 mg/kg) to produce efficacy in the FST if compared with the TST (5 mg/kg).

Several studies suggest the antidepressant-like action of selenium-based compounds can be mediated by serotonergic modulation [3, 25, 43]. SSRIs are most widely prescribed in the last years to treat patients with depression and anxiety, and exert their therapeutic action by regulating 5-HT levels and facilitating their neurotransmission [48]. To clarify our pharmacological hypothesis, a series of experiments evaluating the effects of selective serotonergic antagonists on antidepressant-like action of SeBZF3 was carried out. Results of the present study pointed out evidence for the involvement of 5-HT receptors in its antidepressant-like action given that the pretreatment of mice with distinct 5-HT antagonists prevented increases on mobile behavior of animals exposed to SeBZF3.

5-HT can be produced both centrally and peripherally [29] and binds to functionally distinct receptors so that dysfunction and regulation of these receptors are implicated in several disorders as depression and anxiety [34]. 5-HT receptors are a family of guanine nucleotide triphosphate-binding protein-coupled receptors (including 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A/C}) and one ligand-gated ion channel (5-HT₃) that transduce an extracellular signal by the neurotransmitter 5-HT to an intracellular response [29]. Given the inherent complexity of this neurochemical system, one strategy for understanding its functioning is to focus on a select number of receptor subtypes that have been particularly well characterized. In this sense, 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A/C} receptors are the most prevalent and researched brain receptors [10].

Modulation of 5-HT_{1A} could be related to antidepressant-like action of SeBZF3 treatment because the anti-immobility effects were blocked by the 5-HT_{1A} antagonist WAY100635. The 5-HT_{1A} receptors are a subtype located in presynaptic (autoreceptors in the raphe neurons) and postsynaptic membranes (heteroreceptors in projection areas) [61]. Postsynaptic 5-HT_{1A} receptors are found in brain regions related to mood, cognition, and memory [19]. Altered function of 5-HT_{1A} has been consistently implicated in anxiety, MDD and resistance to antidepressants [41]. According to Carr and Lucki [11], mice with a higher density of 5-HT_{1A} autoreceptors demonstrated enhanced response to stressors. A clinical study demonstrated a widespread reduction in the availability of 5-HT_{1A} receptors in patients with MDD [21]. In addition, it is suggested that synthetic compounds with antagonist activity for glucocorticoid receptors and agonist activity for 5-HT_{1A} receptors may prove better therapeutic agents for treating depression [30].

Results indicated the possible modulation of 5-HT_{2A} receptors by SeBZF3 since its antidepressant-like effect was impeded by ketanserin, a 5-HT_{2A/C} receptor antagonist. 5-HT_{2A} receptors are found predominantly in cortical areas [4]. The increase of 5-HT_{2A} receptor levels were reported in different brain regions of MDD patients [2, 45]. The blockade of 5-

HT_{2A} receptors also seems to improve the clinical effects of SSRIs [12] and reduction of density of 5-HT_{2A} receptors was already related to MDD symptom improvement by antidepressant medication [1, 11]. In contrast, potent antidepressant effect of hallucinogenic psilocybin (5-HT_{2A} agonist) is reported [28].

The 5-HT₃ receptors, ligand gated ion channels, are expressed in central regions which have significance in the vomiting reflex, perception of pain, the reward system, cognition, mood and anxiety control [5]. In our study, the 5-HT₃ antagonist ondansetron hampered the anti-immobility effects of SeBZF3 in the TST, suggesting its involvement in its antidepressant-like properties. Interestingly, Besckow et al. [3] suggested effects of another organoselenium on 5-HT₃ receptors. However, this receptor has not been suggested to be implicated in the antidepressant-like action of SeBZF1 [25].

Fluoxetine, a SSRI drug used in this study, acts by blocking the reuptake of 5-HT into presynaptic 5-HT neurons and has a mild activity at the 5-HT_{2A/C} receptors [52]. Thus, the effects of subeffective doses of fluoxetine and SeBZF3 were also checked employing the mouse TST, and a synergic action was found, suggesting that SeBZF3 could interact, at least partially, with the serotonergic system.

In silico studies were also employed aiming to predict possible interactions of the SeBZF3 with some serotonergic target proteins. Docking analyses identified SeBZF3 binding to amino acid residues (LEU229, LEU228, and VAL366) of 5-HT_{2A} receptors, which have been reported for 5-HT_{2A} structures in complexes with risperidone and zotepine [36]. Furthermore, the modulation of 5-HT_{2C} receptors may be therapeutic for neuropsychiatric disorders [24], and our data demonstrated crucial residues (TRP324, SER138, ILE142, PHE223, PHE327, PHE328, VAL135, ALA222, LEU209, and VAL215) directly and indirectly involved with the SeBZF3-5-HT_{2C} interaction. Besides, π - π interaction is a direct attractive non-covalent interaction between aromatic moieties previously described as a

salient function for the stability of proteins and drug intercalation [63]. According to the obtained scores for 5-HT₂ receptors, residues of the 5-HT_{2C} receptor showed to interact with SeBZF3 better (-8.6 kcal/mol) than those of 5-HT_{2A} (-7 kcal/mol).

In addition, we investigated the predict interaction with SERT protein, a member of the monoamine neurotransmitter sodium symporter (NSS) [22]. We found different sites (VAL501, TYR175, PHE335, THR497, ILE172, GLY442, and PHE341) for SeBZF3 binding to the SERT (-9.5 kcal/mol), which were also identified for interactions with recognized antidepressants such as paroxetine and citalopram [14, 18].

Parallel experiments were also designed to verify if the additional methoxyl group in the molecule could generate systemic toxicity. The findings showed that a high dose of SeBZF3 did not alter parameters generally sensible to hazardous chemicals as food intake and body weight. Certain chemical safety of SeBZF3 is also supposed from assessments of transaminase activities and urea levels since their elevation can denote hepatocellular [38] and kidney damage [37], respectively. A limitation to be pointed out is the use of only male animals in this study.

5. Conclusion

In summary, this study demonstrated that SeBZF3 elicits anxiolytic-like and antidepressant-like effects in male Swiss mice without causing oral acute toxicity. Behavioral studies indicated that serotonergic system modulation by SeBZF3 through interaction with 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A/C}, and 5-HT₃ receptors could represent an action mechanism involved in the antidepressant-like effect. The contribution of 5-HT_{2A/C} was reinforced by docking studies. *In silico* studies also pointed out possible interactions between SeBZF3 and SERT.

Conflicts of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES/PROAP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, grant numbers 438384/2018-0 and 420386/2018-1) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do RS (FAPERGS, grant numbers 21/2551-0000614-5 and 21/2551-0000728-1). Funding sources had no role in the design and conduct of the present research and preparation of the article.

Contributions and data availability statement

CFB and CAB conceptualized, designed, and validated the study. CFB and CAB were also responsible for funding acquisition, project administration, and supervision. CFB was involved in the request ethical approval. JSSN and ALB contributed to the work by synthesizing the SeBZF compounds. TSTR, EHR, and ETC conducted *in vivo* and *ex vivo* experiments. AGA conducted *in silico* molecular docking analysis. CFB and TSTR performed the statistical analyses. The paper was written by TSTR, EHR, ETC, AGA and CFB. DNS conducted content and grammar review and formatted the manuscript. CFB and CAB revised the final version of this paper. All authors contributed to and have approved the final manuscript. The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request. This article has supplementary material.

References

- [1]Amidfar M, Kim YK, Colic L, Arbabi M, Mobaraki G, Hassanzadeh G, et al. Increased levels of 5HT2A receptor mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells of patients with major depression: correlations with severity and duration of illness. *Nord J Psychiatry*. 2017;71:282-8. <https://doi.org/10.1080/08039488.2016.1276624>.
- [2]Anisman H, Du L, Palkovits M, Faludi G, Kovacs GG, Szontagh-Kishazi P, et al. Serotonin receptor subtype and p11 mRNA expression in stress-relevant brain regions of suicide and control subjects. *J Psychiatry Neurosci*. 2008;33:131-41.
- [3]Besckow EM, Nonemacher NT, Garcia CS, da Silva Espindola CN, Balbom EB, Gritzenko F, et al. Antidepressant-like effect of a selenopropargylic benzamide in mice: involvement of the serotonergic system. *Psychopharmacology (Berl)*. 2020;237:3149-59. <https://doi.org/10.1007/s00213-020-05600-1>.
- [4]Bhagwagar Z, Hinz R, Taylor M, Fancy S, Cowen P, Grasby P. Increased 5-HT(2A) receptor binding in euthymic, medication-free patients recovered from depression: a positron emission study with [(11)C]MDL 100,907. *Am J Psychiatry*. 2006;163:1580-7. <https://doi.org/10.1176/ajp.2006.163.9.1580>.
- [5]Bhatt S, Devadoss T, Manjula SN, Rajangam J. 5-HT3 receptor antagonism a potential therapeutic approach for the treatment of depression and other disorders. *Curr Neuropharmacol*. 2020. <https://doi.org/10.2174/1570159X18666201015155816>.
- [6]Blackburn TP. Depressive disorders: Treatment failures and poor prognosis over the last 50 years. *Pharmacol Res Perspect*. 2019;7:e00472. <https://doi.org/10.1002/prp2.472>.
- [7]Bockaert J, Becamel C, Chaumont-Dubel S, Claeysen S, Vandermoere F, Marin P. Novel and atypical pathways for serotonin signaling. *Fac Rev*. 2021;10:52. <https://doi.org/10.12703/r/10-52>.
- [8]Bourin M, Hascoet M. The mouse light/dark box test. *Eur J Pharmacol*. 2003;463:55-65. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(03\)01274-3](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(03)01274-3).
- [9]Bueno-Notivol J, Gracia-Garcia P, Olaya B, Lasheras I, Lopez-Anton R, Santabarbara J. Prevalence of depression during the COVID-19 outbreak: A meta-analysis of community-based studies. *Int J Clin Health Psychol*. 2021;21:100196. <https://doi.org/10.1016/j.ijchp.2020.07.007>.
- [10]Carhart-Harris RL, Nutt DJ. Serotonin and brain function: a tale of two receptors. *J Psychopharmacol*. 2017;31:1091-120. <https://doi.org/10.1177/0269881117725915>.
- [11]Carr GV, Lucki I. The role of serotonin receptor subtypes in treating depression: a review of animal studies. *Psychopharmacology (Berl)*. 2011;213:265-87. <https://doi.org/10.1007/s00213-010-2097-z>.
- [12]Celada P, Puig M, Amargos-Bosch M, Adell A, Artigas F. The therapeutic role of 5-HT1A and 5-HT2A receptors in depression. *J Psychiatry Neurosci*. 2004;29:252-65.
- [13]Chand K, Rajeshwari, Hiremathad A, Singh M, Santos MA, Keri RS. A review on antioxidant potential of bioactive heterocycle benzofuran: Natural and synthetic derivatives. *Pharmacol Rep*. 2017;69:281-95. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2016.11.007>.
- [14]Coleman JA, Green EM, Gouaux E. X-ray structures and mechanism of the human serotonin transporter. *Nature*. 2016;532:334-9. <https://doi.org/10.1038/nature17629>.
- [15]Crawley J, Goodwin FK. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacol Biochem Behav*. 1980;13:167-70. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(80\)90067-2](https://doi.org/10.1016/0091-3057(80)90067-2).

- [16]Cryan JF, Mombereau C, Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neurosci Biobehav Rev.* 2005;29:571-625. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.03.009>.
- [17]Czaderny K. Risk factors for depression. New evidence on selenium deficiency and depressive disorders. *Psychiatr Pol.* 2020;54:1109-21. <https://doi.org/10.12740/PP/112967>.
- [18]Davis BA, Nagarajan A, Forrest LR, Singh SK. Mechanism of Paroxetine (Paxil) Inhibition of the Serotonin Transporter. *Sci Rep.* 2016;6:23789. <https://doi.org/10.1038/srep23789>.
- [19]dos Santos MA, Vasconcelos GS, de Sousa CNS, Macedo D, Vasconcelos SMM. Chapter 6 - Consequences of Ethanol Exposure on Neurodevelopment. In: Preedy VR, editor. *Neuroscience of Alcohol. Mechanisms and Treatment*: Academic Press; 2019. p. 47-55.
- [20]El Mansari M, Crnic A, Oosterhof C, Blier P. Long-term administration of the antidepressant vilazodone modulates rat brain monoaminergic systems. *Neuropharmacology.* 2015;99:696-704. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.09.007>.
- [21]Fournier M, Gireau A, Boniface B, Ghevaert C, Lepelley P, Zandecki M, et al. [Evaluation of Abbott CD 3500 in severe leukopenia]. *Nouv Rev Fr Hematol.* 1994;36 Suppl 2:S117-21.
- [22]Gabrielsen M, Kurczab R, Ravna AW, Kufareva I, Abagyan R, Chilmonczyk Z, et al. Molecular mechanism of serotonin transporter inhibition elucidated by a new flexible docking protocol. *Eur J Med Chem.* 2012;47:24-37. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.09.056>.
- [23]Gai BM, Bortolatto CF, Heck SO, Stein AL, Duarte MM, Zeni G, et al. An organoselenium compound improves behavioral, endocrinal and neurochemical changes induced by corticosterone in mice. *Psychopharmacology (Berl).* 2014;231:2119-30. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3361-9>.
- [24]Galeazzi R, Massaccesi L, Piva F, Principato G, Laudadio E. Insights into the influence of 5-HT_{2c} aminoacidic variants with the inhibitory action of serotonin inverse agonists and antagonists. *J Mol Model.* 2014;20:2120. <https://doi.org/10.1007/s00894-014-2120-0>.
- [25]Gall JJ, Goncalves Alves A, Carraro Junior LR, da Silva Teixeira Rech T, Dos Santos Neto JS, Alves D, et al. Insights into serotonergic and antioxidant mechanisms involved in antidepressant-like action of 2-phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2020;102:109956. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.109956>.
- [26]Gay RM, Manarin F, Schneider CC, Barancelli DA, Costa MD, Zeni G. FeCl₃-Diorganyl dichalcogenides promoted cyclization of 2-alkynylanisoles to 3-chalcogen benzo[b]furans. *J Org Chem.* 2010;75:5701-6. <https://doi.org/10.1021/jo101126q>.
- [27]Goyal D, Kaur A, Goyal B. Benzofuran and Indole: Promising Scaffolds for Drug Development in Alzheimer's Disease. *ChemMedChem.* 2018;13:1275-99. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201800156>.
- [28]Grandjean J, Buehlmann D, Buerge M, Sigrist H, Seifritz E, Vollenweider FX, et al. Psilocybin exerts distinct effects on resting state networks associated with serotonin and dopamine in mice. *Neuroimage.* 2021;225:117456. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.117456>.
- [29]Gresch PJ, Kitanda V. Serotonin Receptor Signaling. Reference Module in Life Sciences 2021.
- [30]Haleem DJ. Glucocorticoids in the Physiological and Transcriptional Regulation of 5-HT_{1A} Receptor and the Pathogenesis of Depression. *Neuroscientist.* 2020;1073858420975711. <https://doi.org/10.1177/1073858420975711>.
- [31]Hillhouse TM, Porter JH. A brief history of the development of antidepressant drugs: from monoamines to glutamate. *Exp Clin Psychopharmacol.* 2015;23:1-21. <https://doi.org/10.1037/a0038550>.
- [32]Hoffman KL. 2 - What can animal models tell us about depressive disorders? Woodhead Publishing: Elsevier 2016.

- [33]Jesse CR, Wilhelm EA, Bortolatto CF, Nogueira CW. Evidence for the involvement of the noradrenergic system, dopaminergic and imidazoline receptors in the antidepressant-like effect of tramadol in mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 2010;95:344-50. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2010.02.011>.
- [34]Jiang SH, Wang YH, Hu LP, Wang X, Li J, Zhang XL, et al. The physiology, pathology and potential therapeutic application of serotonylation. *J Cell Sci.* 2021;134. <https://doi.org/10.1242/jcs.257337>.
- [35]Kedzierska E, Dabkowska L, Obierzynski P, Polakowska M, Poleszak E, Wlaziński P, et al. Synergistic Action of Sodium Selenite with some Antidepressants and Diazepam in Mice. *Pharmaceutics.* 2018;10. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10040270>.
- [36]Kimura KT, Asada H, Inoue A, Kadji FMN, Im D, Mori C, et al. Structures of the 5-HT_{2A} receptor in complex with the antipsychotics risperidone and zotepine. *Nat Struct Mol Biol.* 2019;26:121-8. <https://doi.org/10.1038/s41594-018-0180-z>.
- [37]Kovalcikova AG, Pavlov K, Liptak R, Hladova M, Renczes E, Boor P, et al. Dynamics of salivary markers of kidney functions in acute and chronic kidney diseases. *Sci Rep.* 2020;10:21260. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78209-1>.
- [38]Lala V, Goyal A, Bansal P, Minter DA. Liver Function Tests. *StatPearls.* Treasure Island (FL)2021.
- [39]Liu W, Wang H, Li X, Xu Y, Zhang J, Wang W, et al. Design, synthesis and evaluation of vilazodone-tacrine hybrids as multitarget-directed ligands against depression with cognitive impairment. *Bioorg Med Chem.* 2018;26:3117-25. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.04.037>.
- [40]Marasine NR, Sankhi S, Lamichhane R, Marasini NR, Dangi NB. Use of Antidepressants among Patients Diagnosed with Depression: A Scoping Review. *Biomed Res Int.* 2021;2021:6699028. <https://doi.org/10.1155/2021/6699028>.
- [41]Martin V, Mathieu L, Diaz J, Salman H, Alterio J, Chevarin C, et al. Key role of the 5-HT_{1A} receptor addressing protein Yif1B in serotonin neurotransmission and SSRI treatment. *J Psychiatry Neurosci.* 2020;45:344-55. <https://doi.org/10.1503/jpn.190134>.
- [42]Morris GM, Huey R, Olson AJ. Using AutoDock for ligand-receptor docking. *Curr Protoc Bioinformatics.* 2008;Chapter 8:Unit 8 14. <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi0814s24>.
- [43]Nogueira CW, Barbosa NV, Rocha JBT. Toxicology and pharmacology of synthetic organoselenium compounds: an update. *Arch Toxicol.* 2021;95:1179-226. <https://doi.org/10.1007/s00204-021-03003-5>.
- [44]Overland S, Woicik W, Sikora L, Whittaker K, Heli H, Skjelkvale FS, et al. Seasonality and symptoms of depression: A systematic review of the literature. *Epidemiol Psychiatr Sci.* 2019;29:e31. <https://doi.org/10.1017/S2045796019000209>.
- [45]Pandey GN, Dwivedi Y, Rizavi HS, Ren X, Pandey SC, Pesold C, et al. Higher expression of serotonin 5-HT_{2A} receptors in the postmortem brains of teenage suicide victims. *Am J Psychiatry.* 2002;159:419-29. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.159.3.419>.
- [46]Pitsillou E, Bresnahan SM, Kagarakis EA, Wijoyo SJ, Liang J, Hung A, et al. The cellular and molecular basis of major depressive disorder: towards a unified model for understanding clinical depression. *Mol Biol Rep.* 2020;47:753-70. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05129-3>.
- [47]Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature.* 1977;266:730-2. <https://doi.org/10.1038/266730a0>.
- [48]Protti M, Mandrioli R, Marasca C, Cavalli A, Serretti A, Mercolini L. New-generation, non-SSRI antidepressants: Drug-drug interactions and therapeutic drug monitoring. Part 2: NaSSAs, NRIs,

SNDRI, MASSA, NDRI, and others. *Med Res Rev.* 2020;40:1794-832. <https://doi.org/10.1002/med.21671>.

[49]Rappe AK, Casewit CJ, Colwell KS, Goddard III WA, Skiff WM. UFF, a full periodic table force field for molecular mechanics and molecular dynamics simulations. 1992. <https://doi.org/10.1021/ja00051a040>.

[50]Rech TST, Alves AG, Strelow DN, Kruger LD, Carraro Junior LR, Santos Neto JS, et al. 2-Phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran elicits acute antidepressant-like action in male Swiss mice mediated by modulation of the dopaminergic system and reveals therapeutic efficacy in both sexes. *Psychopharmacology (Berl)*. 2021. <https://doi.org/10.1007/s00213-021-05921-9>.

[51]Seeliger D, de Groot BL. Ligand docking and binding site analysis with PyMOL and Autodock/Vina. *J Comput Aided Mol Des.* 2010;24:417-22. <https://doi.org/10.1007/s10822-010-9352-6>.

[52]Sohel AJ, Shutter MC, Molla M. Fluoxetine. *StatPearls*. Treasure Island (FL)2021.

[53]Solovyev ND. Importance of selenium and selenoprotein for brain function: From antioxidant protection to neuronal signalling. *J Inorg Biochem.* 2015;153:1-12. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.09.003>.

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

[55]Sullivan GM, Feinn R. Using Effect Size-or Why the P Value Is Not Enough. *J Grad Med Educ.* 2012;4:279-82. <https://doi.org/10.4300/JGME-D-12-00156.1>.

[56]Takao Y, Figueroa E, Berna KFJ, Jo Y, Kissane LA, Yoshimura K, et al. Validation of a novel online depression symptom severity rating scale: the R8 Depression. *Health Qual Life Outcomes.* 2021. <https://doi.org/10.1186/s12955-020-01654-z>.

[57]Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem.* 2010;31:455-61. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>.

[58]Walsh RN, Cummins RA. The Open-Field Test: a critical review. *Psychol Bull.* 1976;83:482-504.

[59]Wang J, Um P, Dickerman BA, Liu J. Zinc, Magnesium, Selenium and Depression: A Review of the Evidence, Potential Mechanisms and Implications. *Nutrients.* 2018;10. <https://doi.org/10.3390/nu10050584>.

[60]Wang YQ, Lin WW, Wu N, Wang SY, Chen MZ, Lin ZH, et al. Structural insight into the serotonin (5-HT) receptor family by molecular docking, molecular dynamics simulation and systems pharmacology analysis. *Acta Pharmacol Sin.* 2019;40:1138-56. <https://doi.org/10.1038/s41401-019-0217-9>.

[61]Yohn CN, Gergues MM, Samuels BA. The role of 5-HT receptors in depression. *Mol Brain.* 2017;10:28. <https://doi.org/10.1186/s13041-017-0306-y>.

[62]Yu-hang MY-h, H.; Jie Y; Teng L.; Jie S.; Xiao-Jing, W. Natural source, bioactivity and synthesis of benzofuran derivatives. 2019. <https://doi.org/10.1039/C9RA04917G>.

[63]Zhao Y, Li J, Gu H, Wei D, Xu YC, Fu W, et al. Conformational Preferences of pi-pi Stacking Between Ligand and Protein, Analysis Derived from Crystal Structure Data Geometric Preference of pi-pi Interaction. *Interdiscip Sci.* 2015;7:211-20. <https://doi.org/10.1007/s12539-015-0263-z>.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Antidepressant and anxiolytic-like potential of a functionalized 3-selanyl benzo[b]furan compound in mice: focus on the serotonergic system

Taís da Silva Teixeira Rech^a, Estela Harwig Ribeiro^a, Ediana Tissot Castro^a, Amália Gonçalves Alves^a, Dianer Nornberg Strelow^a, José Sebastião dos Santos Neto^b, Antonio Luiz Braga^b, César Augusto Brüning^{a*}, Cristiani Folharini Bortolatto^{a*}

^aPrograma de Pós-graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM), Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia (GPN), Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), Universidade Federal de Pelotas (UFPel), CEP 96010-900, Pelotas, RS, Brasil.

^bPrograma de Pós-graduação em Química (PPGQ), Laboratório de Síntese de Derivados de Selênio e Telúrio (LabSelen), Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, CEP 88040-900, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

This supplementary material contains two figures illustrating the chemical structures of 3-selanyl benzo[b]furan compounds (SeBZF1-5) (Figure 1S) and results of the acute oral toxicity assay (Figure 2S), and six tables (Tables S1-6) representing the locomotor activity in the mouse OFT of different sets of experiments.

***Address for correspondence**

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

César Augusto Brüning - Post-Graduation Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Center of Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel), Capão do Leão Campus, Pelotas, RS, 96010-900, Brazil. Phone: 55-53-32757355. ORCID: 0000-0003-0814-0203. Electronic address: cabruning@yahoo.com.br

SUPPLEMENTARY MATERIAL

SUPPLEMENTARY FIGURES

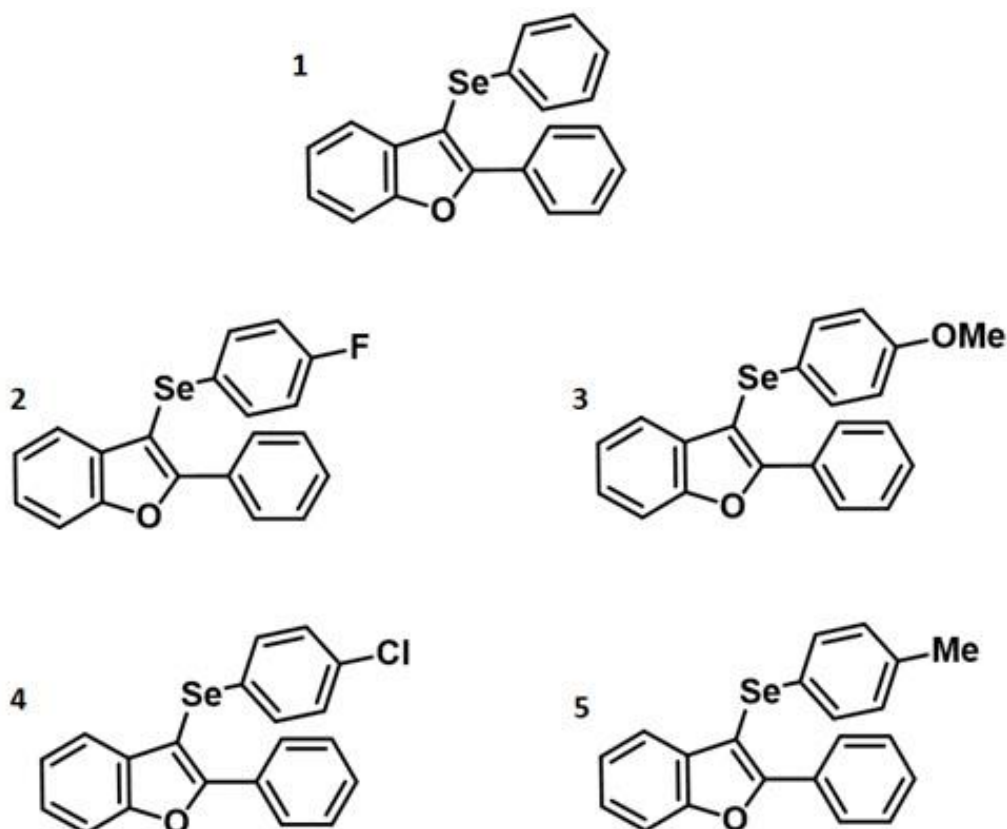


Figure S1. Chemical structures of 3-selanyl-benzo[*b*]furan compounds (SeBZF1-5) named 2-phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran (SeBZF1), 3-((4-fluorophenyl)selanyl)-2-phenylbenzofuran (SeBZF2), 3-((4-methoxyphenyl)selanyl)-2-phenylbenzofuran (SeBZF3), 3-((4-chlorophenyl)selanyl)-2-phenylbenzofuran (SeBZF4) and 2-phenyl-3-(4-tolylselanyl)benzofuran (SeBZF5).

SUPPLEMENTARY MATERIAL

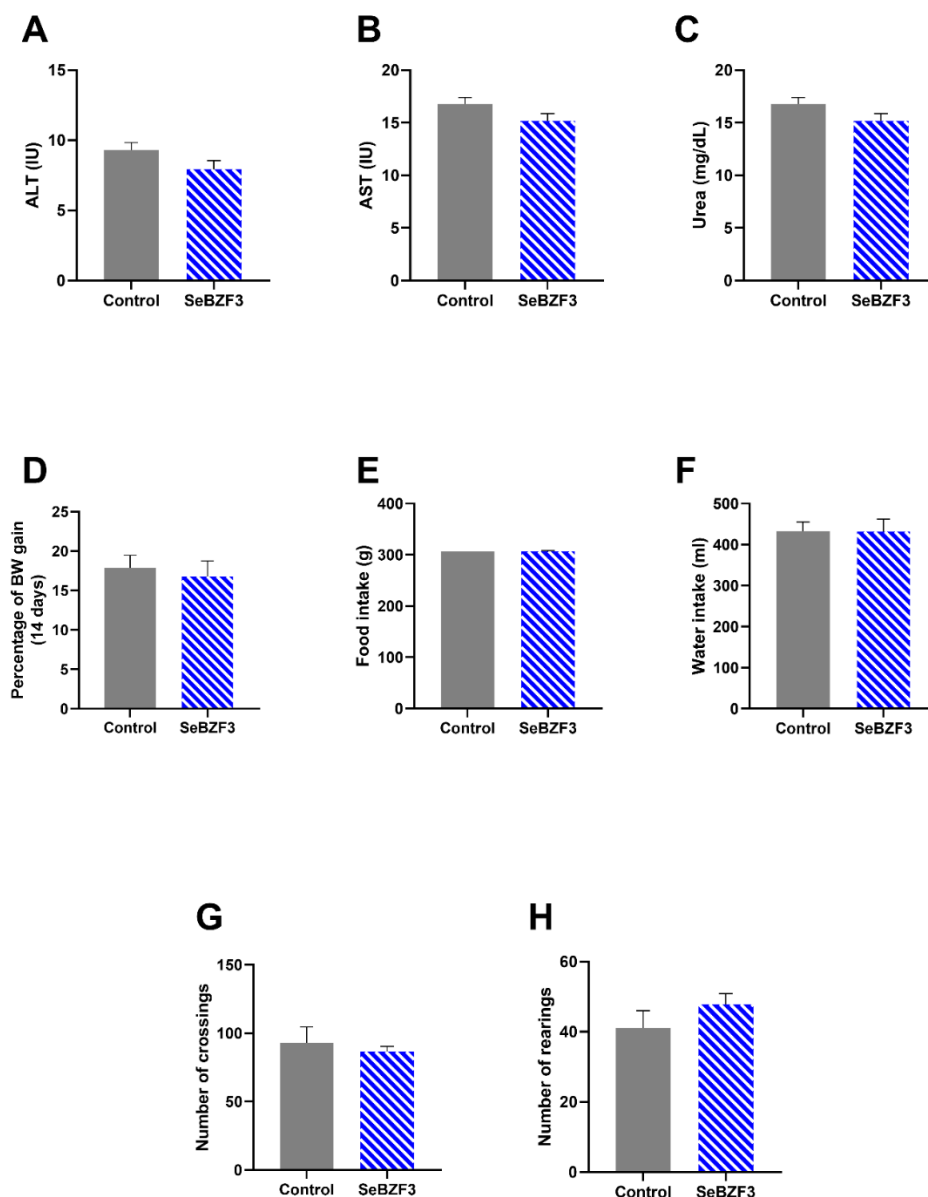


Fig. S2. Effect of the treatment with a high dose of SeBZF3 (300 mg/kg, i.g.) on parameters of systemic toxicity in mice. **(A)** Plasma ALT activity, **(B)** AST activity, and **(C)** urea levels. **(D)** percentage of body weight variation, **(E)** amount of food ingested, and **(F)** water consumption during 14 days. **(G)** locomotor and **(H)** exploratory activity in the OFT. Unpaired t-test was used to individually compare the columns of each experiment. Data were expressed as mean $\pm$ S.E.M. N= 6 male mice/group.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

SUPPLEMENTARY TABLES

Table S1. Locomotor and exploratory activities of mice treated with SeBZF1-5 (50 mg/kg, i.g.) or diazepam (1 mg/kg; i.p.) in the OFT that preceded SeBZF screening in the LDT and TST.

Treatment	Groups	Number of crossings	Number of
Canola oil	Control	84.67 ± 12.55	32.67 ± 7.67
SeBZF1-5	SeBZF1	83.13 ± 8.27	33.63 ± 5.73
	SeBZF2	77.78 ± 9.04	37.56 ± 6.34
	SeBZF3	75.33 ± 7.57	37.00 ± 4.54
	SeBZF4	78.00 ± 6.89	36.78 ± 9.06
	SeBZF5	83.13 ± 12.02	38.75 ± 6.47
Positive control	Diazepam	94.44 ± 9.29	30.33 ± 6.60

The results represent the means ± S.E.M. of 8-9 mice/group. Data analyses were carried out by the one-way ANOVA test.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S2. Locomotor and exploratory activities of mice treated with SeBZF3 (1-50 mg/kg, i.g.) or fluoxetine (20 mg/kg, i.p.) in the OFT that preceded a dose-response curve in the LDT and TST.

Treatment protocol	Groups	Number of crossings	Number of rearings
Canola oil	Control	61.00 ± 6.22	44.70 ± 3.31
SeBZF3	1 mg/kg	66.00 ± 7.21	43.56 ± 5.84
	5 mg/kg	66.20 ± 5.70	46.67 ± 5.86
	25 mg/kg	58.44 ± 4.35	36.80 ± 4.84
	50 mg/kg	59.70 ± 3.06	40.40 ± 2.87
Positive control	Fluoxetine	63.25 ± 8.15	42.29 ± 3.22

The results represent the means ± S.E.M. of 8-9 mice/group. Data analyses were carried out by the one-way ANOVA test.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S3. Locomotor and exploratory activities of mice treated with SeBZF3 (5-50 mg/kg, i.g.) or fluoxetine (20 mg/kg, i.p.) in the OFT that preceded a dose-response curve in the FST.

Treatment protocol	Groups	Number of crossings	Number of rearings
Canola oil	Control	71.38 ± 6.88	35.50 ± 4.80
SeBZF3	5 mg/kg	78.38 ± 6.32	39.50 ± 4.30
	25 mg/kg	77.88 ± 7.33	44.00 ± 4.11
	50 mg/kg	65.50 ± 7.96	38.63 ± 3.74
Positive control	Fluoxetine	95.71 ± 8.78	47.29 ± 3.00

The results represent the means ± S.E.M. of 7-8 mice/group. Data analyses were carried out by the one-way ANOVA test.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S4. Locomotor and exploratory activities of male mice treated with SeBZF3 (50 mg/kg, i.g.) in the OFT that preceded a time-response curve in the TST.

Treatment protocol	Groups	Number of crossings	Number of rearings
Canola oil	Control	96.13 $\pm$ 6.88	49.38 $\pm$ 2.88
SeBZF3	15 min	76.00 $\pm$ 6.32	39.67 $\pm$ 3.36
	30 min	85.25 $\pm$ 7.33	47.00 $\pm$ 3.26
	60 min	86.00 $\pm$ 7.96	46.50 $\pm$ 4.62
	120 min	93.13 $\pm$ 7.96	49.29 $\pm$ 2.54
	240 min	77.38 $\pm$ 5.77	38.50 $\pm$ 4.40

The results represent the means $\pm$ S.E.M. of 7-8 mice/group. Data analyses were carried out by the one-way ANOVA test.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S5. Locomotor and exploratory activities of mice treated with SeBZF3 and serotonergic antagonists in the OFT.

Treatment	Groups	Number of crossings	Number of
WAY100635	Control	69.14 ± 6.24	27.14 ± 5.36
	WAY100635	77.57 ± 6.13	41.00 ± 3.57
	SeBZF3 50 mg/kg	67.78 ± 3.01	31.11 ± 2.63
	WAY100635 + SeBZF3	76.00 ± 6.78	39.75 ± 2.41
Ketanserin	Control	79.88 ± 5.28	27.00 ± 3.55
	Ketanserin	54.29 ± 6.60*	17.50 ± 3.92
	SeBZF3 50 mg/kg	67.50 ± 3.74	33.00 ± 2.44
	Ketanserin + SeBZF3	65.57 ± 8.64	35.43 ± 6.39
Ondansetron	Control	94.44 ± 5.85	41.22 ± 4.32
	Ondansetron	80.22 ± 4.67	35.00 ± 2.85
	SeBZF3 50 mg/kg	94.25 ± 7.63	41.38 ± 3.76
	Ondansetron + SeBZF3	76.00 ± 5.58	37.22 ± 4.37

The results represent the means ± S.E.M. of 7-9 mice/group. Data analyses were carried out by the two-way ANOVA test. *p< 0.05 as compared with the control group (Tukey multiple comparisons test).

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S6. Locomotor and exploratory activities of male mice treated with subeffective doses of SeBZF3 and/or fluoxetine in the OFT.

Groups	Number of crossings	Number of rearings
Control	72.75 ± 5.059	29.38 ± 4.192
Fluoxetine 5 mg/kg	84.56 ± 12.02	29.11 ± 3.331
SeBZF3 1 mg/kg	83.44 ± 6.464	29.11 ± 2.741
Fluoxetine + SeBZF3	93.78 ± 5.469	41.67 ± 3.555

The results represent the means ± S.E.M. of 8-9 mice/group. Data analyses were carried out by the one-way ANOVA test.

5. Discussão

Nosso grupo de pesquisa tem procurado explorar o potencial psicoterapêutico de compostos SeBZF e sua relativa segurança em camundongos. Além disso, esforços têm sido voltados à compreensão dos possíveis mecanismos de ação relacionados aos seus efeitos farmacológicos. No presente estudo, o composto SeBZF3, o qual recebeu a inserção do grupo substituinte metóxi, se destacou dentro de sua classe, apresentando efeito do tipo ansiolítico e ação do tipo antidepressiva. O uso de ferramentas comportamentais farmacológicas bem como estudo de docagem molecular, utilizada para prever as principais interações realizadas nos complexos receptor-ligante formados, sugere que a ação do tipo antidepressiva do composto seja mediada por possíveis interações com o sistema monoaminérgico, em especial o serotoninérgico. Em um estudo anterior identificamos o potencial antidepressivo do SeBZF1 (protótipo da classe). Além disso, os cinco compostos da classe (SeBZF1-5) exibiram capacidade antioxidante cerebral *in vitro* (GALL *et al.*, 2020).

Inicialmente, fizemos um estudo preliminar com os compostos sintéticos da classe para avaliar o comportamento do tipo depressivo e ansiolítico, usando o SeBZF1 como comparativo. Diferentemente do SeBZF1, dados do TCE mostraram um efeito do tipo ansiolítico do SeBZF3 na maior dose (50 mg/kg). Este teste baseia-se na aversão natural dos roedores noturnos, como os camundongos, por ambientes claros ou iluminados bem como na tendência natural em explorar novos ambientes e este tempo maior de permanência na parte clara do aparato é tido como um comportamento do tipo ansiolítico, este paradigma comportamental pode ser utilizado para testar os ansiolíticos clássicos, como por exemplo os benzodiazepínicos, bem como outros compostos candidatos a ansiolíticos (ALONSO, *et al.*, 2020; SAAVEDRA, *et al.*, 2020).

TNF e TSC foram executados para avaliar o potencial do tipo antidepressivo dos compostos substituídos em relação ao protótipo da classe. Estes testes preliminares são normalmente utilizados nos estudos pré-clínicos, para verificar a eficácia dos candidatos a medicamentos antidepressivos em animais porque permite uma detecção de substâncias com potencial antidepressivo, evidenciado como uma duração reduzida de imobilidade que é produzida pela

maioria dos antidepressivos clinicamente utilizados (RASTI *et al.*, 2020; KOEK *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2020). Os compostos SeBFZ3 e SeBFZ4 reduziram acentuadamente o tempo de imobilidade total no TSC, sugerindo seu potencial como antidepressivo. Os resultados foram validados por controle positivo (fluoxetina) e ausência de viés psicoestimulante no TCA. Este teste experimental é uma ferramenta útil para avaliar os níveis gerais de atividade locomotora dos animais (ALONSO *et al.*, 2020).

A literatura mostra que os compostos com núcleo benzofurano apresentam uma ampla gama de potenciais terapêuticos, incluindo propriedades antidepressivas, e têm atraído a atenção dos pesquisadores (CHAND *et al.*, 2017). Vilazodona, um ISRS e agonista parcial 5-HT_{1A}, é um antidepressivo de referência contendo núcleo benzofurano em sua estrutura química (STUIVENGA *et al.*, 2019). Ademais, a ação sinérgica do Se com alguns antidepressivos e diazepam (medicamento ansiolítico) já é relatado em camundongos (KEDZIERSKA *et al.*, 2018). Ações do tipo ansiolítica e antidepressiva foram descritas para vários compostos de organosselênio (NOGUEIRA *et al.*, 2021), incluindo SeBZF1 que contém núcleo de benzofurano e Se em sua estrutura (GALL *et al.*, 2020).

Devido ao composto SeBZF3 apresentar um efeito de maior magnitude na ação do tipo antidepressiva no TSC, ele foi escolhido entre os compostos da classe SeBZF para dar sequência aos estudos. Para este efeito, foi feita uma curva dose-resposta e foram testadas concentrações de 1- 50 mg/kg em camundongos machos. Os dados revelaram que o SeBFZ3 exerce efeitos semelhantes aos antidepressivos no TSC (5-50 mg/kg) e TNF (50 mg/kg). Além disso, o SeBZF3 parece produzir efeitos mais duradouros do que o SeBZF1. Os paradigmas do TNF e do TSC medem a estratégia de resposta comportamental de um animal a uma ostensiva extremamente estressante (situação inevitável) (HOFFMAN, 2016), e uma leitura de imobilidade estável que pode ser revertida por pré-tratamento agudo com um agente antidepressivo (CRYAN *et al.*, 2005). A necessidade de uma dose maior de SeBFZ3 (50 mg/kg) para produzir eficácia no TNF, se comparada com o TSC (5 mg/kg) pode estar relacionado a algumas diferenças entre esses testes. O TNF não tem sido tradicionalmente visto como um modelo sensível para a detecção da atividade de ISRS em camundongos enquanto que o TSC exhibe aparente aumento

desta sensibilidade (CRYAN *et al.*, 2005), justificando o emprego do TSC para estudos sobre mecanismos serotoninérgicos.

Estudos recentes sugerem que a ação antidepressiva dos compostos à base de Se pode ser mediada pela interação com receptores de 5-HT (BESCKOW *et al.*, 2020; GALL *et al.*, 2020; NOGUEIRA *et al.*, 2021). Drogas antidepressivas que atuam por mecanismos serotoninérgicos como os ISRSs, são uma classe comum de medicamentos prescritos tanto para a ansiedade quanto para depressão, e exercem a sua ação farmacológica regulando os níveis de 5-HT e facilitando sua neurotransmissão (PROTTI *et al.*, 2020; ZHOU *et al.*, 2020). Pacientes com depressão apresentam baixos níveis de 5-HT. A fluoxetina, usada neste trabalho como controle positivo, exerce os seus efeitos ao bloquear a recaptação de 5-HT em neurônios pré-sinápticos e tem uma pequena atividade nos receptores 5HT_{2A/C} (SOHEL *et al.*, 2021). O nosso grupo de pesquisa, investigou a hipótese de obter efeitos comportamentais do tipo antidepressivo com a combinação da administração de doses subefetivas de fluoxetina e SeBZF3 em camundongos machos. Como resultado, encontramos um efeito sinérgico, evidenciado pela redução no tempo de imobilidade dos animais no TSC, sem alterar a atividade locomotora. Sugerindo que o SeBZF3 poderia interagir, pelo menos parcialmente, com o sistema serotoninérgico.

Sabemos que o composto SeBZF1 apresenta um efeito do tipo antidepressivo agudo em camundongos Swiss machos e fêmeas, e a contribuição de mecanismos serotoninérgicos e dopaminérgicos já foi estudada (GALL *et al.*, 2020; RECH *et al.*, 2021). Para esclarecer a hipótese do envolvimento do sistema serotoninérgico na ação do tipo antidepressiva do SeBZF3, foi realizado uma série de experimentos com antagonistas serotoninérgicos. Os nossos resultados mostraram que o pré-tratamento de animais machos com WAY100635 (antagonista seletivo do receptor 5-HT_{1A}), cetanserina (antagonista do receptor 5-HT_{2A/C}), e ondansetron (antagonista dos receptores 5-HT₃) bloqueou a ação do tipo antidepressiva do SeBZF3, sugerindo que o seu mecanismo de ação pode ser relacionado com a modulação dos receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A/C} e 5-HT₃.

A 5-HT pode ser produzida tanto central quanto periféricamente (GRESCH; KITAINDA, 2021) e se liga a receptores estruturalmente e farmacologicamente

distintos, de modo que a disfunção e a regulação destes receptores estão implicadas em vários distúrbios (JIANG *et al.*, 2021). Com exceção do 5-HT₃, ionotrópico, o restante dos receptores 5-HT são metabotrópicos acoplados à proteína G, que realizam a transdução de sinal de moléculas extracelulares de sinalização, incluindo hormônios, neurotransmissores e neuromoduladores (GRESCH; KITAINDA, 2021). Considerando a complexidade inerente a este sistema neuroquímico, uma estratégia para compreender o seu funcionamento é focar em um número selecionado de subtipos de receptores que foram particularmente bem caracterizados. Nesse sentido, os receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{2A/C} são os mais prevalentes receptores cerebrais pesquisados (CARHART-HARRIS; NUTT, 2017).

A modulação do receptor 5-HT_{1A} poderia estar relacionada com a ação antidepressiva do tratamento com SeBZF3, visto que os efeitos anti-imobilidade no TSC foram bloqueados pelo antagonista 5-HT_{1A} (WAY100635). Os receptores 5-HT_{1A} são um subtipo localizado nas membranas pré-sinápticas (autoreceptores no núcleo mediano da rafe) e membranas pós-sinápticas (heteroreceptores em áreas de projeção) (YOHN *et al.*, 2017). Os receptores pós-sinápticos 5-HT_{1A} são encontrados em regiões do cérebro relacionadas com o humor, cognição e memória (DOS SANTOS *et al.*, 2019). A função alterada do receptor 5-HT_{1A} tem sido demonstrada nos distúrbios de ansiedade, na MDD e na resistência aos antidepressivos (MARTIN *et al.*, 2020). Segundo Carr e Lucki (2011), camundongos com expressão maior de autoreceptores 5-HT_{1A} demonstraram melhor resposta aos fatores de estresse. Um estudo clínico demonstrou uma redução generalizada na disponibilidade de receptores 5-HT_{1A} em pacientes com MDD (FOURNIER *et al.*, 1994).

Os resultados obtidos no TSC também sugerem a modulação do receptor 5-HT_{2A/C} pelo SeBZF3, uma vez que seu efeito do tipo antidepressivo foi bloqueado pela administração de cetanserina (antagonista do receptor 5-HT_{2A/C}). Os receptores 5-HT_{2A} são encontrados predominantemente em áreas corticais (BHAGWAGAR *et al.*, 2006). O aumento dos níveis dos receptores de 5-HT_{2A} foi reportado em diferentes regiões cerebrais de pacientes com MDD (ANISMAN *et al.*, 2008; PANDEY *et al.*, 2002). O bloqueio deste receptor parece melhorar os efeitos clínicos dos ISRSs (CELADA *et al.*, 2004). Em contrapartida, foi relatado um efeito

antidepressivo após administração de um agonista deste receptor: psilocibina (um alcaloide com estrutura análoga a da 5-HT que possui atividade alucinógena, sendo encontrada em determinadas espécies de cogumelos) (GRANDJEAN *et al.*, 2021). Os receptores 5-HT_{2C} são amplamente expressos em neurônios e astrócitos no SNC. A diminuição da secreção de ATP dos astrócitos pode induzir comportamentos do tipo depressivo em camundongos, e o bloqueio deste receptor também parece melhorar os efeitos clínicos dos ISRSs, como por exemplo a fluoxetina (LI *et al.*, 2020).

Os receptores 5-HT₃ são bem conhecidos por serem expressos no SNC em regiões que têm significância no reflexo do vômito, percepção da dor, sistema de recompensa, cognição, depressão e ansiedade (BHATT *et al.*, 2020). Estes receptores são ionotrópicos, ou seja, eles formam um poro seletivo de íons que abre após ativação do receptor por 5-HT, permitindo a entrada de cátions na célula e a despolarização neuronal, produzindo uma resposta excitatória rápida (MORRINSON *et al.*, 2015). No nosso estudo, o antagonista deste receptor, ondansetron, diminuiu os efeitos anti-imobilidade do SeBZF3 no TSC. No entanto, o envolvimento do receptor 5-HT₃ na ação do tipo antidepressiva do SeBZF1 não foi observado (GALL *et al.*, 2020).

Também realizamos estudos *in silico* com o objetivo de prever as interações entre o SeBZF3 com algumas proteínas alvo serotoninérgicas. O teste de docagem molecular permite prever as principais interações realizadas nos complexos receptor-ligante formados (JÚNIOR; ARLAN, 2019). As interações foram encontradas entre SeBZF3 e os resíduos dos aminoácidos LEU229, LEU228 e VAL366 dos receptores 5-HT_{2A}. Além disso, modulações nos receptores 5-HT_{2C} parecem estar envolvidas no tratamento de desordens neuropsiquiátricas (GALEAZZI *et al.*, 2014) e os nossos dados revelaram interações entre os resíduos de aminoácidos TRP324, SER138, ILE142, PHE223, PHE327, PHE328, VAL135, ALA222, LEU209 e VAL215 que estão direta ou indiretamente envolvidos com a interação SeBZF3-5-HT_{2C}. De acordo com o escore obtido para os receptores 5-HT₂, resíduos de 5-HT_{2C} mostraram melhor interação com SeBZF3 (-8.6 kcal/mol) do que o 5-HT_{2A} (-7 kcal/mol).

Além disso, investigamos a ação do SERT que tem um importante papel na sinalização da 5-HT (GABRIELSEN *et al.*, 2012). Encontramos sítios diferentes de interação entre SeBZF3 e SERT (VAL501, TYR175, PHE335, THR497, ILE172, GLY442 e PHE341) com um ΔG de -9,5 kcal/mol, que também foram identificados para interações com antidepressivos conhecidos, tais como a paroxetina e citalopram (COLEMAN *et al.*, 2016; DAVIS *et al.*, 2016). Embora mais estudos sejam necessários para demonstrar essa possível ligação entre SERT e SeBZF3, estes achados nos motivam a continuar a pesquisa acerca da ação psicofarmacológica deste composto. Cabe ressaltar que os testes foram realizados somente em camundongos machos, sendo necessário testes em fêmeas para comparar os resultados.

No ensaio de toxicidade oral aguda, em que os camundongos foram expostos a uma alta dose do SeBZF3 (300 mg/kg), não foram identificadas alterações sobre o peso corporal, consumo de água e comida, nem outros efeitos colaterais que costumam ser detectados em casos de exposição a drogas potencialmente tóxicas. Esse ensaio foi realizado para verificar se a adição do grupo metóxi à molécula poderia gerar toxicidade sistêmica. Além disso, foram avaliadas a atividade das transaminases e dos níveis de ureia plasmáticos. As enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) estão presentes principalmente no fígado e as elevações em suas concentrações plasmáticas denotam uma doença hepatocelular (LALA *et al.*, 2021). Os níveis de ureia são considerados marcadores da função renal. Quando existe um funcionamento inadequado dos rins e a sua capacidade de filtrar o sangue está comprometida, os níveis desta substância estão elevados no sangue (KOVALČÍKOVÁ *et al.*, 2020). Não se verificaram alterações nos parâmetros bioquímicos avaliados, apontando para uma baixa toxicidade potencial do SeBZF3.

6. Conclusão

Com base nos testes realizados, foi possível verificar que o composto SeBZF3 apresentou melhores resultados do que o protótipo da classe (SeBZF1). O SeBZF3 demonstrou ter ação do tipo ansiolítica e do tipo antidepressiva aguda em camundongos *Swiss* machos. O bloqueio deste efeito pela administração de WAY100635, cetanserina e ondansetron (antagonistas dos receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A/2C} e 5-HT₃ respectivamente), sugerem um possível envolvimento do sistema serotoninérgico no mecanismo de ação do SeBZF3. Isto também ficou sugerido com a administração conjunta de doses subefetivas de SeBZF3 e fluoxetina, uma vez que o efeito do tipo antidepressivo foi observado nestes animais. Além disso, a contribuição do receptor 5-HT_{2A/C} foi reforçada por estudos de docagem molecular que também apontaram possíveis interações entre o SeBZF3 e o SERT, reforçando a hipótese de modulação da ação via monoaminérgica, em especial a serotoninérgica. Ademais, o tratamento com o SeBZF3 parece relativamente seguro, visto que não foram detectadas evidências de toxicidade, mesmo após a administração de uma alta dose deste composto. Haja visto o seu potencial terapêutico, mais estudos são necessários para explorar o potencial psicoterapêutico do SeBZF3 e a sua segurança.

REFERÊNCIAS

- ALBERT, P. R.; VAHID-ANSARI, F. **The 5-HT_{1A} receptor: Signaling to behavior.** Biochimie, 161, p. 34-45, Jun 2019.
- ALONSO-CASTRO, A. J.; GASCA-MARTÍNEZ, D.; CORTEZ-MENDOZA, L. V.; ALBA-BETANCOURT, C. *et al.* **Evaluation of the neuropharmacological effects of Gardenin A in mice.** Drug Dev Res, 81, n. 5, p. 600-608, 08 2020.
- ALPERT, O.; BEGUN, L.; GARREN, P.; SOLHKHAH, R. **Cytokine storm induced new onset depression in patients with COVID-19. A new look into the association between depression and cytokines -two case reports.** Brain Behav Immun Health, 9, p. 100173, Dec 2020.
- ANIBAL, C.; ROMANO, H., L. **Relações entre atividade física e depressão: estudo de revisão.** Revista Saúde em Foco: 10 p. 2017.
- ARAGÃO, J. A. E. A. **Ansiedade e depressão em pacientes com doença arterial periférica internados em hospital terciário.** Jornal Vascular Brasileiro. v. 18, 2019.
- AZEVEDO, H.; FERREIRA, M.; COSTA, R. W.; RUSSO, V. *et al.* **Preclinical characterization of ACH-000029, a novel anxiolytic compound acting on serotonergic and alpha-adrenergic receptors.** Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, v. 95, p. 109707, 20 dez. 2019.
- AZEVEDO, L. C. L. D.; SANTOS, N. D. L. **Tratamento farmacológico do transtorno depressivo maior: aspectos farmacogenéticos.** Trabalho de Conclusão de Curso do curso de Farmácia—Várzea Grande - MT: UNIVAG – Centro Universitário 2021.
- BAIK, J. H. **Stress and the dopaminergic reward system.** Exp Mol Med, 52, n. 12, p. 1879-1890, 12 2020.
- BHATT, S.; DEVADOSS, T.; MANJULA, S. N.; RAJANGAM, J. **5-HT₃ receptor antagonism a potential therapeutic approach for the treatment of depression and other disorders.** Curr Neuropharmacol, Oct 2020.
- BANASIKOWSKI, T. J.; CLOUTIER, C. J.; OSSENKOPP, K. P.; KAVALIERS, M. **Repeated exposure of male mice to low doses of lipopolysaccharide: dose and time dependent development of behavioral sensitization and tolerance in an automated light-dark anxiety test.** Behav Brain Res, 286, p. 241-248, Jun 2015.
- BEHESHTI, F.; HASHEMZEHI, M.; HOSSEINI, M.; MAREFATI, N. *et al.* **Inducible nitric oxide synthase plays a role in depression- and anxiety-like behaviors chronically induced by lipopolysaccharide in rats: Evidence from inflammation and oxidative stress.** Behav Brain Res, 392, p. 112720, Aug 17 2020.

BELUJON, P.; GRACE, A. A. **Dopamine System Dysregulation in Major Depressive Disorders.** *Int J Neuropsychopharmacol*, 20, n. 12, p. 1036-1046, Dec 1 2017.

BESCKOW, E. M.; NONEMACHER, N. T.; GARCIA, C. S.; DA SILVA ESPÍNDOLA, C. N. *et al.* **Antidepressant-like effect of a selenopropargylic benzamide in mice: involvement of the serotonergic system.** *Psychopharmacology (Berl)*, 237, n. 10, p. 3149-3159, Oct 2020.

BJÖRKHOLM, C.; MONTEGGIA, L. M. **BDNF - a key transducer of antidepressant effects.** *Neuropharmacology*, 102, p. 72-79, Mar 2016.

BORGES, L. D. A. R.; AL., E. **Exercício físico como intervenção terapêutica na depressão em idosos / Physical exercise as therapeutic intervention in depression in the elderly.** *Brazilian Journal of Development*. 6: 64288–64297 p. 2020.

BRITO, L. S. D. A.; LOPES, L. F.; BARROS, L. **Perfil epidemiológico de gestantes de alto risco e o acompanhamento realizado por enfermeiros na regional ilha do bananal no estado do Tocantins.** *Amazônia: Science & Health*. 8: 66-77 p. 2020.

BRÜNING, C. A.; MARTINI, F.; SOARES, S. M.; SAVEGNAGO, L. *et al.* **Depressive-like behavior induced by tumor necrosis factor- α is attenuated by m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide in mice.** *J Psychiatr Res*, 66-67, p. 75-83, 2015 Jul-Aug 2015.

BRÜNING, C. A.; SOUZA, A. C.; GAI, B. M.; ZENI, G. *et al.* **Antidepressant-like effect of m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide in the mouse forced swimming test involves opioid and serotonergic systems.** *Eur J Pharmacol*, 658, n. 2-3, p. 145-149, May 2011.

BUENO-NOTIVOL, J.; GRACIA-GARCÍA, P.; OLAYA, B.; LASHERAS, I. *et al.* **Prevalence of depression during the COVID-19 outbreak: A meta-analysis of community-based studies.** *Int J Clin Health Psychol*, 21, n. 1, p. 100196, 2021 Jan-Apr 2021.

CARHART-HARRIS, R. L.; NUTT, D. J. **Serotonin and brain function: a tale of two receptors.** *J Psychopharmacol*, 31, n. 9, p. 1091-1120, 09 2017.

CARR, G. V.; LUCKI, I. **The role of serotonin receptor subtypes in treating depression: a review of animal studies.** *Psychopharmacology (Berl)*, 213, n. 2-3, p. 265-287, Feb 2011.

CELADA, P.; PUIG, M.; AMARGÓS-BOSCH, M.; ADELL, A. *et al.* **The therapeutic role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors in depression.** *J Psychiatry Neurosci*, 29, n. 4, p. 252-265, Jul 2004.

CHA, D. S.; LUO, X.; AHMED, J.; BECIROVIC, L. *et al.* **Brexipiprazole as an augmentation agent to antidepressants in treatment resistant major depressive disorder.** Expert Rev Neurother, 19, n. 9, p. 777-783, 09 2019.

CHAGRAOUI, A.; THIBAUT, F.; SKIBA, M.; THUILLEZ, C. *et al.* **5-HT_{2c} receptors in psychiatric disorders: A review.** Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 66, p. 120-135, Apr 03 2016.

CHAND, K.; RAJESHWARI; HIREMATHAD, A.; SINGH, M. *et al.* **A review on antioxidant potential of bioactive heterocycle benzofuran: Natural and synthetic derivatives.** Pharmacol Rep, 69, n. 2, p. 281-295, Apr 2017.

COLANGELO, L. A.; HE, K.; WHOOLEY, M. A.; DAVIGLUS, M. L. *et al.* **Selenium exposure and depressive symptoms: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults Trace Element Study.** Neurotoxicology, 41, p. 167-174, Mar 2014.

COLAÇO, C. S. **Avaliação do potencial antidepressivo da ayahuasca em ratos: comportamento, quantificação de monoaminas e do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF).** Dissertação (mestrado) - Brasília: Universidade de Brasília. 2018.

COLEMAN, J. A.; GREEN, E. M.; GOUAUX, E. **X-ray structures and mechanism of the human serotonin transporter.** Nature, 532, n. 7599, p. 334-339, Apr 2016.

CONNER, T. S.; RICHARDSON, A. C.; MILLER, J. C. **Optimal serum selenium concentrations are associated with lower depressive symptoms and negative mood among young adults.** J Nutr, 145, n. 1, p. 59-65, Jan 2015.

COSTESCU, M.; PAUNESCU, H.; COMAN, O. A.; COMAN, L. *et al.* **Antidepressant effect of the interaction of fluoxetine with granisetron.** Exp Ther Med, 18, n. 6, p. 5108-5111, Dec 2019.

CRUZ, F. N. O.; BONFIM, A. J. **Artigo de revisão Relação do diabetes mellitus com a depressão e seus mecanismos fisiopatológicos: uma revisão. Diabetes mellitus associated with depression and their pathophysiological mechanisms: a review.** p.12, 2020.

CRUZ-FUENTES, C. S.; BENJET, C.; MARTÍNEZ-LEVY, G. A.; PÉREZ-MOLINA, A. *et al.* **BDNF Met66 modulates the cumulative effect of psychosocial childhood adversities on major depression in adolescents.** Brain Behav, 4, n. 2, p. 290-297, Mar 2014.

CRYAN, J. F.; MOMBÉREAU, C.; VASSOUT, A. **The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice.** Neurosci Biobehav Rev, 29, n. 4-5, p. 571-625, 2005.

DA SILVA TEIXEIRA RECH, T.; GONÇALVES ALVES, A.; NORNBERG STRELOW, D.; DEVANTIER KRÜGER, L. *et al.* **2-Phenyl-3-(phenylselanyl) benzofuran elicits acute antidepressant-like action in male Swiss mice**

mediated by modulation of the dopaminergic system and reveals therapeutic efficacy in both sexes. *Psychopharmacology (Berl)*, Jul 27 2021.

DAVID, D.J.; A. M. G. **Les bases de pharmacologie fondamentale du système sérotoninergique: application à la réponse antidépressive.** *L'Encéphale*, 42, n. 3, p. 255-263, 2016.

DAVIS, B. A.; NAGARAJAN, A.; FORREST, L. R.; SINGH, S. K. **Mechanism of Paroxetine (Paxil) Inhibition of the Serotonin Transporter.** *Sci Rep*, 6, p. 23789, Apr 2016.

DAWOOD, K. M. **An update on benzofuran inhibitors: a patent review.** *Expert Opin Ther Pat*, 29, n. 11, p. 841-870, Nov 2019.

DE BERARDIS, D.; MARINI, S.; PIERSANTI, M.; CAVUTO, M. *et al.* **The Relationships between Cholesterol and suicide: An Update.** *ISRN Psychiatry*, 2012, p. 387901, 2012.

DE DEURWAERDÈRE, P.; DI GIOVANNI, G. **Serotonergic modulation of the activity of mesencephalic dopaminergic systems: Therapeutic implications.** *Prog Neurobiol*, 151, p. 175-236, 04 2017.

DE, F.; FEIJÓ, M.; BERTOLUCI, M. C.; REIS, C. **Serotonina e controle hipotalâmico da fome: uma revisão.** *Rev Assoc Med. Bras*, 2011; 57(1):74-77.

DEAN, J.; KESHAVAN, M. **The neurobiology of depression: An integrated view.** *Asian J Psychiatr*, 27, p. 101-111, Jun 2017.

DINIZ, J. P.; NEVES, O., S. A. D.; VIEIRA, M. L. **Ação dos Neurotransmissores Envolvidos na Depressão.** *Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde*. 24: 437-443 p. 2020.

DOS SANTOS, M. A., VASCONCELOS, G. S., DE SOUSA, C. N. S., MACEDO, D., VASCONCELOS, S. M. M., 2019. Chapter 6 - **Consequences of Ethanol Exposure on Neurodevelopment.** In: Preedy, V. R., (Ed), *Neuroscience of Alcohol*. Academic Press, Mechanisms and Treatment, pp. 47-55.

DRUMOND, F. V. F. **Efeito de poliformismos genéticos do gene HSD11b1 sobre o risco para desenvolver depressão na população brasileira.** text—[s.l.]. Universidade de São Paulo 19 set. 2017.

EL-HAGE, W.; VOURE'H, P.; GAILLARD, P.; LÉGER, J. *et al.* **The BDNF Val (66) Met polymorphism is associated with escitalopram response in depressed patients.** *Psychopharmacology (Berl)*, 232, n. 3, p. 575-581, Feb 2015.

FAKHFOURI, G.; RAHIMIAN, R.; DYHRFJELD-JOHNSEN, J.; ZIRAK, M. R. *et al.* **5-HT.** *Pharmacol Rev*, 71, n. 3, p. 383-412, 07 2019.

FELGER, J. C. **Role of Inflammation in Depression and Treatment Implications.** In: Macaluso, M., Preskorn, Sheldon H. (Ed.). *Antidepressants: From Biogenic Amines to New Mechanisms of Action*. Springer International Publishing, 2019. p. 255-286.

FERNANDES, G. A. B. **Otimização de Rota Sintética para a Obtenção de Compostos Diidrobenzofurânicos Bioativos.** Trabalho de Conclusão de Curso—São Paulo: Universidade Presbiteriana Mackenzie 2018.

FERNANDES, M. A.; RIBEIRO, H. K. P.; SANTOS, J. D. M.; MONTEIRO, C. F. D. S. *et al.* **Prevalence of anxiety disorders as a cause of workers' absence.** Revista Brasileira de Enfermagem, 71, n. suppl 5, p. 2213-2220, 2018.

FLORA, N. D. E. A. **Uso de antidepressivos tricíclicos com a predição de delirium em idosos hospitalizados.** Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão. 12 4 dez. 2020.

FREIBERGER, V. **Parâmetros relacionados à depressão em camundongos adultos submetidos à malária cerebral no período infante.** Dissertação (mestrado) —Palhoça: Universidade do Sul de Santa Catarina 2018.

GABRIELSEN, M.; KURCZAB, R.; RAVNA, A. W.; KUFAREVA, I. *et al.* **Molecular mechanism of serotonin transporter inhibition elucidated by a new flexible docking protocol.** Eur J Med Chem, 47, n. 1, p. 24-37, Jan 2012.

GALL, J. I.; GONÇALVES ALVES, A.; CARRARO JÚNIOR, L. R.; DA SILVA TEIXEIRA RECH, T. *et al.* **Insights into serotonergic and antioxidant mechanisms involved in antidepressant-like action of 2-phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran in mice.** Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 102, p. 109956, 08 2020.

GAY, R. M.; MANARIN, F.; SCHNEIDER, C. C.; BARANCELLI, D. A. *et al.* **FeCl(3)-Diorganyl dichalcogenides promoted cyclization of 2-alkynylanisoles to 3-chalcogen benzo[b]furans.** J Org Chem, 75, n. 16, p. 5701-5706, Aug 2010.

GONÇALVES, A. M. C.; AL., E. **Prevalência de depressão e fatores associados em mulheres atendidas pela Estratégia de Saúde da Família.** Jornal Brasileiro de Psiquiatria, v. 67, n. 2, p.101–109 2018.

GONÇALVES, A. M. C. E. A. **Prevalência de depressão e fatores associados em mulheres atendidas pela Estratégia de Saúde da Família.** Jornal Brasileiro de Psiquiatria [online].: Acessado em 10 junho 2021. 67: 101-109 p. 2018.

GONÇALVES, R. P. F.; AL., E. **Diagnóstico médico autorreferido de doença cardíaca e fatores de risco associados: Pesquisa Nacional de Saúde.** Revista Brasileira de Epidemiologia, v. 22 2019.

GOYAL, D.; KAUR, A.; GOYAL, B. **Benzofuran and Indole: Promising Scaffolds for Drug Development in Alzheimer's Disease.** ChemMedChem, 13, n. 13, p. 1275-1299, 07 2018.

GRESCH, P. J., KITAINDA, V., 2021. **Serotonin Receptor Signaling.** Reference Module in Life Sciences.

GROSSO, C.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B. **Depressive Disorders: Prevalence, Costs, and Theories.** In: GrossO, C. (Ed.). Herbal Medicine in Depression: Traditional Medicine to Innovative Drug Delivery. Cham: Springer International Publishing. p. 1–41. 2016.

GUERRA, T. D. R. B.; MESQUITA, E. T. **Visão metabolômica envolvendo depressão e insuficiência cardíaca: uma análise reflexiva.** Research, Society and Development, v. 9, n. 8, p. e455986035–e455986035 13 jul. 2020.

HAO, R.; QI, Y.; HOU, D. N.; JI, Y. Y. *et al.* **BDNF val66met Polymorphism Impairs Hippocampal Long-Term Depression by Down-Regulation of 5-HT₃ Receptors.** Front Cell Neurosci, 11, p. 306, 2017.

HASLER, G. **Pathophysiology of depression: do we have any solid evidence of interest to clinicians?** World Psychiatry, 9, n. 3, p. 155-161, Oct 2010.

HOFFMAN, K. L., 2016. 2 - **What can animal models tell us about depressive disorders?** Elsevier Woodhead Publishing.

HUANG, X.; YANG, J.; YANG, S.; CAO, S. *et al.* **Role of tandospirone, a 5-HT_{1A} receptor partial agonist, in the treatment of central nervous system disorders and the underlying mechanisms.** Oncotarget, 8, n. 60, p. 102705-102720, Nov 2017.

HUR, J.; SMITH, J. F.; DEYOUNG, K. A.; ANDERSON, A. S. *et al.* **Anxiety and the Neurobiology of Temporally Uncertain Threat Anticipation.** J Neurosci, 40, n. 41, p. 7949-7964, 10 2020.

IGLESIAS, P.; SELGAS, R.; ROMERO, S.; DÍEZ, J. J. **Selenium and kidney disease.** J Nephrol, 26, n. 2, p. 266-272, 2013 Mar-Apr 2013.

IMAIZUMI, M.; ONODERA, K. **The behavioral and biochemical effects of thioperamide, a histamine H₃-receptor antagonist, in a light/dark test measuring anxiety in mice.** Life Sci, 53, n. 22, p. 1675-1683, 1993.

JACKA, F. N.; CHERBUIN, N.; ANSTEY, K. J.; BUTTERWORTH, P. **Does reverse causality explain the relationship between diet and depression?** J Affect Disord, 175, p. 248-250, Apr 2015.

JACKA, F. N.; KREMER, P. J.; BERK, M.; DE SILVA-SANIGORSKI, A. M. *et al.* **A prospective study of diet quality and mental health in adolescents.** PLoS One, 6, n. 9, p. e24805, 2011.

JESSE, C. R. **Mecanismos envolvidos nos efeitos do seleneto vinílico bis substituído (svbs) em modelos animais de depressão e de dor.** Tese (doutorado) —Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria 2011.

JIANG, S. H.; WANG, Y. H.; HU, L. P.; WANG, X. *et al.* The physiology, pathology and potential therapeutic application of serotonylation. J Cell Sci, 134, n. 11, 06 2021.

JOHNSON, L. A.; PHILLIPS, J. A.; MAUER, C.; EDWARDS, M. *et al.* **The impact of GPX1 on the association of groundwater selenium and depression: a Project FRONTIER study.** BMC Psychiatry, 13, p. 7, Jan 2013.

JONES, L. A.; SUN, E. W.; MARTIN, A. M.; KEATING, D. J. **The ever-changing roles of serotonin.** Int J Biochem Cell Biol, 125, p. 105776, 08 2020.

JUCÁ, M. M. **Efeitos antidepressivos da cumarina no modelo de depressão induzido por corticosterona: envolvimento noradrenérgico, serotoninérgico, neuroinflamatório e antioxidante.** Tese (doutorado) —Fortaleza: Universidade Federal do Ceará 2018.

JÚNIOR, E. G. S. S., & DR. ARLAN, A. D. S. G. **Estudo por docagem molecular de inibidores da enzima gsk-3 β : uma proposta para o tratamento do transtorno bipolar.** Revista Ifes Ciência n. 5(1), p. 243-256, 2019.

KAUR, U.; PATHAK, B. K.; SINGH, A.; CHAKRABARTI, S. S. **Esketamine: a glimmer of hope in treatment-resistant depression.** Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci, 271, n. 3, p. 417-429, Apr 2021.

KĘDZIERSKA, E.; DĄBKOWSKA, L.; OBIERZYŃSKI, P.; POLAKOWSKA, M. *et al.* **Synergistic Action of Sodium Selenite with some Antidepressants and Diazepam in Mice.** Pharmaceutics, 10, n. 4, Dec 2018.

KESSLER, R. C.; BERGLUND, P.; DEMLER, O.; JIN, R. *et al.* **The Epidemiology of Major Depressive Disorder.** JAMA, 289, n. 23, p. 3095, 2003.

KIM, J.-H. E. A. **Histone Lysine Methylation and Neurodevelopmental Disorders.** International Journal of Molecular Sciences, v. 18, n. 7, p. 1404 30 jun. 2017.

KOEK, W.; SANDOVAL, T. L.; DAWS, L. C. **Effects of the antidepressants desipramine and fluvoxamine on latency to immobility and duration of immobility in the forced swim test in adult male C57BL/6J mice.** Behav Pharmacol, 29, n. 5, p. 453-456, 08 2018.

KOLACZYNSKA, K. E. E. A. **Receptor Interaction Profiles of 4-Alkoxy-Substituted-2,5-Dimethoxyphenethylamines and Related amphetamines.** *Frontiers in Pharmacology*, v. 0, 2019. 2019.

KOVALČÍKOVÁ, A. G.; PAVLOV, K.; LIPTÁK, R.; HLADOVÁ, M. *et al.* **Dynamics of salivary markers of kidney functions in acute and chronic kidney diseases.** *Sci Rep*, 10, n. 1, p. 21260, Dec 4 2020.

KREMER, M.; BECKER, L. J.; BARROT, M.; YALCIN, I. **How to study anxiety and depression in rodent models of chronic pain?** *Eur J Neurosci*, 53, n. 1, p. 236-270, 01 2021.

KUMAR, S.; CHONG, I. **Correlation Analysis to Identify the Effective Data in Machine Learning: Prediction of Depressive Disorder and Emotion States.** *Int J Environ Res Public Health*, 15, n. 12, 12 2018.

KURHE, Y.; MAHESH, R. **Ondansetron ameliorates depression associated with obesity in high-fat diet fed experimental mice: An investigation-based on the behavioral, biochemical, and molecular approach.** *Indian J Pharmacol*, 49, n. 4, p. 290-296, 2017 Jul-Aug 2017.

LALA, V.; GOYAL, A.; BANSAL, P.; MINTER, D. A. **Liver Function Tests.** *In: StatPearls.* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan—. PMID: 29494096.

LAURINDO, L. D. R. **Ácido rosmarínico inibe a resposta neuroinflamatória autoimune e comportamento tipo depressivo em camundongos.** Trabalho de Conclusão de Curso—Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina 2017.

LI, Z.; LU, Y.; LIANG, S.; LI, S. *et al.* **Fluoxetine improves behavioural deficits induced by chronic alcohol treatment by alleviating RNA editing of 5-HT.** *Neurochem Int*, 134, p. 104689, 03 2020.

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

LIYANARACHCHI, K.; ROSS, R.; DEBONO, M. **Human studies on hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis.** *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 31, n. 5, p. 459-473, 10 2017.

LOCKWOOD, P. L. **The anatomy of empathy: Vicarious experience and disorders of social cognition.** *Behav Brain Res*, 311, p. 255-266, 09 2016.

LOPES, I. S. **Efeito da riparina II na reversão de alterações comportamentais e neuroquímicas em camundongos submetidos ao modelo de depressão induzida por corticosterona.** Dissertação (mestrado) —Fortaleza: Universidade Federal do Ceará 2017.

LOPES, J. **A influência da dieta na saúde intestinal e transtornos depressivos.** Trabalho apresentado para a disciplina de Produção e Inovação Científica—Maranhão: Faculdade Laboro jun. 2020.

LUCCHESI, R. E. A. **Common mental disorder among alcohol and drug abusers: A cross-sectional study.** Texto & Contexto - Enfermagem, v. 26 1 jan. 2017.

MA, P.; YUE, L.; YANG, H.; FAN, Y. *et al.* **Chondroprotective and anti-inflammatory effects of amurensin H by regulating TLR4/Syk/NF- κ B signals.** J Cell Mol Med, 24, n. 2, p. 1958-1968, 01 2020.

MAES, M.; GALECKI, P.; CHANG, Y. S.; BERK, M. **A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro) degenerative processes in that illness.** Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 35, n. 3, p. 676-692, Apr 29 2011.

MAIA, B. R. E. A. **Ansiedade, depressão e estresse em estudantes universitários: o impacto da COVID-19.** Estudos de Psicologia (Campinas), v. 37 2020.

MAIA, F. T. S. R. **Determinação de alterações comportamentais e neuroquímicas do aprepitante no modelo crônico de depressão induzido pela administração repetida de lipopolissacarídeo em camundongos.** Tese (doutorado) —Fortaleza: Universidade Federal do Ceará 2017.

Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais [recurso eletrônico]: DSM-5 / [American Psychiatric Association; tradução: Maria Inês Corrêa Nascimento ... *et al.*]; revisão técnica: Aristides Volpato Cordoli ... [et al.]. – 5. ed. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre: Artmed, 2014.

MARCONI, P. B. **O papel dos testes com roedores para o entendimento sobre comportamentos empáticos.** Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Ciências Biológicas—Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina 2020.

MARTIN, V.; MATHIEU, L.; DIAZ, J.; SALMAN, H. *et al.* **Key role of the 5-HT_{1A} receptor addressing protein Yif1B in serotonin neurotransmission and SSRI treatment.** J Psychiatry Neurosci, 45, n. 5, p. 344-355, 09 2020.

MARTINOWICH, K.; MANJI, H.; LU, B. **New insights into BDNF function in depression and anxiety.** Nature Neuroscience, 10, n. 9, p. 1089-1093, 2007.

MCKEAGE, K. **Adjunctive Brexpiprazole: A Review in Major Depressive Disorder.** CNS Drugs, 30, n. 2, p. 91-99, Feb 2016.

MEHANNA, J.; JAMAL, Y.; CAMPAGNOLO, O. A. **Tratamento da psoríase infantil: revisão de literatura e proposição de algoritmo.** Revista Thêma et Scientia, v. 5, n. 2, p.108–116 2015.

MERTENS, K.; LOWES, D. A.; WEBSTER, N. R.; TALIB, J. *et al.* **Low zinc and selenium concentrations in sepsis are associated with oxidative damage and inflammation.** Br J Anaesth, 114, n. 6, p. 990-999, Jun 2015.

MEYZA, K. Z.; BARTAL, I. B.; MONFILS, M. H.; PANKSEPP, J. B. *et al.* **The roots of empathy: Through the lens of rodent models.** Neurosci Biobehav Rev, 76, n. Pt B, p. 216-234, 05 2017.

MICHALAK, A.; WNOROWSKI, A.; BERARDINELLI, A.; ZINATO, S. *et al.* **Diazepam and SL-327 synergistically attenuate anxiety-like behaviours in mice - Possible hippocampal MAPKs specificity.** Neuropharmacology, 180, p. 108302, Dec 1 2020.

MITCHELL, N.; BAKER, G. **An update on the role of glutamate in the pathophysiology of depression.** Acta psychiatrica Scandinavica, 122, p. 192-210, 09/01 2010.

MOKHBER, N.; NAMJOO, M.; TARA, F.; BOSKABADI, H. *et al.* **Effect of supplementation with selenium on postpartum depression: a randomized double-blind placebo-controlled trial.** J Matern Fetal Neonatal Med, 24, n. 1, p. 104-108, Jan 2011.

MONTALBANO, A.; CORRADETTI, R.; MLINAR, B. **Pharmacological Characterization of 5-HT_{1A} Autoreceptor-Coupled GIRK Channels in Rat Dorsal Raphe 5-HT Neurons.** PLoS One, 10, n. 10, p. e0140369, 2015.

MORRISON, T. R.; RICCI, L. A.; MELLONI, R. H. **Aggression and anxiety in adolescent AAS-treated hamsters: A role for 5HT₃ receptors.** Pharmacol Biochem Behav, 134, p. 85-91, Jul 2015.

MOSAFFA, S.; AHMADI, H.; KHAKPAI, F.; EBRAHIMI-GHIRI, M. *et al.* **Synergistic antidepressant- and anxiolytic-like effects of harmaline along with cinanserin in acute restraint stress-treated mice.** Psychopharmacology (Berl), 238, n. 1, p. 259-269, Jan 2021.

MUBEEN, S. E. A. **Effect of Risperidone with Ondansetron to Control the Negative and Depressive Symptoms in Schizophrenia.** 15 dez. 2018.

MURPHY, D. L.; LESCH, K. P. **Targeting the murine serotonin transporter: insights into human neurobiology.** Nat Rev Neurosci, 9, n. 2, p. 85-96, Feb 2008.

MŁYNYEC, K.; GAWEŁ, M.; DOBOSZEWSKA, U.; STAROWICZ, G. *et al.* **Essential elements in depression and anxiety. Part II.** Pharmacol Rep, 67, n. 2, p. 187-194, Apr 2015.

NICIU, M. J.; IONESCU, D. F.; RICHARDS, E. M.; ZARATE, C. A. **Glutamate and its receptors in the pathophysiology and treatment of major depressive disorder.** Journal of Neural Transmission, 121, n. 8, p. 907-924, 2014.

NOGUEIRA, C. W.; BARBOSA, N. V.; ROCHA, J. B. T. **Toxicology and pharmacology of synthetic organoselenium compounds: an update.** Arch Toxicol, 95, n. 4, p. 1179-1226, 04 2021.

OELLINGRATH, I. M.; SVENDSEN, M. V.; HESTETUN, I. **Eating patterns and mental health problems in early adolescence--a cross-sectional study of 12-13-year-old Norwegian schoolchildren.** Public Health Nutr, 17, n. 11, p. 2554-2562, Nov 2014.

OLIVEIRA, N. G. D. **Avaliação da prevalência de depressão e sua possível relação com capacidade antioxidante dietética em mulheres na menopausa e pós-menopausa.** Projeto monográfico—Caxias do Sul: Universidade Caxias do Sul 25 out. 2018.

ORSOLINI, L.; TOMASETTI, C.; VALCHERA, A.; IASEVOLI, F. *et al.* **New advances in the treatment of generalized anxiety disorder: the multimodal antidepressant vortioxetine.** Expert Rev Neurother, 16, n. 5, p. 483-495, 05 2016.

PALTIAN, J. J.; DOS REIS, A. S.; DE OLIVEIRA, R. L.; DA FONSECA, C. A. R. *et al.* **The anxiolytic effect of a promising quinoline containing selenium with the contribution of the serotonergic and GABAergic pathways: Modulation of parameters associated with anxiety in mice.** Behav Brain Res, 393, p. 112797, 09 01 2020.

PARK, S. C.; LEE, H. Y.; LEE, D. W.; HAHN, S. W. *et al.* **Screening for Depressive Disorder in Elderly Patients with Chronic Physical Diseases Using the Patient Health Questionnaire-9.** Psychiatry Investig, 14, n. 3, p. 306-313, May 2017.

PASCO, J. A.; JACKA, F. N.; WILLIAMS, L. J.; EVANS-CLEVERDON, M. *et al.* **Dietary selenium and major depression: a nested case-control study.** Complement Ther Med, 20, n. 3, p. 119-123, Jun 2012.

PATIER, P. H. X. E.; AL. **Relação Entre Depressão, Qualidade Alimentar Dietética e Eixo Intestino-Cérebro.** International Journal of Nutrology. Anais. In: XXI I CONGRESSO BRASILEIRO DE NUTROLOGIA. Thieme Revinter Publicações Ltda, set. 2018. Disponível em: <<http://www-thieme-connect-de.ez66.periodicos.capes.gov.br/DOI/DOI?10.1055/s-0038-1674981>>. Acesso em: 15 fev. 2021.

PEREIRA, J. M. **Uso de substâncias psicoativas e outros fatores associados aos sintomas de transtornos de ansiedade e depressão.** Trabalho de Conclusão de Curso—Ouro Preto: Universidade Federal de Ouro Preto 2019.

PINHEIRO, E. D. A. E.; AL. **Efeito da rotina em modelo de depressão crônico induzido por corticosterona em camundongos.** Journal of Health & Biological Sciences, v. 6, n. 2, p. 145–151 2 abr. 2018.

PINHEIRO, F.; COSTA, E. **Menopausa: preditores da satisfação conjugal.** Psicologia, Saúde & Doenças, v. 21, n. 2, p. 322–342 ago. 2020.

PINHEIRO, G.D.A; ALVES, S.H.D. S; MURCE, P.P; CRUZ, A.P.D.M. **Envolvimento do dos Receptores 5-HT₂ da Amígdala nos Níveis de Ansiedade Induzidos pela Exposição de Rato ao Labirinto em Cruz Elevado.** Psicologia: Teoria e Pesquisa, Set-Dez 2002, Vol. 18 n. 3, pp. 329-335

PROTTI, M.; MANDRIOLI, R.; MARASCA, C.; CAVALLI, A. *et al.* **New-generation, non-SSRI antidepressants: Drug-drug interactions and therapeutic drug monitoring. Part 2: NaSSAs, NRIs, SNDRIs, MASSAs, NDRIs, and others.** Med Res Rev, 40, n. 5, p. 1794-1832, Sep 2020.

PRYSTUPA, A.; KICIŃSKI, P.; LUCHOWSKA-KOCOT, D.; BŁAŻEWICZ, A. *et al.* **Association between Serum Selenium Concentrations and Levels of Proinflammatory and Profibrotic Cytokines-Interleukin-6 and Growth Differentiation Factor-15, in Patients with Alcoholic Liver Cirrhosis.** Int J Environ Res Public Health, 14, n. 4, 04 2017.

RAMSAY, R. R.; DE DEURWAERDÈRE, P.; DI GIOVANNI, G. **Updating neuropathology and neuropharmacology of monoaminergic systems.** Br J Pharmacol, 173, n. 13, p. 2065-2068, 07 2016.

RASTI, A. R.; COOMBE, V. E.; MUZIK, J. R.; KLIETHERMES, C. L. **Pharmacological characterization of the forced swim test in *Drosophila melanogaster*.** Invert Neurosci, 20, n. 4, p. 22, 11 2020.

RAUPP, I. T. E. A. **Diabetes Mellitus Tipo 2 e saúde mental: uma abordagem multidisciplinar/ Type 2 diabetes Mellitus and mental health: a multidisciplinary approach.** Brazilian Journal of Health Review, v. 4, n. 1, p. 90–104 6 jan. 2021.

RAYMAN, M. P. **Selenium and human health.** Lancet (London, England), v. 379, n. 9822, p. 1256–1268 31 mar. 2012.

RIBEIRO, G. A. N. D.; AL., A. E. **Depressão, ansiedade e compulsão alimentar antes e após cirurgia bariátrica: problemas que persistem.** ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo), v. 31, n. 1 2018.

RODRIGUES DA SILVA; AL., N. E. **Cannabidiol attenuates behavioral changes in a rodent model of schizophrenia through 5-HT_{1A}, but not CB1 and CB2 receptors.** Pharmacological Research, v. 156, p. 104749 jun. 2020.

ROJAS, P. S.; AGUAYO, F.; NEIRA, D.; TEJOS, M. *et al.* **Dual effect of serotonin on the dendritic growth of cultured hippocampal neurons: Involvement of 5-HT.** Mol Cell Neurosci, 85, p. 148-161, 12 2017.

ROJAS, P. S.; FIEDLER, J. L. **What Do We Really Know About 5-HT.** Front Cell Neurosci, 10, p. 272, 2016.

RUBIO-LÓPEZ, N.; MORALES-SUÁREZ-VARELA, M.; PICO, Y.; LIVIANOS-ALDANA, L. *et al.* **Nutrient Intake and Depression Symptoms in Spanish Children: The ANIVA Study.** *Int J Environ Res Public Health*, 13, n. 3, Mar 2016.

RÉUS, G. Z.; QUEVEDO, J.; RODRIGUES, A. L. S. **mTOR signaling in the neuropathophysiology of depression: current evidence.** Disponível em: <<https://www.dovepress.com/mtor-signaling-in-the-neuropathophysiology-of-depression-current-evidence-peer-reviewed-article-JRLCR>>. Acesso em: 14 fev. 2021.

SAAVEDRA, J. S.; GARRETT, P. I.; HONEYCUTT, S. C.; PETERSON, A. M. *et al.* **Assessment of the rapid and sustained antidepressant-like effects of dextromethorphan in mice.** *Pharmacol Biochem Behav*, 197, p. 173003, 10 2020.

SAHLI, Z. T.; BANERJEE, P.; TARAZI, F. I. **The Preclinical and Clinical Effects of Vilazodone for the Treatment of Major Depressive Disorder.** *Expert Opin Drug Discov*, 11, n. 5, p. 515-523, 2016.

SANTANA, T. C. D. **Avaliação do tratamento farmacológico convencional da depressão e as novas alternativas farmacoterapêuticas.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) —Governador Mangabeira - BA: Faculdade Maria Milza 2017.

SANTOS, N. M. D. E.; AL. **Prevalência de depressão em acadêmicos de saúde e fatores associados / Prevalence of depression in health academic and associated factors.** *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 1, p. 7644–7657 20 jan. 2021.

SEEWOO, B. J.; HENNESSY, L. A.; FEINDEL, K. W.; ETHERINGTON, S. J. *et al.* **Validation of Chronic Restraint Stress Model in Young Adult Rats for the Study of Depression Using Longitudinal Multimodal MR Imaging.** *Eneuro*, 7, n. 4, p. ENEURO.0113-0120., 2020.

SELP, S. S.; MCDONAGH, M. S. **Depression in Children and Adolescents: Evaluation and Treatment.** *Am Fam Physician*, 100, n. 10, p. 609-617, 11 2019.

SHAKYA, A. K.; KAMAL, M.; BALARAMNAVAR, V. M.; BARDAWEEL, S. K. *et al.* **Design, synthesis and evaluation of benzofuran-acetamide scaffold as potential anticonvulsant agent.** *Acta Pharm*, 66, n. 3, p. 353-372, Sep 2016.

SHARP, T.; BARNES, N. M. **Central 5-HT receptors and their function; present and future.** *Neuropharmacology*, 177, p. 108155, 10 2020.

SOHEL, A. J.; SHUTTER, M. C.; MOLLA, M. **Fluoxetine.** *In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC., 2021.*

SOLOVYEV, N. D. **Importance of selenium and selenoprotein for brain function: From antioxidant protection to neuronal signalling.** *J Inorg Biochem*, 153, p. 1-12, Dec 2015.

SOUZA, D. G. E. A. **The astrocyte biochemistry.** *Seminars in Cell & Developmental Biology, Mechanisms of neural differentiation and integration.* v. 95, p. 142–150 1 nov. 2019.

SOUZA, M. M. R. D.; GODINHO, L. R. D. L. C. **Atuação do *Hypericum perforatum* no tratamento da depressão.** *Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa,* v. 36, n. 71, p. 51–65 11 dez. 2020.

SOUZA, V. A. D. 2012. **Síntese e avaliação da atividade biológica de neolignanas e análogos.** Tese (doutorado) —São Carlos: Universidade Federal de São Carlos.

STUIVENGA, M.; GILTAY, E. J.; COOLS, O.; ROOSENS, L. *et al.* **Evaluation of vilazodone for the treatment of depressive and anxiety disorders.** *Expert Opin Pharmacother,* 20, n. 3, p. 251-260, Feb 2019.

SZOKE-KOVACS, Z.; MORE, C.; SZOKE-KOVACS, R.; MATHE, E. *et al.* **Selective Inhibition of the Serotonin Transporter in the Treatment of Depression: Sertraline, Fluoxetine and Citalopram.** *Neuropsychopharmacol Hung,* 22, n. 1, p. 4-15, Mar 2020.

TAKAO, Y.; FIGUEROA, E.; BERNA, K. F. J.; JO, Y. *et al.* **Validation of a novel online depression symptom severity rating scale: the R8 Depression.** *Health Qual Life Outcomes,* 19, n. 1, p. 163, Jun 2021.

TAVARES, G. A. **Efeito do desmame precoce sobre o controle serotoninérgico do comportamento alimentar em ratos.** Dissertação (mestrado)- Recife: Universidade Federal de Pernambuco 2018.

TEIXEIRA, C. A. B. **Modelo teórico sobre os significados do estresse precoce e a vida adulta com depressão.** Text—[s.l.] Universidade de São Paulo 22 fev. 2017.

TEIXEIRA, C. A. B. E.; AL. **Interface entre Estresse Precoce e Depressão em adultos: uma análise reflexiva.** *Research, Society and Development,* v. 9, n. 8, p. e705985952–e705985952 30 jul. 2020.

VENTURA, J. E. A. **Fatores associados a depressão e os cuidados de enfermagem no idoso.** *Revista de Enfermagem,* v. 12, n. 12, p. 100–113 2016.

VIKTORIN, A. E. A. **Heritability of Perinatal Depression and Genetic Overlap With Nonperinatal Depression.** *American Journal of Psychiatry,* v. 173, n. 2, p. 158–165 4 set. 2015.

VILLAS-BOAS, G. R.; LAVORATO, S. N.; PAES, M. M.; DE CARVALHO, P. M. G. *et al.* **Modulation of the Serotonergic Receptosome in the Treatment of Anxiety and Depression: A Narrative Review of the Experimental Evidence.** *Pharmaceuticals (Basel),* 14, n. 2, Feb 2021.

WANG, F. M.; DAVIS, M. F.; BRIGGS, F. B. **Predicting self-reported depression after the onset of multiple sclerosis using genetic and non-genetic factors.** *Mult Scler*, 27, n. 4, p. 603-612, Apr 2021.

WANG, H.; ZHANG, F. F.; XU, Y.; FU, H. R. *et al.* **The Phosphodiesterase-4 Inhibitor Roflumilast, a Potential Treatment for the Comorbidity of Memory Loss and Depression in Alzheimer's Disease: A Preclinical Study in APP/PS1 Transgenic Mice.** *Int J Neuropsychopharmacol*, 23, n. 10, p. 700-711, 12 2020.

WENG, T. T.; HAO, J. H.; QIAN, Q. W.; CAO, H. *et al.* **Is there any relationship between dietary patterns and depression and anxiety in Chinese adolescents?** *Public Health Nutr*, 15, n. 4, p. 673-682, Apr 2012.

WHO, 2017. **Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates.**

WRAY, N. R.; RIPKE, S.; MATTHEISEN, M.; TRZASKOWSKI, M. *et al.* **Genome-wide association analyses identify 44 risk variants and refine the genetic architecture of major depression.** *Nat Genet*, 50, n. 5, p. 668-681, 05 2018.

YU-HANG, M. Y.-H., H.; Y, J.; L., T.; S., J. *et al.* **Natural source, bioactivity and synthesis of benzofuran derivatives.** 2019.

ZANONATO, E. R.; COSTA, A. B.; AOSANI, T. R. **Precisamos falar sobre a depressão: estigma com relação a este sofrimento psíquico na contemporaneidade / We need to talk about depression: stigma in relation to this contemporary psychological suffering.** *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 1, p. 10942–10960 28 jan. 2021.

ZHA, X.; LAMBA, D.; ZHANG, L.; LOU, Y. *et al.* **Novel Tacrine-Benzofuran Hybrids as Potent Multitarget-Directed Ligands for the Treatment of Alzheimer's Disease: Design, Synthesis, Biological Evaluation, and X-ray Crystallography.** *J Med Chem*, 59, n. 1, p. 114-131, Jan 2016.

ZHANG, W. J.; WANG, H. H.; LV, Y. D.; LIU, C. C. *et al.* **Downregulation of Egr-1 Expression Level via GluN2B Underlies the Antidepressant Effects of Ketamine in a Chronic Unpredictable Stress Animal Model of Depression.** *Neuroscience*, 372, p. 38-45, 02 2018.

ZHOU, X.; TENG, T.; ZHANG, Y.; DEL GIOVANE, C. *et al.* **Comparative efficacy and acceptability of antidepressants, psychotherapies, and their combination for acute treatment of children and adolescents with depressive disorder: a systematic review and network meta-analysis.** *Lancet Psychiatry*, 7, n. 7, p. 581-601, Jul 2020.

ZORN, J. V.; SCHÜR, R. R.; BOKS, M. P.; KAHN, R. S. *et al.* **Cortisol stress reactivity across psychiatric disorders: A systematic review and meta-analysis.** *Psychoneuroendocrinology*, 77, p. 25-36, 03 2017.

ANEXO

PARECER CEEA

6/16/2021

SEI/UFPEL - 1335760 - Parecer



PARECER Nº
PROCESSO Nº

54/2021/CEEA/REITORIA
23110.014283/2021-68

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada “Avaliação pré-clínica de um 3-organoselenil-benzofurano substituído como um agente terapêutico para a depressão”, registrada com o nº 23110.014283/2021-68, sob a responsabilidade de **Cristiani Folharini Bortolatto** 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 execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de **11 de junho de 2021**.

Finalidade	(x) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	18/06/2021 a 10/06/2025
Espécie/linhagem/raça	<i>Mus musculus</i> /Swiss
Nº de animais	480
Idade	45 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central - UFPel

Código para cadastro nº CEEA 14283-2021

M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

Presidente da CEEA

https://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador.php?acao=documento_imprimir_web&acao_origem=emvue_visualizar&id_documento=15138766&infra_sist... 1/2

6/16/2021

SEI/UFPEL - 1335760 - Parecer



Documento assinado eletronicamente por **ANELIZE DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX**, Médico Veterinário, em 18/06/2021, às 11:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2013](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 1335760 e o código CRC 3F36A4DC.