

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

GABRIELA FERREIRA DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ALUCINÓGENOS E ANTIDEPRESSIVOS DAS
FENETILAMINAS SUBSTITUÍDAS 25I-NBOME E 25I-NBOH EM
CAMUNDONGOS SWISS**

MACEIÓ-AL

2023

GABRIELA FERREIRA DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ALUCINÓGENOS E ANTIDEPRESSIVOS DAS
FENETILAMINAS SUBSTITUÍDAS 25I-NBOME E 25I-NBOH EM
CAMUNDONGOS SWISS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS), da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), em cumprimento às exigências para a obtenção do título de Mestrado.

MACEIÓ-AL

2023

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

S729a Souza, Gabriela Ferreira de.
Avaliação dos efeitos alucinógenos e antidepressivos das fenetilaminas substituídas 25I-NBOME e 25I-NBOH em camundongos *swiss* / Gabriela Ferreira de Souza. – 2023.
41 f. : il.

Orientador: Marcelo Duzzioni.
Coorientador: Josué Carinhanha Caldas Santos.
Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 35-40.
Anexo: f. 41.

1. Substâncias psicoativas. 2. Fenetilaminas. 3. NBOMes. 4. NBOH (Alucinógeno). 5. Antidepressivos. I. Título.

CDU: 615.32

RESUMO

As novas substâncias psicoativas (NPS, do inglês *new psychoactive substances*) surgiram no mercado ilegal como alternativa às drogas controladas ou ilícitas. Tão grande é a diversidade e a complexidade das NPS que muitos dos usuários não têm a real noção da substância que está utilizando. Dentro desse variado grupo de substâncias encontram-se as fenetilaminas substituídas 25I-NBOMe e 25I-NBOH, que são alucinógenos sintéticos com ação serotoninérgica. As substâncias alucinógenas são comumente relatadas e vistas pela sociedade como drogas de abuso, contudo estudos vêm mostrando cada vez mais a possibilidade de sua utilização para tratamento de condições mentais, como a depressão. Diante dessas possibilidades e sabendo que, até o presente momento, não há relatos de um possível efeito antidepressivo das 25I-NBOMe e 25I-NBOH, buscamos avaliar os efeitos alucinógenos e antidepressivos da administração intraperitoneal (i.p.) das fenetilaminas 25I-NBOMe e 25I-NBOH na resposta de contração da cabeça (HTR, do inglês *head twitch response*) e no tempo de imobilidade, quando avaliados nos testes do campo aberto (CA) e do nado forçado (TNF), respectivamente, em camundongos *Swiss* fêmeas. No CA também foram avaliados os comportamentos exploratório (cruzamentos e rearing) e os relacionados com ansiedade (tempo no compartimento central e periférico). Para isso, os animais foram tratados com 25I-NBOMe (0,3, 1 ou 3 mg/Kg, i.p.), ou 25I-NBOH (0,3, 1 ou 3 mg/Kg, i.p.), ou veículo (NaCl 0,9%+DMSO 0,3%) e, imediatamente após, submetidos e avaliados durante 60 minutos no CA. Outros animais também foram tratados com 25I-NBOMe, ou 25I-NBOH ou veículo, nas mesmas doses e via que o experimento anterior, e, passados 40 minutos do tratamento (momento a partir do qual não há mais alteração na atividade motora), foram submetidos ao TNF. Nossos resultados demonstraram que ambas as substâncias 25I-NBOMe e 25I-NBOH não desencadearam alterações nos comportamentos exploratório e relacionados à ansiedade no CA. Entretanto, todas as doses das fenetilaminas substituídas promoveram um aumento na HTR no CA, indicando um efeito do tipo alucinógeno. No TNF, somente a dose mais baixa de 25I-NBOMe reduziu a imobilidade, indicando, pela primeira vez, um efeito do tipo antidepressivo desse composto. Esses dados nos trazem informações importantes para o potencial antidepressivo do tratamento agudo com 25I-NBOMe, bem como abre a possibilidade de estudos futuros que investiguem com mais propriedade, *e.g.*, a utilização de outros modelos animais e a avaliação temporal, dessa ação antidepressiva da 25I-NBOMe, que aqui descrevemos pela primeira vez.

Palavras-chave: 25I-NBOMe, 25I-NBOH, alucinógenos, antidepressivo

ABSTRACT

New psychoactive substances (NPS) appear on the illegal market as alternatives to controlled or illicit drugs. Such is the diversity and complexity of NPS that many users may not be aware of the substances' nature. The substituted phenethylamines 25I-NBOMe and 25I-NBOH are hallucinogenic NPS due to their agonistic effects on serotonin receptors. Several studies have shown the potential therapeutic use of hallucinogenic substances in mental conditions, including depression. However, there are no studies involving 25I-NBOMe and 25I-NBOH as possible antidepressants. In this sense, we evaluated their hallucinogenic and antidepressant effects in female Swiss mice on head twitch response (HTR) and immobility time, when evaluated in open field (OF) and forced swimming (FS) tests, respectively. For this, mice were treated with either 25I-NBOMe (0.3, 1 or 3 mg/Kg, i.p.), 25I-NBOH (0.3, 1 or 3 mg/Kg, i.p.), or vehicle (NaCl 0.9%+DMSO 0.3%), and immediately evaluated for 60 min in the OF. Alternatively, identically treated mice were subjected to FS after 40 min of treatment, when no changes in motor activity were observed. Our results show that both, 25I-NBOMe and 25I-NBOH, do not alter exploratory and anxiety-like behaviors in OF. However, they promote an increase in HTR in OF, indicating a hallucinogenic-like effect. In FS, only the lowest dose of 25I-NBOMe reduced immobility, indicating, for the first time, the antidepressant-like effect of the compound. These data increases evidence on the therapeutical potential of the use of hallucinogenic substances as antidepressants. Future studies are needed to further characterize 25I-NBOMe antidepressant-like effect, including alternative animal models and temporal evaluation.

Keywords: 25I-NBOMe, 25I-NBOH, hallucinogens, antidepressant

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO – 25I-NBOMe produz efeitos do tipo alucinogênico e antidepressivo em camundongos

| | | |
|-------------------|---|----|
| Figura 1 - | Protocolos Experimentais..... | 19 |
| Figura 2 - | Efeitos da administração intraperitoneal de 25I-NBOMe e 25I-NBOH no comportamento exploratório (cruzamentos e <i>rearing</i>) de camundongos <i>Swiss</i> fêmeas no teste do campo aberto (CA)..... | 22 |
| Figura 3 - | Efeitos da administração intraperitoneal de 25I-NBOMe e 25I-NBOH nos comportamentos relacionados à ansiedade (porcentagem de tempo nos compartimentos central e periférico) de camundongos <i>Swiss</i> fêmeas no teste do campo aberto (CA)..... | 23 |
| Figura 4 - | Efeitos da administração intraperitoneal de 25I-NBOMe e 25I-NBOH na resposta de contração da cabeça (HTR) de camundongos <i>Swiss</i> fêmeas no teste do campo aberto (CA)..... | 24 |
| Figura 5 - | Efeitos da administração intraperitoneal de 25I-NBOMe e 25I-NBOH na latência para imobilidade e imobilidade de camundongos <i>Swiss</i> fêmeas no teste de nado forçado (TNF)..... | 26 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|------------------|--|
| 25I-NBOH | 2-([2-(4-iodo-2,5-dimetoxifenil)etil]amino)metil)fenol |
| 25I-NBOMe | 2-(4-iodo-2,5-dimetoxifenil)-n-[(2-metoxifenil)metil]etanoamina |
| CA | Campo Aberto |
| EMCDDA | do inglês <i>European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction</i> (Observatório Europeu da Droga e da Toxicodependência) |
| HTR | do inglês <i>Head-Twitch Response</i> (resposta de contração da cabeça) |
| I.P. | Intraperitoneal |
| NPS | do inglês <i>New Psychoactive Substances</i> (novas substâncias psicoativas) |
| S.C. | Subcutânea |
| TNF | Teste do nado forçado |

SUMÁRIO

| | | |
|---------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 7 |
| 2 | OBJETIVOS | 9 |
| 2.1 | Objetivo Geral | 9 |
| 2.2 | Objetivos Específicos | 9 |
| 3. | ARTIGO | 10 |
| 3.1 | Introdução | 12 |
| 3.2 | Materiais e Método | 15 |
| 3.2.1 | Animais | 15 |
| 3.2.2 | Drogas | 15 |
| 3.2.3 | Determinação do Ciclo Estral | 16 |
| 3.2.4 | Testes Comportamentais | 16 |
| 3.2.4.1 | <i>Campo Aberto (CA)</i> | 16 |
| 3.2.4.2 | <i>Head-twitch response (HTR)</i> | 17 |
| 3.2.4.3 | <i>Teste do Nado Forçado (TNF)</i> | 17 |
| 3.2.5 | Protocolos Experimentais | 17 |
| 3.2.6 | Análises Estatísticas | 19 |
| 3.3 | Resultados | 21 |
| 3.3.1 | 25I-NBOMe e 25I-NBOH não alteram o comportamento exploratório no CA | 21 |
| 3.3.2 | 25I-NBOMe e 25I-NBOH não alteram os comportamentos relacionados à ansiedade no CA | 22 |
| 3.3.3 | 25I-NBOMe e 25I-NBOH promovem comportamentos do tipo alucinógeno | 23 |
| 3.3.4 | Baixa dose de 25I-NBOMe promove efeito do tipo antidepressivo . | 25 |
| 3.4 | Discussão | 27 |
| 4 | CONCLUSÕES | 34 |
| 5 | REFERÊNCIAS | 35 |
| | ANEXO 1. Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFAL) | 41 |

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a disponibilidade e o uso crescente de um grupo diversificado de substâncias psicoativas, mas comumente designadas por novas substâncias psicoativas (NPS, do inglês *new psychoactive substances*), tem-se tornado uma ameaça à saúde pública. As NPS foram concebidas como alternativas “legais” às drogas controladas tradicionalmente, uma vez que mimetizam os efeitos destas. No mercado ilegal, tamanha é a complexidade e natureza dinâmica das NPS que muito dos usuários não tem o real conhecimento da substância que está usando (Evans-Brown & Sedefov, 2017; King & Kicman, 2011). Só no final de 2020, o *European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction* (EMCDDA, 2021) monitorava em torno de 830 NPS, sendo 46 destas notificadas pela primeira vez na Europa.

As características farmacológicas e toxicológica das NPS são bastante heterogêneas, por isso a maior parte delas são comumente divididas em categorias, a saber, canabinóides sintéticos, estimulantes, alucinógenos e opioides (Halberstadt, 2017; Peacock et al., 2019). Dentro dessas categorias os alucinógenos têm-se destacado uma vez que, apesar de serem substâncias com potencial abuso, evidências emergentes têm surgido acerca de sua utilização com finalidades terapêuticas para cenários clínicos como a depressão (Garcia-Romeu et al., 2016). De fato, alguns estudos realizados com psicodélicos clássicos como a psilocibina (Davis et al., 2021; Griffiths et al., 2016) e a dimetiltriptamina (DMT) (Osório et al., 2015; Palhano-Fontes et al., 2019) já demonstraram efeitos positivos para o tratamento da depressão.

No grupo dos alucinógenos sintéticos, as substâncias são divididas em três grupos, sendo o maior deles representado pelas fenetilaminas. Dessas, destacam-se as da classe NBOMe (25I-NBOMe) e NBOH (25I-NBOH). A 25I-NBOMe foi a primeira NBOMe a surgir no mercado ilegal e a partir dela outras NBOMes foram produzidas e distribuídas nos meios ilícitos (Pokilis et al., 2015; Zawilska et al., 2020). Farmacologicamente, as NBOMes/NBOH agem como agonistas potentes dos receptores de serotonina, principalmente 5-HT_{2A} e 5-HT_{2C} (Arantes et al., 2017; Zawilska et al., 2020). De fato, já é sabido que o receptor 5-HT_{2A} é responsável por mediar efeitos alucinógenos (Pokilis et al., 2015).

Nesses aspectos, vale ressaltar a importância dos modelos animais nos estudos acerca da farmacologia de substâncias alucinógenas serotoninérgicas. Até o momento modelos comportamentais animais se enquadram como a principal metodologia utilizada

para a compreensão da farmacologia dos alucinógenos *in vivo* (Halberstadt & Geyer, 2018). Uma gama de paradigmas comportamentais animais já têm sido relatados na literatura para a investigação e avaliação de compostos alucinógenos (Kozlenkov & González-Maeso, 2013).

Os achados comportamentais envolvendo animais e 25I-NBOMe e, em uma menor quantidade, 25I-NBOH, são direcionados principalmente para investigações alucinógenas e locomotoras (Contreras et al. 2021; Elmore et al. 2018; Gatch et al. 2017; Halberstadt 2017). Dessa maneira, desperta-se uma necessidade para estudos que explorem outros parâmetros comportamentais. Partindo desses pressupostos e, sabendo que os alucinógenos têm se mostrado como uma alternativa promissora para a descoberta de novos fármacos voltados para o tratamento de depressão, buscamos investigar em nosso trabalho, além dos comportamentos alucinógeno e locomotor, a avaliação de um possível efeito antidepressivo das fenetilaminas 25I-NBOMe e 25I-NBOH.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos alucinógenos e antidepressivos das fenetilaminas substituídas 25I-NBOMe e 25I-NBOH em camundongos *Swiss* fêmeas.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar os efeitos da administração intraperitoneal dos compostos 25I-NBOMe e 25I-NBOH, nas doses de 0,3, 1 ou 3 mg/kg, nos comportamentos exploratório e relacionado à ansiedade em camundongos *Swiss* fêmeas no teste do campo aberto.
- Avaliar os efeitos da administração intraperitoneal dos compostos 25I-NBOMe e 25I-NBOH, nas doses de 0,3, 1 ou 3 mg/kg, na resposta de contração da cabeça (HTR, do inglês *head twitch response*) em camundongos *Swiss* fêmeas no teste do campo aberto.
- Avaliar os efeitos da administração intraperitoneal dos compostos 25I-NBOMe e 25I-NBOH, nas doses de 0,3, 1 ou 3mg/kg, na latência para imobilidade e imobilidade em camundongos *Swiss* fêmeas no teste do nado forçado.

3. ARTIGO

25I-NBOMe produz efeitos do tipo alucinogênico e antidepressivo em camundongos

Gabriela Ferreira de Souza¹, Josué Carinhanha Caldas Santos², Marcelo Duzzioni^{1*}

¹Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS), Universidade Federal de Alagoas. Avenida Lourival Melo Mota, S/N, Tabuleiro do Martins, Maceió – Alagoas, Brazil, 57072-970.

²Instituto de Química e Biotecnologia (IQB), Universidade Federal de Alagoas. Avenida Lourival Melo Mota, S/N, Tabuleiro do Martins, Maceió – Alagoas, Brazil, 57072-970.

Resumo

As fenetilaminas substituídas 25I-NBOMe e 25I-NBOH são novas substâncias psicoativas (NPS, do inglês new psychoactive substances) com efeitos alucinógenos devido às suas ações agonísticas nos receptores de serotonina. Vários estudos têm mostrado o uso potencial de substâncias alucinógenas para tratar condições mentais, como a depressão. Assim, avaliamos os efeitos alucinógenos e antidepressivos da administração intraperitoneal (i.p.) das fenetilaminas 25I-NBOMe e 25I-NBOH na resposta de contração da cabeça (HTR, do inglês head twitch response) e no tempo de imobilidade, quando avaliados nos testes do campo aberto (CA) e do nado forçado (TNF), respectivamente, em camundongos Swiss fêmeas. No CA também foram avaliados os comportamentos exploratório (cruzamentos e rearing) e os relacionados à ansiedade (tempo no compartimento central e periférico). Para isso, os animais foram tratados com 25I-NBOMe (0,3, 1 ou 3 mg/Kg, i.p.), ou 25I-NBOH (0,3, 1 ou 3 mg/Kg, i.p.), ou veículo (NaCl 0,9%+DMSO 0,3%) e, imediatamente após, submetidos e avaliados durante 60 minutos no teste do CA. Outros animais também foram tratados com 25I-NBOMe, ou 25I-NBOH ou veículo, nas mesmas doses e via que o experimento anterior, e, passados 40 minutos do tratamento (momento a partir do qual não há mais alteração na atividade motora), foram submetidos ao TNF. Nossos resultados demonstraram que ambas as substâncias 25I-NBOMe e 25I-NBOH não desencadearam alterações nos comportamentos exploratório e relacionados à ansiedade no CA. Entretanto, todas as doses das fenetilaminas substituídas promoveram um aumento na HTR no CA, indicando um efeito do tipo alucinógeno. No TNF, somente a dose mais baixa de 25I-NBOMe reduziu a imobilidade, indicando, pela primeira vez, um efeito do tipo antidepressivo desse composto. Esses dados nos trazem informações importantes para o potencial antidepressivo do tratamento agudo com 25I-NBOMe, bem como abre a possibilidade de estudos futuros que investiguem com mais propriedade, e.g., a utilização de outros modelos animais e a avaliação temporal, dessa ação antidepressiva da 25I-NBOMe, que aqui descrevemos pela primeira vez.

Palavras-chave: 25I-NBOMe, 25I-NBOH, alucinógenos, antidepressivo

1 Introdução

A utilização de drogas ilícitas constitui um grave e persistente problema de saúde pública, sobretudo pela atual tendência no uso recreativo das chamadas novas substâncias psicoativas (NPS). As NPS surgiram como alternativa às drogas ilícitas tradicionais e, embora não sejam um fenômeno recente, vêm crescendo quantitativamente. A cada ano uma gama de novos compostos são inseridos no mercado ilegal com o intuito de burlar as leis existentes, uma vez que essas substâncias não são detectadas por exames toxicológicos convencionais (Baumann, 2016; UNODC, 2013; Zawilska, J.B. et al., 2020).

De acordo com dados mais recentes do Relatório Europeu sobre Drogas, o *European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction* (EMCDDA, agência da União Europeia responsável por fornecer evidências científicas no que diz respeito a drogas e toxicodpendência) monitorava em 2020 cerca de em 830 NPS, sendo 46 destas notificadas pela primeira vez na Europa. Em 2021 o número de NPS monitoradas subiu para 884, sendo 52 substâncias notificadas pela primeira vez (EMCDDA, 2021, 2022).

Tamanha é a diversidade das NPS no mercado ilegal que comumente elas são divididas em classes de acordo com seus efeitos, sendo os principais designados pelos canabinóides, psicoestimulantes, alucinógenos e opioides (Halberstadt, A.L., 2017). Nesse vasto e diversificado grupo das NPS encontram-se, na categoria dos alucinógenos, as fenetilaminas da classe NBOMe (25I-NBOMe) e NBOH (25I-NBOH). A 25I-NBOMe foi a primeira NBOMe a surgir, posteriormente outras NBOMes foram produzidas e lançadas no mercado ilegal. A 25I-NBOH constitui o primeiro membro da série NBOH. NBOMes e NBOH possuem estruturas semelhantes e farmacologicamente atuam como

agonistas serotoninérgicos, sobretudo dos receptores 5-HT_{2A} e 5-HT_{2C}, apresentando efeitos alucinógenos semelhantes ao LSD (Coelho Neto et al., 2017; Rickili et al., 2015; Zawilska, J.B. et al., 2020).

Destaca-se que alucinógenos são, em geral, substâncias capazes de promover alterações temporárias profundas na percepção, no humor e na cognição, o que contribui para seu uso recreativo (Garcia-Romeu et al., 2016; Zawilska, J.B. et al., 2020). No entanto, vem crescendo as evidências acerca da utilização dessas substâncias com finalidade terapêutica para várias condições clínicas, dentre elas a depressão (Garcia-Romeu et al., 2016). A depressão além de configurar como um dos transtornos mentais mais prevalentes e incapacitantes do mundo, ainda apresenta uma farmacoterapia não ideal, pois os medicamentos atuais não conseguem tratar de forma eficaz e segura uma parcela dos pacientes, fatos que tornam necessárias as buscas de alternativas terapêuticas (Al Harbi, K.S., 2012; WHO, 2017).

É importante frisar que o processo de investigação e caracterização farmacológica das substâncias alucinógenas serotoninérgicas tem-se fundamentado, sobretudo, por meio da utilização de modelos animais. De fato, os estudos com modelos comportamentais animais têm contribuído para uma melhor compreensão acerca das ações dessas substâncias. Nas últimas décadas foram propostos uma gama de modelos animais e dentre eles os modelos de comportamentos incondicionados/inatos tem recebido uma atenção especial (Halberstadt & Geyer, 2018).

Na literatura alguns estudos comportamentais envolvendo animais e 25I-NBOMe e, em uma menor quantidade 25I-NBOH, são voltados sobretudo para a caracterização alucinógena e o comportamento exploratório (Contreras et al. 2021; Elmore et al. 2018; Gatch et al. 2017; Halberstadt 2017). Há uma necessidade de estudos que utilizem outros modelos animais que não envolvam somente a investigação de atividade alucinógena e

motora. Assim, propusemos investigar esses dois compostos não apenas em relação ao comportamento exploratório e alucinógeno, como também um possível efeito antidepressivo em camundongos. Pela primeira vez, nossos resultados demonstraram que a 25I-NBOMe apresenta efeito alucinógeno e antidepressivo, sendo este na menor dose testada.

2 Materiais e Métodos

2.1 Animais

Camundongos *Swiss* fêmeas (n=140) com 60 dias de idade (pesando 30-35 g) foram obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Alagoas (BIOCEN/UFAL). Os animais foram alojados em gaiolas coletivas (até 10 animais/gaiola; 41 x 34 x 16 cm) e mantidos em temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) e ciclo claro-escuro de 12h (com luzes acesas às 7h) controlados. Todos os animais tiveram comida e água disponíveis *ad libitum*, exceto durante os experimentos. Nossa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFAL (Protocolo nº 24/2020) de acordo com o Conselho Nacional de Controle da Experimentação com Animais (CONCEA). Antes de cada experimento, os camundongos foram habituados na sala de experimentos por pelo menos 1 h. Todos os experimentos foram realizados entre 12h00h e 18h00h.

2.2 Drogas

As seguintes substâncias foram utilizadas: 25I-NBOMe (2-(4-iodo-2,5-dimetoxifenil)-n-[(2-metoxifenil)metil]etanoamina); 25I-NBOH (2-([2-(4-iodo-2,5-dimetoxifenil)etil]amino)metil)fenol); e veículo (grupo controle) composto por solução salina (NaCl 0,9%) e dimetilsulfóxido (DMSO 0,3%). Os compostos 25I-NBOMe e 25I-NBOH foram diluídos no veículo nas doses de 0,3, 1 ou 3 mg/kg, conforme a literatura (Halberstadt, 2017). Os compostos 25I-NBOMe e 25I-NBOH foram sintetizados pelo Grupo de Estudos em Química Orgânica e Biológica (GEQOB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) (Alves de Barros, W. et al, 2021). Todas as soluções foram preparadas no mesmo dia do experimento para administração intraperitoneal (i.p.) em um volume de 10 mL/kg.

2.3 Determinação do Ciclo Estral

Para a determinação do ciclo estral, a coleta do lavado vaginal foi realizada imediatamente após os testes comportamentais no CA, conforme a metodologia adaptada de Byers et al. (2012). Para isso, os camundongos Swiss fêmeas foram cuidadosamente imobilizados sendo mantidos com a cauda suspensa e as patas dianteiras apoiadas sob a grade da gaiola. Cerca de 100 μ L de solução salina foram gentilmente inseridos na abertura do canal vaginal e em seguida empurrados para fora para a obtenção de uma amostra de células. O material resultante foi posto sob uma lâmina de microscópio e deixado secar em temperatura ambiente. Para coloração da lâmina foi utilizado o kit para coloração rápida em hematologia (Insta Prov Panotico, NewProv). Após as lâminas serem coradas, foram analisadas em microscópio biológico binocular (Bioval, L-1000B) no aumento de 10x. O estágio do ciclo estral foi aferido através da observação visual das células encontradas (leucócitos, células epiteliais cornificadas e células epiteliais nucleadas) (Byers et al., 2012). No nosso estudo, foi observado que os camundongos estavam na fase do ciclo de diestro (dados não mostrados).

2.4 Testes Comportamentais

2.4.1 Campo Aberto (CA)

O teste do CA (Insight[®], São Paulo, Brasil) foi realizado imediatamente após a administração das substâncias para avaliar o comportamento exploratório dos animais (Seibenhener & Wooten, 2015). O aparato foi feito de Plexiglas e consiste de uma arena circular de acrílico (30 cm de altura, 30 cm de diâmetro) com o piso dividido em oito partes. Os camundongos foram colocados individualmente no centro do CA e por um período de 60 minutos foram registrados o número de cruzamentos (linhas cruzadas com as quatro patas) e de *rearing* (o animal fica apoiado sobre as patas traseiras estendendo a cabeça para cima) (Prut & Belzung, 2003). Paralelamente aos parâmetros motores, foi medido o tempo que os animais permaneceram nos compartimentos central e periférico

do CA, um índice de ansiedade (Walsh & Cummins, 1976). Ao final do teste, o aparato foi cuidadosamente limpo com solução de etanol a 10%.

2.4.2 *Head-twitch response (HTR)*

A resposta de contração da cabeça (HTR) consiste em um movimento caracterizado por rápidos espasmos rotacionais e rítmicos da cabeça, que ocorrem em camundongos em resposta à ativação do receptor 5-HT_{2A}. Essa resposta imita nos animais o comportamento provocado em humanos por alucinógenos (Halberstadt et al., 2013; Hanks & González-Maeso, 2013) e foi descrita pela primeira vez em 1956 por Keller e Umbreit após a administração intravenosa de dietilamida do ácido lisérgico (LSD) em camundongos (Keller & Umbreit, 1956). O efeito do tipo alucinógeno foi avaliado simultaneamente aos outros parâmetros comportamentais avaliados no CA durante 60 minutos (Canal & Morgan, 2012).

2.4.3 *Teste do Nado Forçado (TNF)*

O TNF é frequentemente utilizado para avaliar novas substâncias com potencial ação do tipo antidepressiva (Can et al., 2012.). O TNF é sensível aos efeitos antidepressivos de substâncias que modulam a neurotransmissão serotoninérgica (Yankelevitch-Yahav et al., 2015). Passados 40 minutos do tratamento intraperitoneal com 25I-NBOMe e 25I-NBOH, os animais foram submetidos ao TNF por um período de 6 minutos. O comportamento foi filmado e os parâmetros avaliados foram a latência para imobilidade e a imobilidade nos últimos 4 minutos.

2.5 Protocolos Experimentais

Experimento 1. Para analisar os comportamentos exploratório e relacionados à ansiedade e a HTR, os animais foram tratados com 25I-NBOMe (0,3, 1 ou 3 mg/kg; i.p.),

25I-NBOH (0,3, 1 ou 3 mg/kg; i.p.) ou veículo (i.p.) e, imediatamente após, submetidos ao CA (Figura 1A), onde foram avaliados por 60 minutos. Quanto aos parâmetros avaliados: para o comportamento exploratório foram contados os números de cruzamentos e *rearings*; para os comportamentos relacionados à ansiedade o tempo gasto nos compartimentos central e periférico; e para o HTR o número de contrações da cabeça.

Experimento 2. Para analisar o efeito do tipo antidepressivo dos compostos NBOMe e 25I-NBOH, outros animais foram submetidos a uma sessão de treino no TNF, por 6 minutos, onde cada camundongo foi colocado individualmente em um béquer (2000 mL) com água, a um volume que impedia o animal de tocar o fundo do recipiente com as patas ou a cauda. A temperatura foi previamente medida com termômetro digital infravermelho (Matsuri[®] DT8380) e estabilizada a 26°C com aquecedor elétrico (WAB 1000 W). Ao final de cada sessão, o animal foi colocado em uma caixa com papel toalha e aquecido com o auxílio de uma lâmpada (40W), onde permaneceu até que a pelagem estivesse completamente seca. A água era sempre renovada e a temperatura estabilizada entre um animal e outro. Passadas 24h da sessão de treino, os animais foram tratados com 25I-NBOMe (0,3, 1 ou 3 mg/kg; ip), 25I-NBOH (0,3, 1 ou 3 mg/kg; ip) ou veículo (i.p.). Após 40 minutos do tratamento, os camundongos foram submetidos ao TNF para a sessão de teste durante 6 minutos (Figura 1B). Novamente cada animal foi colocado individualmente em um béquer com água, nas mesmas condições experimentais que a sessão treino, e os parâmetros comportamentais avaliados foram a latência para imobilidade e o tempo de imobilidade.

Todos os experimentos foram registrados com uma câmera de vídeo (Intelbras[®], Santa Catarina, Brasil; modelo VD 3108) posicionada 1 m acima do aparato comportamental e os registros foram posteriormente analisados por um avaliador cego.

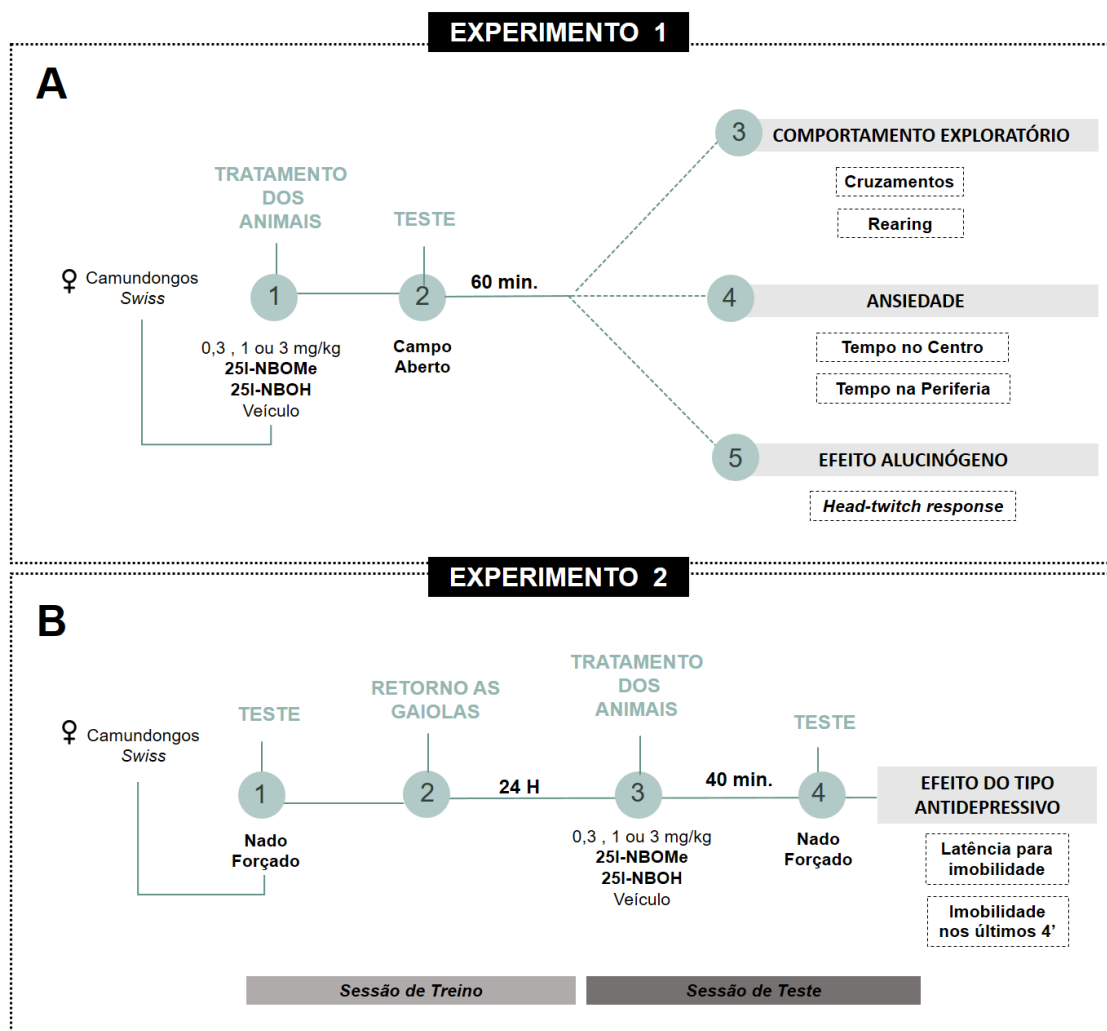


Figura 1. Protocolos experimentais. Em A, experimento 1 - avaliação dos comportamentos exploratório e relacionados à ansiedade e do efeito alucinógeno (HTR, *head-twitch response*) em camundongos *Swiss* fêmeas tratados com 25I-NBOME ou 25I-NBOH, nas doses de 0,3, 1 ou 3 mg/Kg, i.p., ou veículo e submetidos ao teste do campo aberto (CA). Em B, experimento 2 - avaliação do efeito antidepressivo dos compostos 25I-NBOME, 25I-NBOH ou veículo, nas mesmas doses e vias que o experimento anterior, em camundongos *Swiss* fêmeas submetidos ao teste do nado forçado (TNF). Fonte: Autora, 2023.

2.6 Análise Estatística

Todos os resultados foram expressos como média \pm Erro Médio Padrão (SEM). ANOVA de uma via seguida do teste post-hoc de Newman-Keuls e ANOVA de duas vias seguida do teste post-hoc de Holm-Sidak foram usados para avaliar as diferenças entre os

grupos experimentais. Assumimos $P < 0,05$ e $P < 0,01$ para determinar as diferenças estatísticas. Esses dados foram plotados no GraphPad Prism (Versão 8.0).

3 Resultados

3.1 25I-NBOMe e 25I-NBOH não alteram o comportamento exploratório no CA

No CA, a ANOVA de uma via demonstrou que o composto 25I-NBOMe não altera de maneira significativa o número total de cruzamentos ($F_{3, 36} = 1,93$; $P = \text{NS}$; Figura 2A) e de rearings ($F_{3, 36} = 2,08$; $P = \text{NS}$; Figura 2C). Entretanto, a Anova de duas vias demonstrou que o fator tratamento ($F_{3, 25} = 6,82$; $P = 0,01$) e o fator tempo ($F_{5, 216} = 57,84$; $P < 0,01$) influenciaram no número de cruzamentos, mas não na interação desses fatores ($F_{15, 216} = 1,04$; $P = 0,41$; Figura 2B). A análise post-hoc de Holm-Sidak's demonstrou alteração significativa entre o tratamento na maior dose (3 mg/Kg) e os tempos de 10 e 20 minutos, quando comparados ao grupo controle, indicando um aumento da atividade locomotora nos primeiros 20 minutos. Nos demais tempos e doses o post-hoc de Holm-Sidak's não detectou alterações significativas. Em relação ao composto 25I-NBOH, a ANOVA de uma via não detectou diferença significativa no número total de cruzamentos ($F_{3,36} = 1,16$; $P = \text{NS}$; Figura 2D) e de rearings ($F_{3,36} = 1,09$; $P = \text{NS}$; Figura 2F), quando comparados ao grupo controle. A Anova de duas vias demonstrou que somente o fator tempo ($F_{3,609, 129,9} = 127,6$; $P < 0,01$) influenciou o número de cruzamentos, mas não o fator tratamento ($F_{3, 6} = 5,16$; $P = 0,29$) e o fator interação ($F_{15,180} = 0,58$; $P = 0,89$; Figura 2E). Entretanto, a análise post-hoc de Holm-Sidak's não detectou alteração significativa entre os diferentes tratamentos no fator tempo.

Destaca-se que a partir do tempo de 30 minutos no CA os animais tratados com 25I-NBOMe e 25I-NBOH apresentaram um comportamento locomotor semelhante ao do veículo.

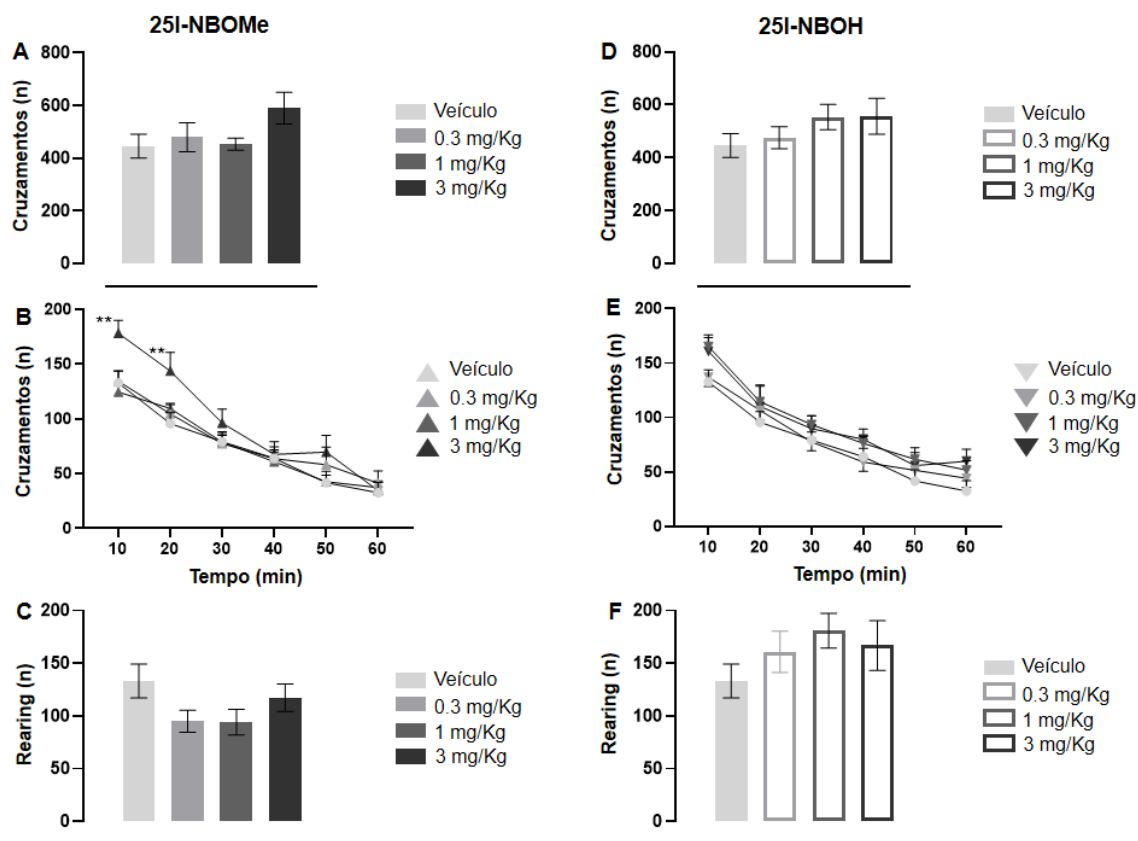


Figura 2. Efeitos da administração intraperitoneal de 25I-NBOMe e 25I-NBOH, nas doses de 0,3, 0,1 ou 3 mg/Kg, no comportamento exploratório (A e D, número de cruzamentos totais; B e E, número de cruzamentos totais em função do tempo; C e F, *rearing*) de camundongos *Swiss* fêmeas no teste do campo aberto (CA). Os dados representam a média \pm S.E.M. Foram utilizados 10 animais em cada grupo. NS, não significativo; ANOVA de uma via; ANOVA de duas vias seguida do teste post-hoc de Holm-Sidak, $**p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle.

3.2 25I-NBOMe e 25I-NBOH não alteram os comportamentos relacionados à ansiedade no CA

A ANOVA de uma via não detectou diferença significativa para os animais tratados com 25I-NBOMe e 25I-NBOH nos parâmetros porcentagem de tempo no centro (25I-NBOMe: $F_{3, 36} = 0,92$; $P = NS$; Figura 3A; 25I-NBOH: $F_{3, 36} = 1,07$; $P = NS$; Figura 3C) e na periferia (25I-NBOMe: $F_{3, 36} = 0,97$; $P = NS$; Figura 3B; 25I-NBOH:

F 3, 36 = 1,07; P = NS; Figura 3D) do CA, indicando ausência de efeitos nos comportamentos relacionados à ansiedade.

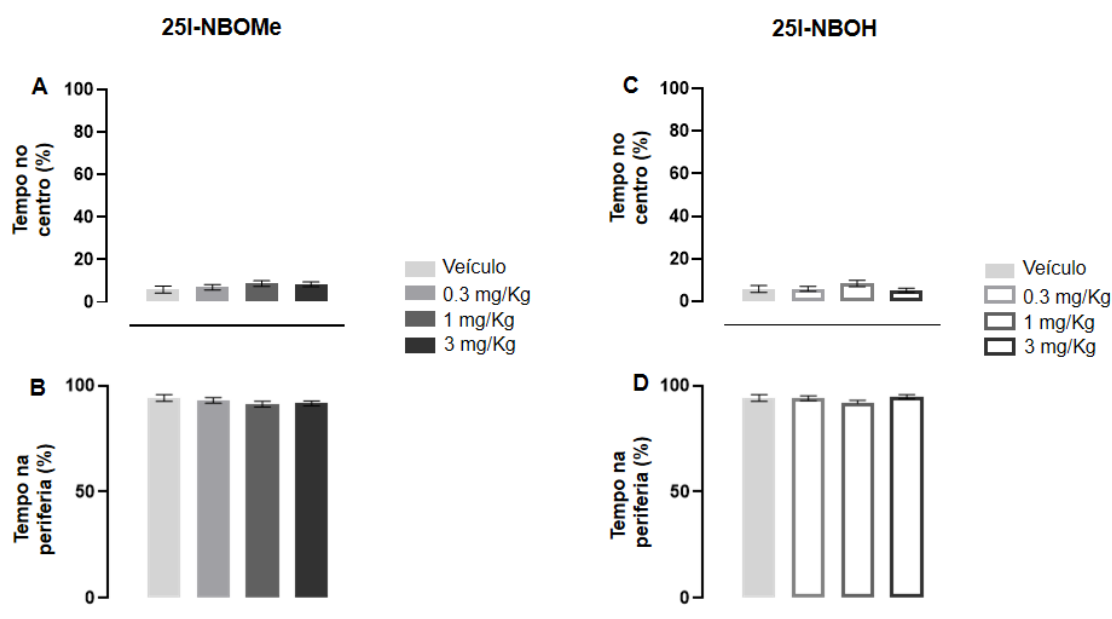


Figura 3. Efeitos da administração intraperitoneal de 25I-NBOMe e 25I-NBOH, nas doses de 0,3, 0,1 ou 3 mg/Kg, nos comportamentos relacionados à ansiedade (A e C, porcentagem de tempo no compartimento central; B e D, porcentagem de tempo no compartimento periférico) de camundongos *Swiss* fêmeas no teste do campo aberto (CA). Os dados representam a média \pm S.E.M. Foram utilizados 10 animais em cada grupo. NS, não significativo; ANOVA de uma via.

3.3 25I-NBOMe e 25I-NBOH promovem comportamentos do tipo alucinógeno

Para investigar a ação do tipo alucinógena dos compostos, a resposta de contração da cabeça (HTR) foi avaliada simultaneamente aos comportamentos exploratório e relacionados à ansiedade no CA. A Anova de uma via demonstrou diferença significativa na HTR entre os animais tratados com 25I-NBOMe ($F_{2, 27} = 9,14$; $P < 0,05$; Figura 4A) e 25I-NBOH ($F_{2, 27} = 6,51$, $P < 0,05$; Figura 4C), quando comparado ao grupo controle. O teste post-hoc de Newman-Keuls mostrou que todas as doses de 25I-NBOMe e 25I-NBOH aumentaram a HTR, indicando um efeito do tipo alucinógeno. Em relação a HTR em função do tempo para os animais tratados com 25I-NBOMe (Figura 4B), a Anova de duas vias demonstrou que o fator tratamento ($F_{3, 216} = 15,80$; $P < 0,01$) e o fator tempo

($F_{5, 216} = 4,57$; $P < 0,05$) influenciaram a HTR, mas não a interação desses fatores ($F_{15, 216} = 1,10$; $P = 0,35$). A análise post-hoc de Holm-Sidak's demonstrou que no tempo de 40 minutos todas as doses de 25I-NBOMe apresentam HTR maior que o grupo controle. Para os animais tratados com 25I-NBOH (Figura 4D), a Anova de duas vias demonstrou que o tratamento ($F_{3, 216} = 9,83$; $P < 0,01$) e o fator tempo ($F_{5, 216} = 6,75$; $P < 0,01$) alteraram a HTR, mas não a interação desses fatores ($F_{5, 216} = 1,30$; $P = 0,21$). A análise post-hoc de Holm-Sidak's também demonstrou que no tempo 40 minutos todas as doses de 25I-NBOH aumentaram a HTR. Destaca-se que neste momento a atividade locomotora dos animais não difere do grupo controle.

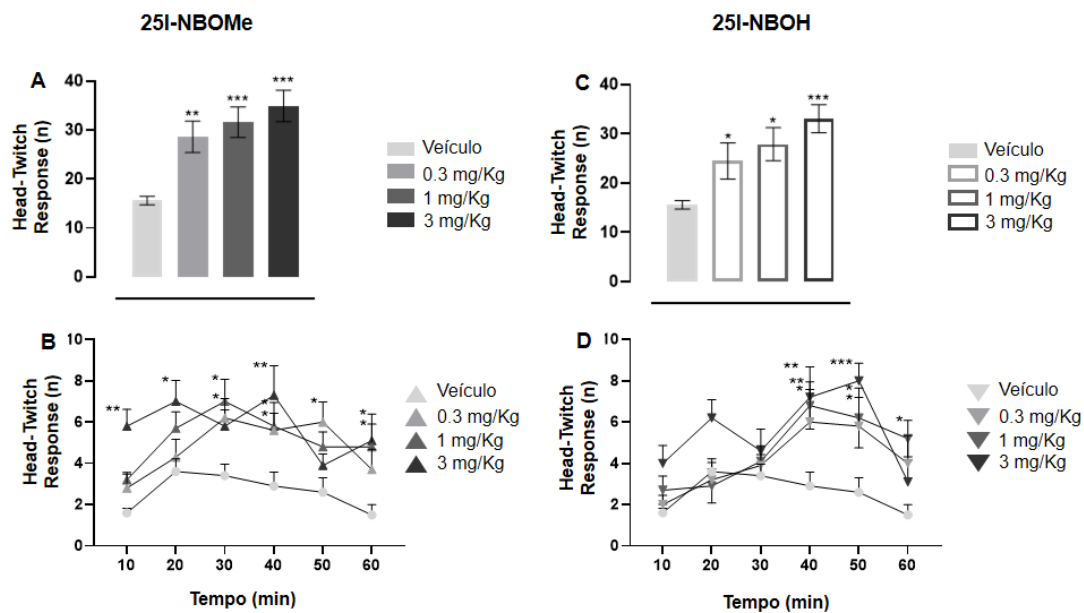


Figura 4. Efeitos da administração intraperitoneal de 25I-NBOMe e 25I-NBOH, nas doses de 0,3, 0,1 ou 3 mg/Kg, na resposta de contração da cabeça (A e C, HTR total; B e D, HTR em função do tempo) de camundongos Swiss fêmeas no teste do campo aberto (CA). Os dados representam a média \pm S.E.M. Foram utilizados 10 animais em cada grupo. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle; ANOVA de uma via seguida do teste post-hoc de Newman-Keuls ou ANOVA de duas vias seguida pelo teste post-hoc de Holm-Sidak.

3.4 Baixa dose de 25I-NBOMe promove efeito do tipo antidepressivo

A fim de investigar um possível efeito do tipo antidepressivo dos compostos 25I-NBOMe e 25I-NBOH, os animais foram submetidos ao TNF 40 minutos após os tratamentos. A escolha desse tempo foi feita com base nos resultados prévios do comportamento exploratório e da HTR no CA, optando-se pelo momento em que os animais manifestassem aumento no HTR, mas sem alteração motora.

A ANOVA de uma via demonstrou que o tratamento com 25I-NBOMe alterou a latência para imobilidade ($F_{3,35} = 4,56, P < 0,05$; Figura 5A) e a imobilidade nos últimos 4 minutos ($F_{3,35} = 3,48, P < 0,05$; Figura 5B). O teste post-hoc de Newman-Keuls mostrou que somente a menor dose de 25I-NBOMe (0,3 mg/Kg) promoveu um aumento na latência para imobilidade e uma redução na imobilidade nos últimos quatro minutos, quando comparados ao grupo controle, indicando um efeito do tipo antidepressivo. Entretanto, para o composto 25I-NBOH a ANOVA de uma via não detectou nenhuma diferença significativa na latência para imobilidade ($F_{3,36} = 2,41, P = \text{NS}$; Figura 5C) e a imobilidade nos últimos 4 minutos ($F_{3,36} = 0,32, P = \text{NS}$; Figura 5D) comparado ao grupo controle.

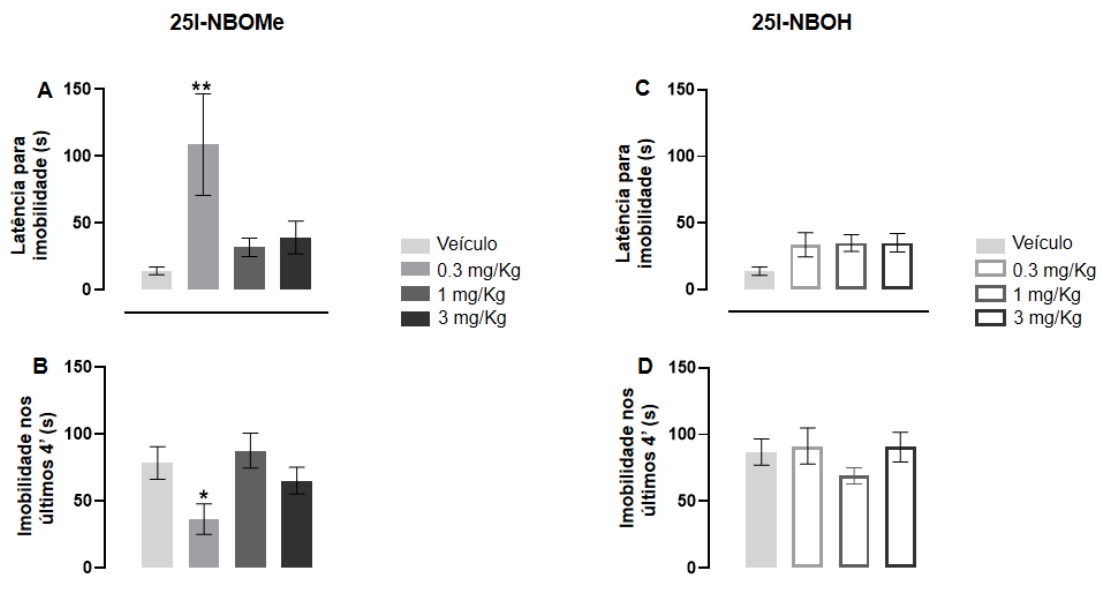


Figura 5. Efeitos da administração intraperitoneal de 25I-NBOMe e 25I-NBOH, nas doses de 0,3, 0,1 ou 3 mg/Kg, na latência para imobilidade (A e C) e imobilidade (B e D) de camundongos *Swiss* fêmeas no teste de nado forçado (TNF). Os dados representam a média \pm S.E.M. 9-10 animais em cada grupo. * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle; ANOVA de uma via seguida do teste post-hoc de Newman-Keuls.

4 Discussão

Nossos resultados demonstraram que ambos os compostos, 25I-NBOMe e 25I-NBOH, não alteraram o comportamento exploratório no CA e apresentaram efeito do tipo alucinógeno. Ainda no CA, ambos os compostos não alteraram os parâmetros relativos à ansiedade quanto ao tempo em que os animais gastaram no centro e na periferia do aparato. Pela primeira vez, nossos resultados demonstram um efeito do tipo antidepressivo para a 25I-NBOMe, sem alteração da atividade motora dos animais.

Na literatura, os achados acerca do composto 25I-NBOMe na atividade locomotora depende da dose, da via de administração, da duração do tratamento e da espécie animal. De fato, a administração intraperitoneal de 25I-NBOMe em camundongos C57BL/6J machos, na mesma faixa de doses que utilizamos em nossos experimentos, não altera a atividade locomotora (Halberstadt, 2017), corroborando com nossos resultados. Entretanto, a administração subcutânea de 25I-NBOMe promove um efeito dose-dependente, com a dose baixa (0,1 mg/Kg) aumentando e a dose mais alta (3 mg/Kg) reduzindo a atividade locomotora (Halberstadt, 2017).

Ainda com o tratamento subcutâneo, mas agora subcrônico (7 dias), a administração de 25I-NBOMe na dose de 0,3 mg/Kg diminui a atividade locomotora em ratos, expresso como tempo de caminhada (Herian et al., 2021). Gatch et al. (2017) observaram que a administração aguda de 25I-NBOMe (2,5–25 mg/Kg, i.p.) em camundongos produz um efeito depressor na locomoção 10 minutos após o tratamento e dura de 30 a 90 minutos. Esse mesmo estudo também demonstrou que outras NBOMes, *e.g.*, 25B-NBOMe e 25C-NBOMe, suprimiram a atividade locomotora (Gatch et al., 2017).

Como pode ser observado, os efeitos da 25I-NBOMe na atividade locomotora são bastante variáveis. Contudo, é importante ressaltar que pequenas diferenças durante os procedimentos experimentais podem influenciar no comportamento do animal e consequentemente alterar os resultados. Variedade de linhagens e espécies, sexo, condições de alojamentos, número de testes realizados e o horário dos testes são alguns dos fatores que contribuem para diferentes respostas na reprodução de um mesmo experimento por distintos laboratórios (Saré et al., 2021).

Diferentemente da 25I-NBOMe, os resultados sobre os efeitos motores da 25I-NBOH são escassos. Recentemente, um estudo realizado por Contreras et al. (2021) demonstrou que a administração aguda intraperitoneal de uma dose muito baixa de 25I-NBOH (1.429 µg/kg) em camundongos não altera a distância total percorrida e a velocidade média no CA. Mais estudos são necessários para verificar se os efeitos motores do composto 25I-NBOH podem variar dependendo, *e.g.*, da espécie, da dose e da via de administração.

No CA também foram avaliados comportamentos relacionados à ansiedade. Nossos resultados demonstraram que os compostos 25I-NBOMe e 25I-NBOH não alteraram os parâmetros de porcentagem de tempo nos compartimentos central e periférico do aparato, indicando ausência de efeito na ansiedade. Os roedores quando colocados no centro do CA espontaneamente preferem a periferia, as paredes do aparato, evitando a região central, um comportamento denominado de tigmotaxia (Prut & Belzung, 2003). Cameron et al. (2018) demonstraram que ratos tratados com o alucinógeno serotoninérgico N,N-dimetiltriptamina (DMT), o principal componente da ayahuasca, não apresentaram diferenças na tigmotaxia quando submetidos ao CA. Entretanto, quando esses mesmos animais são tratados com DMT e submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado apresentam comportamentos do tipo ansiogênico, ao

permanecerem menos tempo e reduzirem as entradas nos braços abertos do aparato (Cameron et al., 2018).

No CA, a maior predileção pelo compartimento periférico reflete um comportamento do tipo ansiogênico, uma vez que drogas ansiolíticas suprimem a tigmotaxia (Treit & Fundytus, 1988). Contudo, em nosso estudo para melhor caracterizar possíveis alterações dos compostos 25I-NBOMe e 25I-NBOH nos comportamentos relacionados à ansiedade, seria necessário a realização de um teste mais específico, como o do labirinto em cruz elevado, um dos testes mais populares na atualidade.

Os compostos 25I-NBOMe e 25I-NBOH aumentaram a resposta de contração de cabeça (HTR), indicando um efeito do tipo alucinogênico. Nossos resultados corroboram com os encontrados por Halberstadt e Geyer (2014) para o 25I-NBOMe administrado por via subcutânea, nas doses de 0,03 – 1 mg/Kg, e por Contreras et al. (2021) para o 25I-NBOH administrado por via intraperitoneal, na dose de 1.429 µg/kg, ambos em camundongos. Adicionalmente, Elmore et al. (2018) demonstraram em ratos que o tratamento subcutâneo de 25I-NBOMe, nas doses de 0,01 – 0,3 mg/Kg, e de outros NBOMes evocaram movimentos de cabeça, pescoço e tronco comumente traduzido como *wet dog shakes* (WDS), equivalente ao comportamento de HTR em camundongos (Halberstadt, 2015).

A HTR é um movimento que ocorre em camundongos como resposta à ativação do receptor 5-HT_{2A} (Halberstadt & Geyer, 2014; Hanks & González-Maeso, 2013). De fato, camundongos nocaute para o receptor 5-HT_{2A} não manifestam HTR em resposta aos compostos psicodélicos (Gonzalez-Maeso et al., 2007; Keiser et al., 2009). A HTR mimetiza nos animais o comportamento de alucinógenos em humanos (Halberstadt & Geyer, 2014; Hanks & González-Maeso, 2013). Ressalta-se que os modelos animais comportamentais não são capazes de conceber as alterações de percepção, cognição e

humor que são produzidas por alucinógenos em humanos. Contudo, roedores podem manifestar proxies comportamentais de efeitos alucinógenos humanos. A administração sistêmica de alucinógenos em roedores pode desencadear uma variedade de efeitos incondicionados dentre os quais tem-se a HTR (Gonzalez-Maeso et al., 2007).

Farmacologicamente, alguns estudos já demonstram que os compostos da classe das NBOMes atuam, sobretudo, como agonista do receptor de serotonina 5-HT_{2A} e apresenta uma alta afinidade de ligação *in vitro* para os receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} e 5-HT_{2C}. Paralelamente, esses estudos também destacam que os compostos da classe das NBOMes são bastante potentes para esses mesmos receptores serotoninérgicos (Elmore et al., 2018; Juncosa et al., 2013; Rickli et al., 2015). Destaca-se que essa potência surgiu mediante a adição do grupo N-benzil às fenetilaminas, desencadeando o aparecimento de uma nova classe de alucinógenos denominada N-benzil fenetilaminas; NBOMes (Braden et al., 2006). De fato, quando comparadas aos seus compostos quimicamente relacionados de fenetilamina 2C, as NBOMes apresentam uma maior incidência de alucinações e delírios em humanos (Srisuma et al., 2015), bem como se mostram mais potentes na indução de HTR em modelo animal (Halberstadt & Geyer, 2014).

As evidências convergentes indicam que o receptor 5-HT_{2A} é o principal responsável por mediar a alucinogênese (Halberstadt, 2015). Contudo, além desse papel no comportamento alucinógeno, o receptor 5-HT_{2A} também tem sido relacionado a processos complexos de cognição e memória, bem como na fisiologia de transtornos afetivos, como a depressão e seu tratamento (Kyriakou et al., 2015). No mecanismo patológico da depressão, já é sabido a importância das monoaminas. De fato, a maior parte das terapias atuais voltadas para a depressão concentram-se em moduladores diretos da concentração de monoaminas ou inibidores indiretos da recaptação de monoaminas. Dentre os moduladores, baseado nos dados farmacológicos e nas descobertas da química

medicinal, os que regulam a concentração de serotonina são enfatizados como eficazes no tratamento de transtornos depressivos (Zieba et al., 2022). A partir disso, estendemos nossa pesquisa para avaliar o comportamento dos animais no TNF, um modelo amplamente utilizado para a triagem de drogas antidepressivas e no qual substâncias antidepressivas serotoninérgicas aumentam o tempo de natação dos animais (Yankelevitch-Yahav et al., 2015).

Nossos resultados demonstraram pela primeira vez que o composto 25I-NBOMe apresenta um efeito do tipo antidepressivo no TNF. Tais resultados são interessantes, pois demonstram um efeito agudo, apresentando uma alternativa ao problema dos fármacos atuais que necessitam de semanas para iniciar o efeito antidepressivo. Em contrapartida, o composto 25I-NBOH não alterou nenhum dos parâmetros avaliados no TNF, indicando ausência de efeito na depressão. Estudos prévios tem demonstrado que compostos alucinógenos apresentam efeitos antidepressivos. De fato, Cameron et al. (2018) demonstraram que a administração de DMT diminuiu o tempo de imobilidade no TNF, indicando um efeito do tipo antidepressivo. Outros compostos psicodélicos serotoninérgicos como a mescalina (Agin-Liebes et al., 2021) e a psilocibina (Carhart-Harris, R.L. et al. 2016) também reduzem os efeitos depressivos em humanos.

A utilização de substâncias alucinógenas como provável tratamento para condições de saúde não é recente. Desde os tempos mais remotos, os compostos psicodélicos serotoninérgicos já eram usados na medicina tradicional e em cerimônias e práticas religiosas (Nichols, 2016). No século XX a descoberta do LSD constituiu inicialmente uma ferramenta importante para tratamento no campo da psiquiatria, bem como impulsionou uma série de estudos e pesquisas científicas até os anos iniciais da década de 1970, quando os psicodélicos passaram a ser ilegais e as pesquisas foram cessadas (Garcia-Romeu et al., 2016). Atualmente, com o renascimento das pesquisas

clínicas com alucinógenos, um grande número de estudos vêm evidenciando a utilização de psicodélicos serotoninérgicos como uma nova abordagem terapêutica para uma variedade de condições médicas e psicológicas, como a depressão (Nichols, 2016; Tupper et al., 2015).

De fato, a depressão é um importante problema de saúde pública, o qual nos últimos anos tem-se compreendido como um dos transtornos mentais mais prevalentes e incapacitantes, com perdas significativas para a saúde, afetando sobretudo mulheres. Estima-se que antes da pandemia de COVID-19 cerca de 193 milhões de pessoas tenham sido acometidas com transtornos depressivos. Com a pandemia, este quantitativo saltou para 246 milhões de pessoas afetadas, um aumento de 28% em apenas um ano (Seedat, S. et al., 2009; WHO, 2017, 2022).

As intervenções atualmente utilizadas para o tratamento dessa condição dividem-se em tratamentos não-farmacológicos e farmacológicos. Dentre as abordagens não-farmacológicas a psicoterapia, o exercício físico e a Terapia Eletroconvulsiva (TEC), especialmente para os indivíduos resistentes ao tratamento convencional, tem-se destacados como benéficas (Dogaru et al., 2022). A combinação de um tratamento não-farmacológico com farmacológico, psicoterapia e farmacoterapia respectivamente, mostram-se eficazes no tratamento da depressão (Kamenov, K. et al., 2017).

Contudo, no que diz respeito às abordagens farmacológicas, a farmacoterapia atual apresenta pontos negativos bastantes pertinentes, a saber, efeitos colaterais indesejados, resposta inicial lenta e altos custos. Somado-se a essas questões ainda há uma parcela significativa dos indivíduos em tratamento que não conseguem obter respostas satisfatórias ou são resistentes aos antidepressivos usuais. Frente a esses desafios e a tentativa de superá-los, a busca e descoberta de novos tratamentos

farmacológicos tornam-se fundamentais (Al-Harbi, K.S, 2012; Trautmann, S. et al., 2016).

Estudar acerca do potencial terapêutico dos compostos psicodélicos, entender seus mecanismos neurofarmacológicos e resultados clínicos, podem contribuir para o desenvolvimento de novos tratamentos menos dispendiosos e mais eficazes para os transtornos depressivos. De fato, as evidências preliminares das terapias com agentes psicodélicos já demonstram que necessitam de um menor tempo de intervenção e, como consequência, podem vir a ser economicamente mais acessíveis quando comparados aos tratamentos disponíveis na atualidade (Tupper, K.W. et al., 2015). Além disso, vale a pena ressaltar que a literatura também já traz um estudo bastante otimista para o tratamento de depressão com alucinógeno serotoninérgico, a psilocibina, voltado para indivíduos resistentes ao tratamento (Carhart-Harris, R.L. et al. 2016).

Dessa maneira, nossos dados com as fenetilaminas 25I-NBOMe e 25I-NBOH trazem informações importantes para uma melhor compreensão dessas substâncias. Além disso, relatamos um efeito do tipo antidepressivo da 25I-NBOMe em animais, até o momento não descrito na literatura. Nossos achados abrem a possibilidades de estudos que investiguem com mais especificidade essa propriedade antidepressiva da 25I-NBOMe que descrevemos pela primeira vez em modelo animal. A partir da perspectiva desses estudos espera-se que futuramente a 25I-NBOMe possa servir como designer para o desenvolvimento de um novo fármaco ou até mesmo como uma possível alternativa terapêutica para o tratamento da depressão.

4. CONCLUSÕES

Nossos resultados demonstraram pela primeira vez um efeito do tipo antidepressivo da administração aguda da fenetilamina 25I-NBOMe (0,3 mg/Kg) em camundongos *Swiss* fêmeas. Este achado foi visto nos animais sem alteração da atividade locomotora espontânea. Para a 25I-NBOH foi possível demonstrar que sua administração aguda também não desencadeou alteração da atividade locomotora. Por fim, ambas as substâncias evocaram um efeito do tipo alucinógeno nos animais, evidenciando que de fato trabalhamos com uma substância psicoativa. Diante desses achados abrem-se as possibilidades de investigações mais aprofundadas acerca dessas substâncias, sobretudo do efeito antidepressivo que encontramos na 25I-NBOMe. Como perspectiva, novos experimentos pré-clínicos deverão ser realizados a fim de estender tais resultados. Esperamos que esta substância possa tornar-se futuramente uma alternativa farmacológica promissora para o tratamento da depressão.

5. REFERÊNCIAS

- Agin-Liebes, G., Haas, T. F., Lancelotta, R., Uthaug, M. V., Ramaekers, J. G., & Davis, A. K. (2021). Naturalistic Use of Mescaline Is Associated with Self-Reported Psychiatric Improvements and Enduring Positive Life Changes. *ACS Pharmacology and Translational Science*, 4(2), 543–552. <https://doi.org/10.1021/acspsci.1c00018>
- Al-Harbi, K. S. (2012). Treatment-resistant depression: therapeutic trends, challenges, and future directions. *Patient Preference and Adherence*, 369. doi:10.2147/ppa.s29716
- Alves de Barros, W., Queiroz, M. P., da Silva Neto, L., Borges, G. M., Martins, F. T., & de Fátima, Â. (2021). Synthesis of 25X-BOMes and 25X-NBOHs (X = H, I, Br) for pharmacological studies and as reference standards for forensic purposes. *Tetrahedron Letters*, 66, 152804. doi:10.1016/j.tetlet.2020.152804
- Arantes, L. C., Júnior, E. F., de Souza, L. F., Cardoso, A. C., Alcântara, T. L. F., Lião, L. M., Machado, Y., Lordeiro, R. A., Neto, J. C., & Andrade, A. F. B. (2017). 25I-NBOH: a new potent serotonin 5-HT_{2A} receptor agonist identified in blotter paper seizures in Brazil. *Forensic Toxicology*, 35(2), 408–414. <https://doi.org/10.1007/s11419-017-0357-x>
- Braden, M. R., Parrish, J. C., Naylor, J. C., & Nichols, D. E. (2006). Molecular interaction of serotonin 5-HT_{2A} receptor residues Phe339(6.51) and Phe340(6.52) with superpotent N-benzyl phenethylamine agonists. *Molecular Pharmacology*, 70(6), 1956–1964. <https://doi.org/10.1124/mol.106.028720>
- Baumann M. H. (2016). The Changing Face of Recreational Drug Use. *Cerebrum : the Dana forum on brain science*, 2016, cer-01-16.
- Byers, S.L., Wiles, M. v., Dunn, S.L., Taft, R.A. (2012). Mouse estrous cycle identification tool and images. *PLoS ONE* 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035538>
- Cameron, L. P., Benson, C. J., Dunlap, L. E., & Olson, D. E. (2018). Effects of N, N-Dimethyltryptamine on Rat Behaviors Relevant to Anxiety and Depression. *ACS Chemical Neuroscience*, 9(7), 1582–1590. <https://doi.org/10.1021/acscemneuro.8b00134>
- Can, A., Dao, D. T., Arad, M., Terrillion, C. E., Piantadosi, S. C., & Gould, T. D. (2012.). The Mouse Forced Swim Test. *J. Vis. Exp*, 59, 3638. <https://doi.org/10.3791/3638>
- Canal, C. E., & Morgan, D. (2012). Head-twitch response in rodents induced by the hallucinogen 2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine: a comprehensive history, a re-evaluation of mechanisms, and its utility as a model. In *Drug testing and analysis* (Vol. 4, Issues 7–8, pp. 556–576). <https://doi.org/10.1002/dta.1333>
- Carhart-Harris, R. L., Bolstridge, M., Rucker, J., Day, C. M., Erritzoe, D., Kaelen, M.,

- Bloomfield, M., Rickard, J. A., Forbes, B., Feilding, A., Taylor, D., Pilling, S., Curran, V. H., & Nutt, D. J. (2016). Psilocybin with psychological support for treatment-resistant depression: an open-label feasibility study. *The lancet. Psychiatry*, *3*(7), 619–627. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)30065-7](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)30065-7)
- Coelho Neto, J., Andrade, A. F. B., Lordeiro, R. A., Machado, Y., Elie, M., J., Ferrari-Júnior, E. & Arantes, L. C. (2017). Preventing misidentification of 25I-NBOH as 2C-I on routine GC–MS analyses. *Forensic Toxicol* **35**, 415–420. <https://doi.org/10.1007/s11419-017-0362-0>
- Contreras, A., Khumnark, M., Hines, R. M., & Hines, D. J. (2021). Behavioral arrest and a characteristic slow waveform are hallmark responses to selective 5-HT_{2A} receptor activation. *Scientific Reports*, *11*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81552-6>
- Davis, A. K., Barrett, F. S., May, D. G., Cosimano, M. P., Sepeda, N. D., Johnson, M. W., Finan, P. H., & Griffiths, R. R. (2021). Effects of Psilocybin-Assisted Therapy on Major Depressive Disorder: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Psychiatry*, *78*(5), 481–489. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2020.3285>
- Dogaru, I. A., Puiu, M. G., Manea, M., & Dionisie, V. (2022). Current Perspectives on Pharmacological and Non-Pharmacological Interventions for the Inflammatory Mechanism of Unipolar Depression. *Brain sciences*, *12*(10), 1403. <https://doi.org/10.3390/brainsci12101403>
- Elmore, J. S., Decker, A. M., Sulima, A., Rice, K. C., Partilla, J. S., Blough, B. E., & Baumann, M. H. (2018). Comparative neuropharmacology of N-(2-methoxybenzyl)-2,5-dimethoxyphenethylamine (NBOMe) hallucinogens and their 2C counterparts in male rats. *Neuropharmacology*, *142*, 240–250. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.02.033>
- European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (2021), European Drug Report 2021: Trends and Developments, *Publications Office of the European Union*, Luxembourg
- European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (2022), New psychoactive substances: 25 years of early warning and response in Europe. An update from the EU Early Warning System (June 2022), *Publications Office of the European Union*, Luxembourg
- Evans-Brown, M., & Sedefov, R. (2016). New psychoactive substances: driving greater complexity into the drug problem. *Addiction*, *112*(1), 36–38. doi:10.1111/add.13528
- Garcia-Romeu, A., Kersgaard, B., & Addy, P. H. (2016). Clinical applications of hallucinogens: A review. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, *24*(4), 229–268. <https://doi.org/10.1037/pha0000084>
- Gatch, M. B., Dolan, S. B., & Forster, M. J. (2017). Locomotor and discriminative stimulus effects of four novel hallucinogens in rodents. *Behavioural Pharmacology*,

- González-Maeso, J., Weisstaub, N. V., Zhou, M., Chan, P., Ivic, L., Ang, R., Lira, A., Bradley-Moore, M., Ge, Y., Zhou, Q., Sealfon, S. C., & Gingrich, J. A. (2007). Hallucinogens recruit specific cortical 5-HT(2A) receptor-mediated signaling pathways to affect behavior. *Neuron*, *53*(3), 439–452. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.01.008>
- Griffiths, R. R., Johnson, M. W., Carducci, M. A., Umbricht, A., Richards, W. A., Richards, B. D., Cosimano, M. P., & Klinedinst, M. A. (2016). Psilocybin produces substantial and sustained decreases in depression and anxiety in patients with life-threatening cancer: A randomized double-blind trial. *Journal of Psychopharmacology*, *30*(12), 1181–1197. <https://doi.org/10.1177/0269881116675513>
- Halberstadt, A. L. (2015). Recent advances in the neuropsychopharmacology of serotonergic hallucinogens. *Behavioural Brain Research*, *277*, 99–120. doi:10.1016/j.bbr.2014.07.016
- Halberstadt, A. L. (2017). Pharmacology and toxicology of N-benzylphenethylamine (“NBOMe”) hallucinogens. In *Current Topics in Behavioral Neurosciences* (Vol. 32, pp. 283–311). Springer Verlag. https://doi.org/10.1007/7854_2016_64
- Halberstadt, A. L., & Geyer, M. A. (2014). Effects of the hallucinogen 2,5-dimethoxy-4-iodophenethylamine (2C-I) and superpotent N-benzyl derivatives on the head twitch response. *Neuropharmacology*, *77*, 200–207. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.08.025>
- Halberstadt, A. L., & Geyer, M. A. (2018). Effect of hallucinogens on unconditioned behavior. In *Current Topics in Behavioral Neurosciences* (Vol. 36, pp. 159–199). Springer Verlag. https://doi.org/10.1007/7854_2016_466
- Halberstadt, A. L., Powell, S. B., & Geyer, M. A. (2013). Role of the 5-HT_{2A} receptor in the locomotor hyperactivity produced by phenylalkylamine hallucinogens in mice. *Neuropharmacology*, *70*, 218–227. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.01.014>
- Hanks, J. B., & González-Maeso, J. (2013). Animal models of serotonergic psychedelics. In *ACS Chemical Neuroscience* (Vol. 4, Issue 1, pp. 33–42). <https://doi.org/10.1021/cn300138m>
- Herian, M., Skawski, M., Wojtas, A., Sobocińska, M. K., Noworyta, K., & Gołombiowska, K. (2021). Tolerance to neurochemical and behavioral effects of the hallucinogen 25I-NBOMe. *Psychopharmacology*, *238*(8), 2349–2364. <https://doi.org/10.1007/s00213-021-05860-5>
- Juncosa, J. I., Hansen, M., Bonner, L. A., Cueva, J. P., Maglathlin, R., McCorvy, J. D., Marona-Lewicka, D., Lill, M. A., & Nichols, D. E. (2013). Extensive rigid analogue design maps the binding conformation of potent N -benzylphenethylamine 5-HT_{2A}

serotonin receptor agonist ligands. *ACS Chemical Neuroscience*, 4(1), 96–109. <https://doi.org/10.1021/cn3000668>

Kamenov, K., Twomey, C., Cabello, M., Prina, A. M., Ayuso-Mateos, J. L. (2017). The efficacy of psychotherapy, pharmacotherapy and their combination on functioning and quality of life in depression: a meta-analysis. *Psychological Medicine*, 47(3):414-425. doi:10.1017/S0033291716002774

Keiser, M. J., Setola, V., Irwin, J. J., Laggner, C., Abbas, A. I., Hufeisen, S. J., Jensen, N. H., Kuijter, M. B., Matos, R. C., Tran, T. B., Whaley, R., Glennon, R. A., Hert, J., Thomas, K. L. H., Edwards, D. D., Shoichet, B. K., & Roth, B. L. (2009). Predicting new molecular targets for known drugs. *Nature*, 462(7270), 175–181. <https://doi.org/10.1038/nature08506>

Keller, D. L., & Umbreit, W. W. (1956). “Permanent” Alteration of Behavior in Mice by Chemical and Psychological Means. *Science*, 124(3225), 723–724. doi:10.1126/science.124.3225.723

King, L. A., & Kicman, A. T. (2011). A brief history of “new psychoactive substances”. *Drug Testing and Analysis*, 3(7-8), 401–403. doi:10.1002/dta.319

Kozlenkov, A., & González-Maeso, J. (2013). Animal models and hallucinogenic drugs. In *The Neuroscience of Hallucinations* (pp. 253–277). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4121-2_14

Kyriakou, C., Marinelli, E., Frati, P., Santurro, A., Afxentiou, M., Zaami, S., Busardo, F. P., & Busardò, F. P. (2015). *NBOMe: new potent hallucinogens-pharmacology, analytical methods, toxicities, fatalities: a review*.

Nichols, D. E. (2016). Psychedelics. *Pharmacological Reviews*, 68(2), 264–355. <https://doi.org/10.1124/pr.115.011478>

Osório, F. L., Sanches, R. F., Macedo, L. R., dos Santos, R. G., Maia-De-Oliveira, J. P., Wichert-Ana, L., de Araujo, D. B., Riba, J., Crippa, J. A., & Hallak, J. E. (2015). Antidepressant effects of a single dose of ayahuasca in patients with recurrent depression: A preliminary report. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 37(1), 13–20. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2014-1496>

Palhano-Fontes, F., Barreto, D., Onias, H., Andrade, K. C., Novaes, M. M., Pessoa, J. A., Mota-Rolim, S. A., Osório, F. L., Sanches, R., Dos Santos, R. G., Tófoli, L. F., De Oliveira Silveira, G., Yonamine, M., Riba, J., Santos, F. R., Silva-Junior, A. A., Alchieri, J. C., Galvão-Coelho, N. L., Lobão-Soares, B., Araújo, D. B. (2019). Rapid antidepressant effects of the psychedelic ayahuasca in treatment-resistant depression: A randomized placebo-controlled trial. *Psychological Medicine*, 49(4), 655–663. <https://doi.org/10.1017/S0033291718001356>

Peacock, A., Bruno, R., Gisev, N., Degenhardt, L., Hall, W., Sedefov, R., White, J., Thomas, K. V., Farrell, M., & Griffiths, P. (2019). New psychoactive substances: challenges for drug surveillance, control, and public health responses. In *The Lancet*

(Vol. 394, Issue 10209, pp. 1668–1684). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32231-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32231-7)

- Poklis, J. L., Raso, S. A., Alford, K. N., Poklis, A., & Peace, M. R. (2015). Analysis of 25I-NBOMe, 25B-NBOMe, 25C-NBOMe and Other Dimethoxyphenyl-N-(2-Methoxyphenyl) Methyl]Ethanamine Derivatives on Blotter Paper. *Journal of Analytical Toxicology*, 39(8), 617–623. doi:10.1093/jat/bkv073
- Prut, L., & Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: A review. In *European Journal of Pharmacology* (Vol. 463, Issues 1–3, pp. 3–33). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01272-X](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01272-X)
- Rickli, A., Luethi, D., Reinisch, J., Buchy, D., Hoener, M. C., & Liechti, M. E. (2015). Receptor interaction profiles of novel N-2-methoxybenzyl (NBOMe) derivatives of 2,5-dimethoxy-substituted phenethylamines (2C drugs). *Neuropharmacology*, 99, 546–553. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.08.034>
- Saré, R. M., Lemons, A., & Smith, C. B. (2021). Behavior Testing in Rodents: Highlighting Potential Confounds Affecting Variability and Reproducibility. *Brain sciences*, 11, 4 522. 20. doi:10.3390/brainsci11040522
- Seedat, S., Scott, K. M., Angermeyer, M. C., et al. (2009). Cross-national associations between gender and mental disorders in the World Health Organization World Mental Health Surveys. *Arch Gen Psychiatry*, 66(7):785-795. doi:10.1001/archgenpsychiatry.2009.36
- Seibenhener, M. L., & Wooten, M. C. (2015). Use of the Open Field Maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 96. <https://doi.org/10.3791/52434>
- Srisuma, S., Bronstein, A. C., & Hoyte, C. O. (2015). NBOMe and 2C substitute phenylethylamine exposures reported to the National Poison Data System. *Clinical Toxicology*, 53(7), 624–628. <https://doi.org/10.3109/15563650.2015.1054502>
- Trautmann, S., Rehm, J., & Wittchen, H. (2016). The economic costs of mental disorders. *EMBO Reports*, 17(9), 1245–1249. doi:10.15252/embr.201642951
- Treit, D. & Fundytus, M. (1988) Thigmotaxis as a test for anxiolytic activity in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **31**, 959–962. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2011.07.0180>
- Tupper, K. W., Wood, E., Yensen, R., & Johnson, M. W. (2015). Psychedelic medicine: a re-emerging therapeutic paradigm. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*, 187(14), 1054–1059. <https://doi.org/10.1503/cmaj.141124>
- United Nations Office on Drugs and Crime. (2013) The challenge of new psychoactive substances. A report from the Global SMART Programme. Vienna: United Nations

Office on Drugs and Crime.

Walsh, R. N., & Cummins, R. A. (1976). The Open-Field Test: A Critical Review. In *Psychological Bulletin* (Vol. 83, Issue 3).

World Health Organization (WHO) (2017). Depression and other common mental disorders: global health estimate. *World Health Statistics*, p. 1-24. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254610/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acessado em 10 mar 2022

World Health Organization (WHO) (2022). World mental health report: transforming mental health for all. Geneva: World Health Organization; 2022.

Yankelevitch-Yahav, R., Franko, M., Huly, A., & Doron, R. (2015). The forced swim test as a model of depressive-like behavior. *Journal of Visualized Experiments*, 2015(97). <https://doi.org/10.3791/52587>

Zawilska, J. B., Kacela, M., & Adamowicz, P. (2020). NBOMes—Highly Potent and Toxic Alternatives of LSD. In *Frontiers in Neuroscience* (Vol. 14). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00078>

Zięba, A., Stepnicki, P., Matosiuk, D., & Kaczor, A. A. (2022). Overcoming depression with 5-HT_{2A} receptor ligands. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Issue 1). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23010010>

ANEXO 1. Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFAL).



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

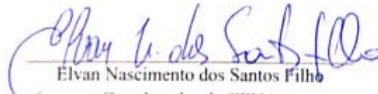


CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliar os efeitos alucinógenos e antidepressivos da administração intraperitoneal das fenetilaminas substituídas 25I-NBOMe e 25I-NBOH nos testes de head twitch response (HTR), de comportamento exploratório e do nado forçado em camundongos Swiss fêmeas", registrada com o nº 24/2020, sob a responsabilidade do pesquisador **Prof. Dr. Marcelo Duzzioni**, que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), **para fins de pesquisa científica**, 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 da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Alagoas (CEUA/UFAL), em reunião de 13 de outubro de 2020.

| | |
|----------------------------|--|
| Vigência da autorização | 21.12.2020 a 20.12.2021 |
| Espécie/linhagem/raça | Camundongo heterogênico Swiss |
| Nº de animais | 140 |
| Peso/idade | 35 g / 3 m |
| Sexo | Fêmeas |
| Origem/Local de manutenção | Biocen - Ufal / LNFI - ICBS - Ufal |
| Colaboradores | Gabriela F. de Souza, Walleska B. Z. G. Barros, Fernanda M. A. de Souza, José G. S. Neto e Rayssa G. D. Torres |

Maceió, 19 de outubro de 2020.


Elvan Nascimento dos Santos Filho
Coordenador da CEUA
SIAPE 1756479