

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Farmácia
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Ivo Souza Ferraz de Melo

**ATIVIDADES DO HÍBRIDO FTALIMÍDICO DOADOR DE SULFETO DE
HIDROGÊNIO, 2-(2-(4-TIOXO-3H-1,2-DITIOL-5-IL)FENOXI)ETIL)ISOINDOL-1,3-
TIONA, EM MODELOS DE DOR E INFLAMAÇÃO**

Belo Horizonte

2022

Ivo Souza Ferraz de Melo

**ATIVIDADES DO HÍBRIDO FTALIMÍDICO DOADOR DE SULFETO DE
HIDROGÊNIO, 2-(2-(4-TIOXO-3H-1,2-DITIOL-5-IL)FENOXI)ETIL)ISOINDOL-1,3-
TIONA, EM MODELOS DE DOR E INFLAMAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Márcio de Matos Coelho
Coorientador: Prof. Dr. Renes de Resende Machado.

Belo Horizonte

2022

M528a	<p>Melo, Ivo Souza Ferraz de.</p> <p>Atividades do híbrido ftalimídico doador de sulfeto de hidrogênio, 2-(2-(4-tioxo-3h-1,2-ditio-5il)fenoxi)etil)isoindol-1-3-tiona, em modelos de dor e inflamação [recurso eletrônico] / Ivo Souza Ferraz de Melo. – 2022.</p> <p>1 recurso eletrônico (157 f. : il.) : pdf</p> <p>Orientador: Márcio de Matos Coelho. Coorientador: Renes de Resende Machado.</p> <p>Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências de Farmacêuticas.</p> <p>Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.</p> <p>1. Sulfeto de hidrogênio – Teses. 2. Agentes anti-inflamatórios – Teses. 3. Dor – Teses. 4. Inflamação – Teses. 5. Edema – Teses. I. Coelho, Márcio de Matos. II. Machado, Renes de Resende. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD: 616.0472</p>
-------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Elaborado por Leandro da Conceição Borges – CRB-6/3448



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ATA DA DEFESA DE TESE DO ALUNO IVO SOUZA FERRAZ DE MELO

Realizou-se, no dia 21 de dezembro de 2022, às 08:00 horas, em formato remoto, a 173ª defesa de tese, intitulada **ATIVIDADES DO HÍBRIDO FTALIMÍDICO DOADOR DE SULFETO DE HIDROGÊNIO, 2-(2-(4-TIOXO-3H-1,2-DITIOL-5-IL)FENOXI)ETIL)ISOINDOL-1,3-TIONA, EM MODELOS DE DOR E INFLAMAÇÃO**, apresentada por IVO SOUZA FERRAZ DE MELO, número de registro 2018710030, graduado no curso de FARMÁCIA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Márcio de Matos Coelho - Orientador (UFMG), Prof(a). Renes de Resende Machado (UFMG), Prof(a). Isabela da Costa César (UFMG), Prof(a). Elias Borges do Nascimento Júnior (UFDPar), Prof(a). Caryne Margotto Bertollo (UFMG), Prof(a). Raquel Silva Araújo (UFOP).

A Comissão considerou a tese:

Aprovada

Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.
Belo Horizonte, 21 de dezembro de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Isabela da Costa Cesar, Professora do Magistério Superior**, em 21/12/2022, às 13:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renes de Resende Machado, Professor do Magistério Superior**, em 21/12/2022, às 13:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Elias Borges do Nascimento Junior, Usuário Externo**, em 21/12/2022, às 13:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Raquel Silva Araújo, Usuário Externo**, em 21/12/2022, às 13:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Caryne Margotto Bertollo, Professora do Magistério Superior**, em 21/12/2022, às 19:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcio de Matos Coelho, Chefe de departamento**, em 21/12/2022, às 19:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site

[https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0)

[acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Maria Vitória e Ivonito, aos meus irmãos, Isadora e Ivan, e à minha família, especialmente a Dona Laura, à Vó Deja e à Tia Lia, pelo apoio.

À Geise, por todo companheirismo e paciência, e por tudo temos vivido.

Aos professores e ex-professores, funcionários e ex-funcionários, alunos e ex-alunos laboratório de Farmacologia e do PPGCF/UFMG, pela amizade, colaboração e auxílio. Em especial, aos orientadores Márcio de Matos Coelho e Renes de Resende Machado, pelos ensinamentos, colaboração, paciência e amizade.

Aos professores, alunos e funcionários dos laboratórios colaboradores, Laboratório de Química Orgânica do Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas e Laboratório de Controle de Qualidade da Faculdade de Farmácia, essenciais ao desenvolvimento do projeto.

À Maria Adelaide Fernandes e ao José Batista Viturino, pelo profissionalismo, cooperação e grande apoio.

À CAPES, FAPEMIG, CNPq e PRPq/UFMG pelo apoio financeiro.

À minha cidade natal Jacinto-MG e os amigos de lá.

RESUMO

Os análogos ftalimídicos são substâncias que possuem atividades em diversos modelos experimentais e são derivados do anel ftalimida, também presente na estrutura da talidomida. O sulfeto de hidrogênio (H₂S) é um mediador gasoso que modula diversos processos fisiológicos e patológicos, incluindo a inflamação e a dor. Ensaio pré-clínicos têm demonstrado que os análogos ftalimídicos e doadores de H₂S inibem a liberação de mediadores inflamatórios, a alodínia mecânica e o edema inflamatório. O desenvolvimento de moléculas híbridas ftalimídicas ou doadoras de H₂S, sintetizadas a partir do acoplamento a uma estrutura com atividades anteriormente demonstradas, constitui uma importante ferramenta visando ao aumento das atividades das substâncias precursoras. Uma estratégia anteriormente utilizada pelo nosso grupo de pesquisa foi a síntese e a avaliação das atividades de uma substância ftalimídica doadora de óxido nítrico, outro mediador gasoso. Desta forma, no presente estudo, usando uma estratégia semelhante, foi sintetizado um híbrido ftalimídico doador de H₂S, 2-(2-(4-tioxo-3H-1,2-ditioil-5-il)fenoxi)etil)isoindol-1,3-tiona (FTD-H₂S), e suas atividades foram avaliadas em modelos de inflamação e dores nociceptiva, neuropática e inflamatória, bem como os possíveis mecanismos envolvidos nessas atividades. A administração *per os* de FTD-H₂S (125 ou 250 mg/kg) reduziu a alodínia mecânica induzida por carragenina ou lipopolissacarídeo e o edema de pata induzido por carragenina. A administração de FTD-H₂S por via intraperitoneal (25 mg/kg) inibiu a alodínia mecânica e a produção de fator de necrose tumoral- α , interleucina (IL)-1 β e IL-6 induzidas por carragenina ou por lipopolissacarídeo (LPS) e o edema de pata induzido por carragenina. Os efeitos inibitórios induzidos pelo FTD-H₂S sobre a alodínia mecânica e a produção de IL-1 β e IL-6 induzidas por carragenina ou LPS foram revertidos pela administração prévia de hidroxocobalamina (300 mg/kg). A administração prévia de glibenclamida (40 mg/kg), um bloqueador de canais K_{ATP}, também reverteu a atividade do FTD-H₂S no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS. Foi observado, ainda, que o FTD-H₂S (25 mg/kg) apresentou atividade de maior magnitude que seus precursores, 5-(4-hidroxifenil)-3H-1,2-ditioilano-3-tiona e 2-ftalimidoetanol (quando administrados em doses equimolares), e o NaHS (8 mg/kg) no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS. Concluindo, os resultados do presente estudo demonstram a atividade do FTD-H₂S em modelos de inflamação e dor inflamatória. Os resultados indicam como possíveis mecanismos do FTD-H₂S a liberação de H₂S, a redução da produção de citocinas e a ativação de canais K_{ATP}. A demonstração dessas atividades em modelos de dor e inflamação indica que híbridos ftalimídicos doadores de H₂S representam candidatos a fármacos úteis no manejo de condições inflamatórias.

Palavras-chave: sulfeto de hidrogênio; análogos ftalimídicos; dor; nocicepção; inflamação; edema.

ABSTRACT

Phthalimide analogues are substances that exhibit activities in several experimental models and present the phthalimide ring, which is also present in the structure of thalidomide. Hydrogen sulfide (H₂S) is a gaseous mediator that modulates several physiological and pathological processes, including inflammation and pain. Preclinical assays have shown that phthalimide analogues and H₂S donors inhibit the release of inflammatory mediators, mechanical allodynia and inflammatory edema. The development of phthalimide or H₂S-releasing hybrids constitutes an important strategy aiming to obtain molecules with increased activities. Our research group previously synthesized and evaluated the activities of a phthalimide analogue that donates nitric oxide, another gaseous mediator. Thus, in the present study, a H₂S-releasing phthalimide hybrid, 2-(2-(4-thioxo-3H-1,2-dithiole-5-yl) phenoxy)ethyl)isoindole-1,3-thione (PTD-H₂S), was synthesized and their activities and putative mechanisms were evaluated in models of inflammation and nociceptive, neuropathic and inflammatory pain. *Per os* administration of PTD-H₂S (125 or 250 mg/kg) reduced carrageenan- or lipopolysaccharide (LPS)-induced mechanical allodynia, and carrageenan-induced paw edema. Intraperitoneal administration of PTD-H₂S (25 mg/kg) reduced mechanical allodynia and tumor necrosis factor- α , interleukin (IL)-1 β and IL-6 production induced by carrageenan or LPS, as well as carrageenan-induced paw edema. The inhibitory effects induced by PTD-H₂S on mechanical allodynia and IL-1 β and IL-6 production induced by carrageenan or LPS were reversed by prior administration of hydroxocobalamin (300 mg/kg). Previous administration of glibenclamide (40 mg/kg), a K_{ATP} channel blocker, also reversed PTD-H₂S activity in the model of mechanical allodynia induced by LPS. It was also observed that PTD-H₂S (25 mg/kg) showed greater activity than its precursors, 5-(4-hydroxyphenyl)-3H-1,2-dithiole-3-thione and β -hydroxyethylphthalimide (at equimolar doses), and NaHS (8 mg/kg), in the model of mechanical allodynia induced by LPS. In conclusion, the results of the present study demonstrate the activity of PTD-H₂S in models of inflammation and inflammatory pain. Putative mechanisms mediating the effects of PTD-H₂S include the release of H₂S, reduction of cytokine production and the activation of K_{ATP} channels. The demonstration of these activities in models of pain and inflammation indicates that H₂S-releasing phthalimide hybrids represent candidates to drugs useful in the management of inflammatory conditions.

Keywords: hydrogen sulfide; phthalimide analogues; pain; nociception; inflammation; edema.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da talidomida	16
Figura 2 - Exemplos de substâncias ou híbridos ftalimídicos	20
Figura 3 - Exemplos de doadores de H₂S	23
Figura 4 - Estrutura química da ADT-OH	31
Figura 5 - Estrutura química do FTD-H₂S	35
Figura 6 - Reação do método de azul de metileno para quantificação de H₂S	45
Figura 7 - Escala temporal de avaliação da coordenação motora	46
Figura 8 - Escala temporal de avaliação da resposta nociceptiva induzida por calor	47
Figura 9 - Escala temporal de avaliação da alodínia mecânica induzida por paclitaxel	48
Figura 10 - Escala temporal de avaliação da alodínia mecânica induzida por carragenina ou LPS	49
Figura 11 - Escala temporal de avaliação dos efeitos induzidos pelo FTD-H₂S ou NaHS sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina ou LPS em animais previamente tratados com hidroxocobalamina	49
Figura 12 - Escala temporal de avaliação dos efeitos induzidos pelo FTD-H₂S sobre a alodínia mecânica induzida por LPS em animais previamente tratados com glibenclamida ou naltrexona	50
Figura 13 - Escala temporal de avaliação do edema de pata induzido por carragenina	51
Figura 14 - Liberação de H₂S pelo FTD-H₂S pelo método de azul de metileno	54
Figura 15 - Efeitos induzidos por FTD-H₂S <i>p.o.</i> e dipirona sobre o tempo de permanência dos camundongos na placa quente	55
Figura 16 - Efeitos induzidos por FTD-H₂S <i>p.o.</i> e pregabalina sobre a alodínia mecânica induzida por paclitaxel	56
Figura 17 - Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S <i>p.o.</i> sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina	58
Figura 18 - Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S <i>p.o.</i> sobre a alodínia mecânica induzida por LPS	60
Figura 19 - Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S <i>p.o.</i> sobre o edema de pata induzido por carragenina	61

Figura 20 - Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S por via i.p. sobre o tempo de permanência dos camundongos na placa quente	62
Figura 21 - Efeito induzido pelo FTD-H₂S por via i.p. sobre a alodínia mecânica induzida por paclitaxel	63
Figura 22 - Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S por via i.p. sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina	64
Figura 23 - Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S por via i.p. sobre a alodínia mecânica induzida por LPS	65
Figura 24 - Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S por via i.p. sobre o edema de pata induzido por carragenina	66
Figura 25 - Efeitos induzidos por FTD-H₂S, ADT-OH ou FTD-OH sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina	69
Figura 26 - Efeitos induzidos por FTD-H₂S, ADT-OH ou FTD-OH sobre a alodínia mecânica induzida por LPS	70
Figura 27 - Efeitos induzidos pela hidroxocobalamina sobre a atividade do FTD-H₂S e NaHS em modelo de alodínia mecânica induzida por carragenina	72
Figura 28 - Efeitos induzidos pela hidroxocobalamina sobre a atividade do FTD-H₂S e NaHS em modelo de alodínia mecânica induzida por LPS	74
Figura 29 - Efeito induzido pelo FTD-H₂S sobre produção de citocinas induzida por carragenina	76
Figura 30 - Efeito induzido pela hidroxocobalamina sobre a atividade inibitória do FTD-H₂S sobre a produção de citocinas induzida por carragenina	78
Figura 31 - Efeito induzido pelo FTD-H₂S sobre produção de citocinas induzida por LPS ...	80
Figura 32 - Efeito induzido pela hidroxocobalamina sobre a atividade inibitória do FTD-H₂S sobre a produção de citocinas induzida por LPS	82
Figura 33 - Efeitos induzidos pela naltrexona e glibenclamida sobre a atividade do FTD-H₂S em modelo de alodínia mecânica induzida por LPS	84

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO DA LITERATURA	12
2.1	Dor e inflamação	12
2.2	Talidomida e análogos ftalimídicos	15
2.2.1	<u>Híbridos ftalimídicos</u>	18
2.3	Sulfeto de hidrogênio	21
2.3.1	<u>Atividades anti-inflamatória e antinociceptiva do H₂S</u>	22
2.3.1.1	<i>Dor e inflamação e produção endógena de H₂S</i>	23
2.3.1.2	<i>Hidrossulfeto de sódio e sulfeto de sódio</i>	24
2.3.1.3	<i>Reagente de Lawesson e GYY4137</i>	26
2.3.1.4	<i>Isotiocianatos</i>	28
2.3.1.5	<i>Benzotiamidas</i>	29
2.3.1.6	<i>Outros doadores de H₂S</i>	29
2.3.1.7	<i>Híbridos doadores de H₂S</i>	30
2.4	Híbridos ftalimídicos liberadores de gasotransmissores	33
3	JUSTIFICATIVA	36
4	OBJETIVOS	37
4.1	Objetivo geral	37
4.2	Objetivos específicos	37
5	MATERIAL E MÉTODOS	38
5.1	Animais experimentais	38
5.2	Fármacos, reagentes e veículos	38
5.3	Preparo das soluções e suspensões, doses e vias de administração	40
5.3.1	<u>Veículos</u>	40
5.3.2	<u>FTD-H₂S</u>	41
5.3.3	<u>NaHS, FTD-OH e ADT-OH</u>	41
5.3.4	<u>Hidroxocobalamina, glibenclamida e naltrexona</u>	41

5.3.5	<u>Estímulos inflamatórios/nociceptivos</u>	42
5.3.6	<u>Dexametasona, dipirona, fenobarbital e pregabalina</u>	43
5.3.7	<u>Soluções usadas para quantificação de H₂S</u>	43
5.3.8	<u>Soluções usadas nos ensaios para a determinação das concentrações de citocinas (ELISA)</u>	44
5.4	Quantificação de H₂S	45
5.5	Avaliação da atividade motora	46
5.6	Avaliação da resposta nociceptiva induzida por calor	46
5.7	Avaliação da alodínia mecânica induzida por paclitaxel	47
5.8	Avaliação da alodínia mecânica induzida por carragenina ou LPS	48
5.8.1	<u>Avaliação dos efeitos induzidos pela hidroxocobalamina sobre as atividades do FTD-H₂S e NaHS no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS ou carragenina</u>	49
5.8.2	<u>Avaliação dos efeitos induzidos pela glibenclamida ou naltrexona sobre a atividade do FTD-H₂S no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS</u>	50
5.9	Avaliação do edema de pata induzido por carragenina	50
5.10	Quantificação de citocinas	51
5.11	Análise estatística	53
6	RESULTADOS	54
6.1	Liberação de H₂S pelo FTD-H₂S <i>in vitro</i>	54
6.2	Efeitos induzidos pela administração <i>p.o.</i> do FTD-H₂S em modelos de dor e inflamação	54
6.2.1	<u>Efeito induzido pelo FTD-H₂S em modelo de dor nociceptiva</u>	55
6.2.2	<u>Efeito induzido pelo FTD-H₂S em modelo de dor neuropática</u>	55
6.2.3	<u>Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S em modelos de dor inflamatória</u>	57
6.2.4	<u>Efeito induzido pelo FTD-H₂S em modelo de edema inflamatório</u>	60
6.3	Efeitos induzidos pela administração <i>i.p.</i> do FTD-H₂S em modelos de dor e inflamação	62
6.3.1	<u>Efeito induzido pelo FTD-H₂S em modelo de dor nociceptiva</u>	62
6.3.2	<u>Efeito induzido pelo FTD-H₂S em modelo de dor neuropática</u>	63
6.3.3	<u>Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S em modelos de dor inflamatória</u>	64

6.3.4	<u>Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S em modelo de edema inflamatório</u>	66
6.4	Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S p.o. e por via i.p. sobre a atividade motora	67
6.5	Atividade do FTD-H₂S em modelos de dor inflamatória e possíveis mecanismos envolvidos	68
6.5.1	<u>Efeito induzido pelo FTD-H₂S e precursores sobre alodínia mecânica induzida por carragenina</u>	68
6.5.2	<u>Efeito induzido pelo FTD-H₂S e precursores sobre alodínia mecânica induzida por LPS</u>	69
6.5.3	<u>Efeito induzido pelo hidroxocobalamina sobre as atividades do FTD-H₂S e NaHS no modelo de alodínia mecânica induzida por carragenina</u>	70
6.5.4	<u>Efeito induzido pelo hidroxocobalamina sobre as atividades do FTD-H₂S e NaHS no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS</u>	73
6.5.5	<u>Efeito induzido pelo FTD-H₂S sobre a produção de TNF-α, IL-1β e IL-6 induzida por carragenina</u>	75
6.5.5.1	<i>Efeito induzido pela hidroxocobalamina sobre a atividade inibitória do FTD-H₂S na produção de TNF-α, IL-1β e IL-6 induzida por carragenina</i>	77
6.5.6	<u>Efeito induzido pelo FTD-H₂S sobre a produção de TNF-α, IL-1β e IL-6 induzida por LPS</u>	79
6.5.6.1	<i>Efeito induzido pela hidroxocobalamina sobre a atividade inibitória do FTD-H₂S na produção de TNF-α, IL-1β e IL-6 induzida por LPS</i>	81
6.5.7	<u>Efeito induzido pela glibenclamida e naltrexona sobre a atividade do FTD-H₂S no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS</u>	83
7	DISCUSSÃO	85
7.1	Caracterização das atividades do FTD-H₂S em modelos de dor e inflamação	85
7.1.1	<u>Atividade do FTD-H₂S em modelos de dor</u>	86
7.1.2	<u>Atividade do FTD-H₂S em modelo experimental de inflamação aguda</u> ..	90
7.2	Atividades do FTD-H₂S e mecanismos envolvidos	92
7.3	Limitações	100
7.4	Perspectivas	101
8	CONCLUSÃO	103
	REFERÊNCIAS	104

APÊNDICES	151
------------------------	------------

1 INTRODUÇÃO

A dor e a inflamação são processos geralmente relacionados entre si e, embora sirvam como sistemas de alerta e proteção ao organismo, muitas vezes, necessitam de serem controlados, pelo fato de poderem estar envolvidos no desenvolvimento de doenças e na redução da qualidade de vida. Embora existam diversos fármacos disponíveis para alívio da dor e atenuação dos sinais e sintomas da inflamação, a busca por novas alternativas farmacoterapêuticas com melhores perfis de eficácia e segurança é constante.

Nesse contexto, o desenvolvimento e avaliação de novas substâncias em modelos de dor e inflamação é frequente. Mais especificamente, o desenvolvimento de substâncias híbridas, sintetizadas a partir de duas unidades químicas com atividades anteriormente demonstradas, é uma estratégia que vem tendo destaque, com a possibilidade de obtenção de moléculas que interagem com múltiplos alvos e apresentam atividades de maior interesse.

As substâncias ftalimídicas ou análogos ftalimídicos são substâncias derivadas do anel ftalimida, presente na estrutura da talidomida. Vários desses análogos apresentam atividades em modelos de dor e inflamação. Outra importante classe de substâncias são os doadores de sulfeto de hidrogênio (H₂S). O H₂S é um mediador que modula diversos processos biológicos, o que tem levado a um interesse crescente na investigação de moléculas que liberam esse gás em diferentes modelos experimentais, incluindo modelos de dor e inflamação.

Anteriormente, o grupo de pesquisa do presente estudo demonstrou que uma substância ftalimídica doadora de óxido nítrico, outro mediador gasoso, apresenta atividades em modelos de dor e inflamação. Desta forma, no presente estudo, usando uma estratégia semelhante, foi sintetizado um híbrido ftalimídico doador de H₂S, 2-(2-(4-tioxo-3*H*-1,2-ditioil-5-il)fenoxi)etil)isoindol-1,3-tiona (FTD-H₂S), e suas atividades foram avaliadas em modelos de inflamação e dores nociceptiva, neuropática e inflamatória, bem como os possíveis mecanismos envolvidos nessas atividades.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Dor e inflamação

A dor é definida, segundo a *International Association for the Study of Pain*, como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a (ou semelhante àquela associada a) uma lesão tecidual real ou potencial (RAJA *et al.*, 2020). A dor é uma das experiências mais comuns na população e é, provavelmente, o sintoma que mais frequentemente leva pacientes a procurar assistência médica (LOESER e MELZACK, 1999). Woolf (2004; 2010) propôs uma categorização, baseada nos estímulos e mecanismos neuroquímicos envolvidos, que consiste em dores nociceptiva, neuropática, disfuncional e inflamatória.

A nocicepção consiste no processo pelo qual os estímulos nocivos são detectados, codificados e processados pelo sistema nervoso (BARROT, 2012) e, embora ajude a elucidar de diversos mecanismos envolvidos no processo da dor, não define, isoladamente, o processo da dor (IASP, 2022). Nesse contexto, a dor nociceptiva é resultante da ativação de nociceptores por um estímulo, podendo esse ser térmico, mecânico ou químico (BARROT, 2012). Nociceptores são neurônios sensoriais periféricos especializados, capazes de detectar estímulos potencialmente prejudiciais e que podem ser classificados de acordo com sua velocidade de condução, diâmetro e grau de mielinização (DUBIN e PATAPOUTIAN, 2010). A dor nociceptiva tem um caráter protetor, visando evitar ou reduzir uma lesão tecidual, acelerar a cicatrização do tecido e, conseqüentemente, a recuperação do organismo (WOOLF, 2010).

Outra categoria de dor, a dor neuropática, é definida como uma dor causada por lesão ou doença do sistema nervoso somatossensorial, resultando em alteração da estrutura e função do sistema e, assim, levando ao desenvolvimento da dor espontânea ou respostas amplificadas a estímulos nocivos e não-nocivos (COSTIGAN *et al.*, 2009; WOOLF, 2004). Assim, essas alterações podem levar a diferentes manifestações. Entre os sintomas incluem-se alodínias mecânica e térmica e hiperalgeias mecânica e térmica, resultantes de diminuição no limiar de ativação dos nociceptores. A alodínia é definida como a dor causada por um estímulo que, normalmente, não provoca dor, enquanto a hiperalgesia é caracterizada pela dor de maior intensidade causada por um estímulo originalmente doloroso (COHEN e MAO,

2014). A dor neuropática envolve, geralmente, alterações da expressão, distribuição e fosforilação de diversos canais iônicos, resultando em potenciais de ação anormais, atividade espontânea de nociceptores e mudanças pré- e pós-sinápticas (WOOLF, 2004; COHEN e MAO, 2014; YAN *et al.*, 2017).

A dor disfuncional ocorre em diversas condições nas quais não há presença de qualquer estímulo nocivo, inflamação ou anormalidade neuronal periférica identificáveis. Essas condições clínicas incluem fibromialgia e cefaleia tensional, entre outras. Assim como a dor neuropática, a dor disfuncional não tem função adaptativa conhecida (WOOLF, 2010; COSTIGAN *et al.*, 2009; SCHECHTER, 2014).

A dor inflamatória resulta da produção e ação de múltiplos mediadores inflamatórios e está relacionada à inflamação decorrente de lesão ou infecção tecidual. A liberação de mediadores inflamatórios pode sensibilizar ou estimular nociceptores gerando alodínia ou hiperalgesia. A dor inflamatória contribui para que o dano seja minimizado, pois induz comportamentos de esquiva que favorecem o reparo, ou seja, o indivíduo evita o movimento da região lesionada ou seu contato com qualquer objeto (WOOLF, 2004).

A inflamação é uma resposta que envolve diversos processos bioquímicos e celulares, visando à restauração da homeostasia. Essa resposta pode ser causada por diversos estímulos e condições nocivas, como infecções ou estresse e lesões teciduais (SHERWOOD e TOLIVER-KINSKY, 2004; MEDZHITOV, 2008; KOTAS e MEDZHITOV, 2015). A inflamação geralmente ocorre no tecido conjuntivo e envolve células do sistema imunológico, vasos sanguíneos e diversas substâncias, denominadas mediadores inflamatórios.

A inflamação aguda é de duração relativamente curta e suas principais características são aumento do fluxo sanguíneo, exsudação de líquidos e proteínas plasmáticas e migração de leucócitos. Quando a inflamação não é resolutive ou se torna desordenada, o processo pode progredir para um estado crônico, estendendo-se por períodos mais longos. A inflamação crônica envolve, principalmente, presença de macrófagos e linfócitos, proliferação de vasos sanguíneos, fibrose e necrose tecidual (MEDZHITOV, 2008; MURPHY, 2013).

O aumento do fluxo sanguíneo durante a inflamação é consequência da vasodilatação induzida por vários mediadores, ativados pelo estímulo inflamatório. Mediadores também são responsáveis pelo aumento da permeabilidade vascular e vasodilatação. Esses eventos contribuem para a chegada de proteínas de fase aguda e anticorpos ao sítio inflamatório, por meio do fluxo do exsudato, um líquido rico em proteínas plasmáticas, do compartimento intravascular para o espaço intersticial, e também para o desenvolvimento de edema (SHERWOOD e TOLIVER-KINSKY, 2004). A migração de leucócitos envolve, inicialmente, eventos de adesão, por meio de moléculas ligadas ao endotélio, com a passagem dos leucócitos da luz endotelial para o espaço extravascular e posterior migração para o sítio inflamatório induzida por mediadores com atividade quimiotática (LEY *et al.*, 2007; MAYADAS *et al.*, 2014).

Os mediadores inflamatórios são moléculas que desempenham papéis importantes no desenvolvimento do processo inflamatório por meio de ligação a receptores específicos, o que leva a recrutamento de células ao sítio inflamatório, estímulo da liberação de outros mediadores inflamatórios e indução de vários sinais e sintomas característicos da inflamação. Alguns exemplos de mediadores incluem derivados plasmáticos, como cininas, metabólitos lipídicos, como derivados do ácido araquidônico (prostaglandinas, leucotrienos e lipoxinas) e citocinas (FEGHALI e WRIGHT, 1997; MURPHY, 2013).

As prostaglandinas são derivadas do ácido araquidônico, que é gerado a partir de fosfolípidos das membranas celulares e pode ser posteriormente clivado pelas enzimas ciclooxigenases (COXs) e 5-lipoxigenase, dando origem a seus metabólitos (FEGHALI e WRIGHT, 1997). As prostaglandinas estão presentes em processos inflamatórios e, em geral, atuam como moléculas pró-inflamatórias, induzindo vasodilatação, relaxamento do músculo liso, aumento da permeabilidade vascular e sensibilização de nociceptores, entre outras alterações (PITCHFORD e LEVINE, 1991; HARIZI *et al.*, 2008). As citocinas são polipeptídios secretados, de acordo com os estímulos envolvidos, por diversas células, como macrófagos, linfócitos e fibroblastos. Nesse grupo, incluem-se as interleucinas (ILs), interferons (IFNs), quimiocinas e os fatores de necrose tumoral (TNFs) (ZHANG e AN, 2007). Algumas

citocinas podem agravar o processo (citocinas pró-inflamatórias), ao passo que outras reduzem a inflamação (citocinas anti-inflamatórias).

Embora a dor e a inflamação sejam processos que, muitas vezes, são benéficos ao organismo, em muitos casos há necessidade do controle desses processos. Assim, foram desenvolvidos vários fármacos que visam ao alívio da dor ou inflamação, como os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), anti-inflamatórios esteroides e analgésicos opioides e não-opioides. Um dos principais objetivos da intervenção farmacoterapêutica é o alívio da dor, pois essa é um dos sintomas que mais causam desconforto aos pacientes e os levam a procurarem por algum serviço de saúde. Embora diversas terapias possam ser usadas visando ao alívio da dor, a farmacoterapia é a mais comum. Ainda que a maioria dos fármacos utilizados para tratamento de pacientes com condições dolorosas e inflamatórias seja eficaz, a farmacoterapia da dor e inflamação ainda apresenta limitações. Reações adversas graves, heterogeneidade das condições clínicas e multiplicidade de mecanismos relacionados aos processos de dor e inflamação são algumas das razões que justificam a busca por novas alternativas farmacoterapêuticas, com a perspectiva da descoberta de fármacos analgésicos e anti-inflamatórios mais eficazes e seguros (YEKKIRALA *et al.*, 2017).

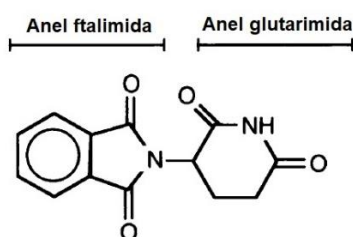
2.2 Talidomida e análogos ftalimídicos

A talidomida foi desenvolvida e comercializada como sedativo, hipnótico e antiemético na década de 1950 e retirada do mercado em 1961 devida à associação do seu uso com a ocorrência de malformações em recém-nascidos (MATTHEWS e McCOY, 2003). Apesar disso, diversos estudos posteriores demonstraram que a talidomida exerce inibe a produção de TNF- α (SAMPAIO *et al.*, 1991; 1992), a estimulação de linfócitos T (HASLETT *et al.*, 1998), a ativação do fator nuclear kB (NF-kB) (KEIFER *et al.*, 2001), um fator de transcrição responsável pela transcrição de genes para diversos mediadores inflamatórios, e a angiogênese (D'AMATO *et al.*, 1994). A demonstração da eficácia da talidomida no tratamento de pacientes com eritema nodoso hansênico, uma manifestação clínica da hanseníase, ou mieloma múltiplo,

permitiu, posteriormente, a aprovação do seu uso por pacientes com essas condições (MATTHEWS e McCOY, 2003).

A descoberta de diversas atividades da talidomida, aliada à preocupação com seu efeito teratogênico, estimulou a síntese e avaliação de diversos análogos da talidomida que apresentassem melhor perfil de eficácia e segurança. Assim, logo após a demonstração do efeito inibitório induzido pela talidomida sobre a produção de TNF- α , diversos estudos, analisando a relação entre as substituições na estrutura química da talidomida e esse efeito, desenvolveram análogos da talidomida, alguns apresentando maior efeito inibitório sobre a produção de TNF- α , (CORRAL *et al.*, 1996; MIYACHI *et al.*, 1996; MULLER *et al.*, 1996; NIWAYAMA *et al.*, 1996). Esses estudos, que avaliaram o efeito de diferentes moléculas com substituições nos anéis ftalimida ou glutarimida (**Figura 1**) sobre a produção TNF- α , indicaram que o anel ftalimida é o que possui relevância farmacofórica para essa atividade (CORRAL *et al.*, 1996; SHANNON *et al.*, 1997). Outros estudos demonstraram, ainda, que o anel glutarimida da talidomida, mas não o ftalimida, liga-se ao DNA em embriões de ratos e coelhos, indicando que o anel ftalimida pode contribuir para o efeito teratogênico da talidomida (HUANG e McBRIDE, 1997; HUANG *et al.*, 1999). Assim, entre os denominados análogos da talidomida, destacaram-se as substâncias desenvolvidas a partir do anel ftalimida, os análogos ftalimídicos.

Figura 1 – Estrutura química da talidomida



Fonte: Corral *et al.*, 1996 (Adaptado)

Diversos estudos demonstraram que análogos ftalimídicos, desenvolvidos a partir do acoplamento, geralmente no átomo de nitrogênio do anel ftalimida, com substituintes simples, como grupos fenil (CORRAL *et al.*, 1996; MIYACHI *et al.*, 1996; 1997; CHING

et al., 1998; CASAL *et al.*, 2016) ou alquil (SHANNON *et al.*, 1997; BACH *et al.*, 2017), induzem maior redução da produção de TNF- α em vários modelos *in vitro* e *in vivo* quando comparados à talidomida.

Também foi observado que alguns análogos ftalimídicos simples reduzem, em modelos experimentais de inflamação, a produção e/ou expressão de outros mediadores inflamatórios, como IL-1 β (MARRIOTT *et al.*, 1998; BACH *et al.*, 2017), IL-2 (SHANNON *et al.*, 1997; OLIVER *et al.*, 1999), IL-6 (CORRAL *et al.*, 1999; CHAULET *et al.*, 2011), IL-12, IL-13 (HUANG *et al.*, 2018) e COX-2 (ALANAZI *et al.*, 2015; SU *et al.* 2017). Além disso, foi observado que alguns análogos ftalimídicos aumentam a produção de fatores anti-inflamatórios, como IL-10 e arginase-1 (CORRAL *et al.*, 1996; MARRIOTT *et al.*, 1998; SU *et al.*, 2017), e reduzem a ativação de NF- κ B (BACH *et al.*, 2017). Outras atividades anti-inflamatórias de análogos ftalimídicos também foram observadas, como redução do edema de pata induzido por carragenina (COLLIN *et al.*, 2001; ASSIS *et al.*, 2014; CASAL *et al.*, 2016; SU *et al.*, 2017) e da migração de células inflamatórias por observação direta (OLIVER *et al.*, 1999; HUANG *et al.*, 2018) ou por meio da demonstração da redução da atividade da mieloperoxidase (MPO) (BHAT *et al.*, 2015; CASAL *et al.*, 2016; DA SILVA *et al.*, 2017), um importante indicador da presença de células polimorfonucleares nos tecidos.

O apremilast, um exemplo de análogo ftalimídico que inibe a expressão de diversos mediadores inflamatórios e aumenta a expressão de IL-10, foi aprovado pelas agências *Food and Drug Administration* e *European Medicines Agency* para terapia da artrite psoriática (KAWALEC *et al.*, 2018; OTTO *et al.*, 2021). O fármaco foi desenvolvido por MAN *et al.* (2009), com base em estudos preliminares que avaliaram análogos ftalimídicos simples com diversas modificações químicas na estrutura de um substituinte fenil ligado ao anel ftalimida, além de modificações no próprio anel ftalimida (MULLER *et al.*, 1996; 1998).

Além de suas atividades imunomoduladoras, a talidomida também apresenta atividades em modelos de dores neuropática (SOMMER *et al.*, 1998; NASCIMENTO *et al.*, 2015), inflamatória (RIBEIRO *et al.*, 2000) e nociceptiva (PEREIRA *et al.*, 2009), além de reduzir a sensibilização em outros modelos específicos, como modelo de

câncer ósseo (GU *et al.*, 2010). Assim, tem sido demonstrado, também, que análogos ftalimídicos com estruturas mais simples apresentam atividades em diferentes modelos experimentais de dor. Diversos autores observaram que análogos ftalimídicos reduzem o número de contrações abdominais induzidas por ácido acético (BANAROUËI *et al.*, 2019; DZIUBINA *et al.*, 2022) e a alodínia, a hiperalgesia (CASAL *et al.*, 2016; DA SILVA *et al.*, 2017; BATISTA *et al.*, 2019; SANTIN *et al.*, 2019) e a resposta nociceptiva induzidas por formaldeído (BATISTA *et al.*, 2019) ou calor (ALANAZI *et al.*, 2015; CASAL *et al.*, 2016).

2.2.1 Híbridos ftalimídicos

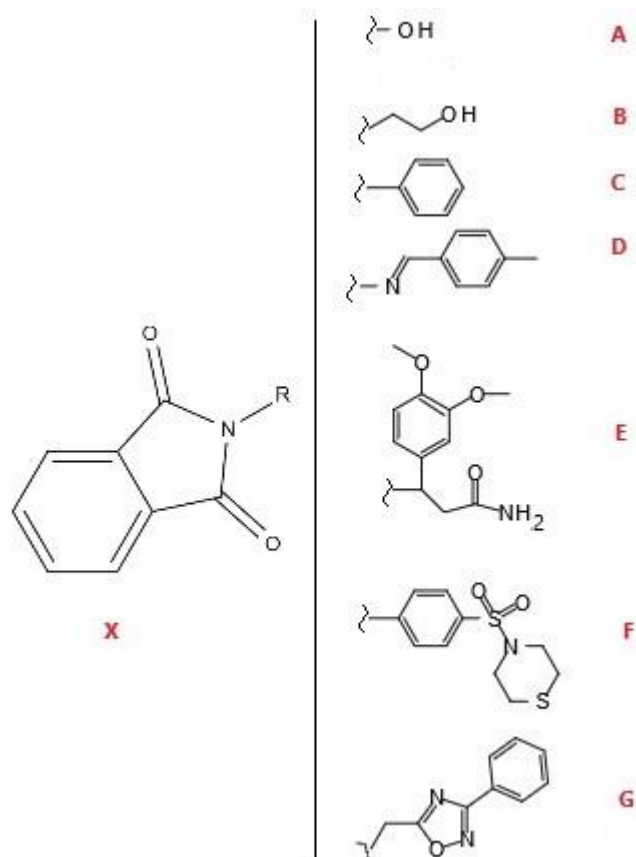
A hibridização molecular é um processo que parte da racionalização e do desenvolvimento de substâncias sintetizadas a partir da combinação (direta ou por meio do uso de grupos espaçadores) de subunidades de moléculas conhecidas ou de grupos farmacofóricos dessas. Assim, buscam-se híbridos com melhor perfil farmacológico em relação aos seus protótipos ou à substância originalmente modificada, visando à ativação de diferentes alvos, mudanças do perfil farmacocinético e da biodisponibilidade (BARREIRO e FRAGA, 2008; BOSQUESI *et al.*, 2011). Assim como o desenvolvimento de análogos ftalimídicos com substituições por grupos simples, a síntese de híbridos ftalimídicos acoplados a moléculas ou grupos farmacofóricos conhecidos também visa à obtenção de moléculas com melhores perfis farmacológicos.

Após os primeiros estudos com análogos ftalimídicos acoplados a diversos grupos fenil, Antunes *et al.* (1998) sintetizaram e avaliaram híbridos com porções ftalimida e 1,2,4-oxadiazol, baseado na demonstração, pelo próprio grupo de pesquisa, das atividades anti-inflamatória e antinociceptiva do 3-[3-(fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]ácido propiônico, além das recém-descobertas atividades de substâncias ftalimídicas. Como resultado, um dos híbridos sintetizados apresentou atividade antinociceptiva, reduzindo o número de contorções induzidas por ácido acético e a duração do tempo de lambida de pata na segunda fase (etapa predominantemente inflamatória) do modelo de resposta nociceptiva induzida por formaldeído em camundongos. Posteriormente, o grupo demonstrou, por modelagem computacional, a inibição da COX-2 pelo híbrido (ANTUNES *et al.*, 2003).

A base racional para a síntese de outro híbrido, o LASSBio-468, se deu a partir da observação do conhecido efeito modulador da produção e expressão de TNF- α por substâncias ftalimídicas, aliado à atividade de aril-sulfonamidas como inibidores da fosfodiesterase-4 (MONTANA *et al.* 1998). Essa enzima converte a adenosina monofosfato cíclica (cAMP) em sua forma inativa acíclica e, assim, a inibição da fosfodiesterase promove o aumento de cAMP, um efeito associado à redução na produção de mediadores pró-inflamatórios e aumento na produção de fatores anti-inflamatórios em várias células imunes (RAKER *et al.*, 2016). Lima *et al.* (2002), então, sintetizaram e avaliaram uma série de híbridos, com o híbrido posteriormente denominado LASSBio-468 reduzindo, de forma mais efetiva, o influxo de neutrófilos (atividade reduzida após hidrólise do anel ftalimida) e redução das concentrações de TNF- α no lavado broncoalveolar após a inalação de lipopolissacardídeo (LPS). Estudos posteriores demonstraram que o LASSBio-468 reduz as concentrações séricas de TNF- α e óxido nítrico (NO) em modelo de choque endotóxico induzido por LPS (ALEXANDRE-MOREIRA *et al.*, 2005). Em modelos de inflamação pulmonar induzida por LPS, também foram observadas atividades de outros híbridos ftalimídicos derivados de aril-sulfonamidas (MACHADO *et al.*, 2005; BARBOSA *et al.*, 2012).

Outros híbridos ftalimídicos, como moléculas resultantes de hibridizações com pirimidinas (FALCÃO *et al.*, 2006; CASAL *et al.*, 2016; BANAROU EI *et al.*, 2019), pirazolinas (POPHALE e DEODHAR, 2010), hidrazonas (IAMN *et al.*, 2016), benzimidazóis (KAUR e SILAKARI, 2018) e piridonas (SINGH *et al.*, 2021), grupamentos químicos com atividades anteriormente demonstradas, também foram desenvolvidos e avaliados. Alguns efeitos induzidos por esses híbridos incluem atividades em modelos de inflamação, como redução do edema induzido por carragenina e da resposta nociceptiva induzida por ácido acético ou NaCl em camundongos. Grupos farmacofóricos ou derivados de estruturas conhecidas, como o ácido gama-aminobutírico (GABA), donepezil, indoprofeno e celecoxibe, também serviram de base para o desenvolvimento de híbridos ftalimídicos, que foram capazes de reduzir as respostas em modelos de dor, como alodínia, hiperalgesia e contorções (YOGEE SWARI *et al.*, 2008) e a produção de IL-1 β e NO (ORTIZ *et al.*, 2022) e ativação de NF- κ B (LAMIE *et al.*, 2015). Na **figura 2**, estão alguns exemplos de substâncias ou híbridos ftalimídicos citados anteriormente.

Figura 2 – Exemplos de substâncias ou híbridos ftalimídicos



X: Anel ftalimida. A: SHANNON *et al.*, 1997; BATISTA *et al.*, 2019. B: GODIN *et al.*, 2014. C: MIYACHI *et al.*, 1996; CHING *et al.*, 1998; ASSIS *et al.*, 2014. D: BANAROUËI *et al.*, 2019. E: CORRAL *et al.*, 1996; MULLER *et al.*, 1998; CORRAL *et al.*, 1999. F: LIMA *et al.*, 2002; ALEXANDRE-MOREIRA *et al.*, 2005. G: ANTUNES *et al.*, 1998; 2003. Fonte: elaborado pelo autor.

2.3 Sulfeto de hidrogênio

Há alguns anos, gases de baixa massa molecular, denominados gasotransmissores ou mediadores gasosos, como o NO, monóxido de carbono (CO) e sulfeto de hidrogênio (H₂S), têm sido amplamente estudados (MUSTAFA *et al.*, 2009; DANIELAK *et al.*, 2021). Os gasotransmissores são moléculas gasosas com diversos papéis como mediadores biológicos, produzidos e regulados por sistemas enzimáticos e com funções independentes de um receptor específico (WANG, 2003). Abe e Kimura (1996), ao demonstrarem o papel do H₂S na regulação da função neuronal, deram início à busca do entendimento do papel regulatório desse gasotransmissor em processos fisiológicos e patológicos.

O H₂S é um ácido fraco e, em pH e temperaturas fisiológicos, coexiste com sua forma dissociada HS⁻ (MARTELLI *et al.*, 2010). O H₂S é sintetizado em células de mamíferos a partir de L-cisteína, por enzimas dependentes de piridoxal 5-fosfato, a cistationa β-sintase (CBS) e a cistationa γ-liase (CSE), e por 3-mercaptopiruvato sulfotransferase (3-MST) (WANG, 2002; SZABÓ e PAPAPETROPOULOS, 2017). Essas enzimas estão amplamente distribuídas no organismo humano, fazendo com que o H₂S esteja presente em diversos tecidos e seja capaz de alcançar alvos moleculares em diversos sistemas (GIUFFRÈ e VICENTE, 2018). Além disso, o H₂S é capaz de atravessar membranas biológicas facilmente, sem necessidade de receptores específicos, assim como os outros gasotransmissores (SESTITO *et al.*, 2017).

Tem sido demonstrado que os efeitos induzidos pelo H₂S podem ser mediados pela S-sulfidração de proteínas (MUSTAFA *et al.*, 2009). Esse processo tem a propriedade de modificar a conformação local e função de proteínas-alvo, por meio da modificação do grupo –SH em resíduos de cisteína para o grupo –SSH em proteínas-alvo, podendo modificar sua estrutura e, assim, sua atividade, o que, conseqüentemente, pode alterar funções celulares e vias metabólicas (PAUL e SNYDER, 2012; JU *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2017; KIMURA, 2019). Entre os principais efeitos decorrentes da sulfidração induzida pelo H₂S, que podem resultar na alteração de diversos processos no organismo, estão: redução da ativação de NF-κB (DU *et al.*, 2014b); ativação de canais para potássio sensíveis a ATP (K_{ATP}) (JIANG *et al.*, 2010; MUSTAFA *et al.*, 2011; GADE *et al.*, 2013); ativação do fator nuclear

eritroide 2 (Nrf2), que regula a expressão de diversas enzimas citoprotetoras e inibe a proliferação celular, e promoção de fosforilação (ZHAO *et al.*, 2021), entre outras.

2.3.1 Atividades anti-inflamatória e antinociceptiva do H₂S

Na inflamação, assim como em outros processos, o H₂S apresenta atividades diversas que dependem da sua concentração e do tecido envolvido, particularidade comum entre os gasotransmissores (FARO *et al.*, 2014). Apesar dos primeiros estudos relacionando H₂S e inflamação terem demonstrado o papel pró-inflamatório do H₂S (BHATIA *et al.*, 2005a), diversos outros estudos demonstraram atividades antiinflamatórias. Diferentes doses dos compostos investigados, perfis de liberação de H₂S, desenhos e modelos experimentais utilizados são alguns dos fatores que podem justificar esses resultados aparentemente contraditórios (STEIN e BAILEY, 2013; NIN *et al.*, 2020).

Visto o amplo espectro de atividades do H₂S, o interesse pelo seu uso como ferramenta farmacológica é crescente. A administração do próprio H₂S, porém, apresenta dificuldades, pois a substância, sob temperatura e pressão ambientes, é um gás incolor. Embora existam alguns estudos que tenham utilizado o H₂S borbulhado em solução, sua propriedade de volatilização dificulta o controle da sua concentração e, conseqüentemente, da quantidade liberada no organismo, tecido ou células (OLSON, 2012). Nesse contexto, compostos doadores de H₂S representam uma importante ferramenta para estudo das atividades *in vitro* e *in vivo* do H₂S (ZHAO *et al.*, 2014; SZABÓ, 2018). Diversas substâncias com capacidade de doar H₂S foram desenvolvidas nos últimos anos. Essas substâncias apresentam diferentes estruturas químicas (**Figura 3**) e, conseqüentemente, diferentes mecanismos e perfis de liberação de H₂S.

administração de inibidores das enzimas produtoras de H₂S leva à redução da produção de citocinas anti-inflamatórias (ZAYACHKIVSKA *et al.*, 2014) e ao aumento da produção de mediadores inflamatórios (ALI *et al.*, 2018; QIU *et al.*, 2018), ativação de NF-κB (DU *et al.*, 2014b), infiltração celular (WALLACE *et al.*, 2009; TANG *et al.*, 2017) e edema (ZANARDO *et al.*, 2006) em modelos de inflamação, confirmando o papel do H₂S em processos inflamatórios.

Para aumentar ainda mais o interesse no tema, resultados de alguns estudos clínicos demonstraram redução da concentração de H₂S no sangue de pacientes com diferentes condições, como sepse (ZHOU *et al.*, 2022), osteoartrite (BURGUERA *et al.*, 2019), doença arterial coronariana (GAO *et al.*, 2015), pré-eclâmpsia (DU *et al.*, 2022) e câncer ósseo (ZHUANG *et al.*, 2017). Nesse último caso citado, deve ser destacado, ainda, que foi observada uma correlação negativa entre as concentrações de H₂S e a dor relatada pelos pacientes.

2.3.1.2 Hidrossulfeto de sódio e sulfeto de sódio

O hidrossulfeto de sódio (NaHS) e o sulfeto de sódio (Na₂S) são sais inorgânicos que liberam H₂S rapidamente (FIORUCCI *et al.*, 2005; ANDRUSKI *et al.*, 2008) e têm sido amplamente utilizados em diversos estudos para investigação de efeitos induzidos pelo H₂S. Diversas atividades atribuídas ao H₂S foram demonstradas por meio do uso dessas substâncias, como diminuição da produção de citocinas, regulação de canais iônicos e efeitos cardioprotetores. Apesar de terem contribuído para diversas descobertas, o fato de esses compostos induzirem aumento das concentrações plasmáticas de H₂S de muito curta duração faz com que sua aplicação terapêutica seja limitada (LI *et al.*, 2008a; WHITEMAN *et al.*, 2010; SONG *et al.*, 2014; ZHENG *et al.*, 2015). Em meio aquoso, o NaHS libera HS⁻ que, como mencionado anteriormente, é a forma dissociada do H₂S presente em meio fisiológico, que forma H₂S na presença de H⁺ (HU *et al.*, 2007; MERIGHI *et al.*, 2012). O Na₂S também forma H₂S na presença de H⁺, embora o consumo desse próton seja o dobro em relação ao NaHS (ANDRUSKI *et al.*, 2008; OLSON, 2012).

Em modelos de dor e inflamação, a atividade do NaHS tem sido avaliada extensivamente. O NaHS apresenta atividades em modelos *in vitro*, em que células

em cultura foram expostas a algum estímulo inflamatório. O NaHS foi capaz de reduzir a produção ou expressão de mediadores inflamatórios em diferentes tipos de macrófagos estimulados por LPS (OH *et al.*, 2006; WHITEMAN *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2012; RIOS *et al.*, 2015; YURINSKAYA *et al.*, 2020), TNF- α (PERNA *et al.*, 2013), ATP (CAO *et al.*, 2018) ou lipoproteína de baixa densidade (LDL) oxidada (DU *et al.*, 2014b); células endoteliais estimuladas por LPS (BOURQUE *et al.*, 2018), TNF- α (WANG *et al.*, 2009; PAN *et al.*, 2011) ou altas concentrações de glicose (GUAN *et al.*, 2013; ZHONG *et al.*, 2022); sinoviócitos estimulados por LPS (LI *et al.*, 2022b) ou IL-1 β (SIEGHART *et al.*, 2015); condrócitos estimulados por IL-1 β (BURGUERA *et al.*, 2014; HA *et al.*, 2015) e queratinócitos estimulados por cloreto de cobalto (YANG *et al.*, 2011).

Em modelos *in vivo* de inflamação, o NaHS também apresentou a propriedade de reduzir a produção ou expressão de mediadores inflamatórios em diversos tecidos ou órgãos, como hipocampo (FAN *et al.*, 2013; GHANBARI *et al.*, 2018), rins (CHEN *et al.*, 2014; LI *et al.*, 2022c), cólon (WALLACE *et al.*, 2009; QIN *et al.*, 2019), fígado (FOUAD *et al.*, 2020), pulmões (ZHANG *et al.*, 2015; KAYA-YASAR *et al.*, 2017; ALI *et al.*, 2018) e sangue (CHEN *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2022; ZHONG *et al.*, 2022). Outra atividade importante do NaHS nesses modelos é a de modular eventos celulares e vasculares do processo inflamatório, observada por análise histológica (KAYA-YASAR *et al.*, 2017; ALI *et al.*, 2018; QIN *et al.*, 2019), pela redução da atividade da MPO (FIORUCCI *et al.*, 2005; CHEN *et al.*, 2018) ou pela redução da expressão das moléculas de adesão intracelular-1 (ICAM-1) e vascular (VCAM-1) (CHEN *et al.*, 2010; PERNA *et al.*, 2013; ZHOU *et al.*, 2014b), importantes para a adesão de leucócitos às células endoteliais e sua migração extravascular.

Além dos efeitos sobre produção e expressão de mediadores inflamatórios, também é importante destacar que o NaHS aumenta a produção da citocina anti-inflamatória IL-10 *in vitro* (DU *et al.*, 2014b; TALAEI *et al.*, 2016) e *in vivo* (LI *et al.*, 2008b; CHEN *et al.*, 2014). Ainda relacionado a essas atividades, o NaHS inibe a ativação do fator de transcrição NF- κ B em diversas células e tecidos, como em macrófagos (OH *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2012) e sinoviócitos (LI *et al.*, 2022b) estimulados por LPS, no fígado, em modelo de hepatotoxicidade (FOAUD *et al.*, 2020), nos pulmões, em

modelo de inflamação pulmonar (CAO *et al.*, 2014), e nos rins, em modelos de sepse, (CHEN *et al.*, 2014) e diabetes (ZHOU *et al.*, 2014b).

A atividade do NaHS em modelos experimentais de inflamação também se reflete na atenuação de sinais característicos da inflamação aguda, como o edema (ZANARDO *et al.*, 2006) e a dor inflamatória (CUNHA *et al.*, 2008). Atividades do NaHS em modelos experimentais de dor também têm sido demonstradas. Em modelos de dor neuropática, o NaHS reduziu a alodínia mecânica (LUCARINI *et al.*, 2018) ou térmica (DI CESARE MANNELLI *et al.*, 2017) e a hiperalgesia térmica (CHEN *et al.*, 2019). O NaHS também foi capaz de reduzir a hiperalgesia mecânica induzida pela retirada do uso de opioides (YANG *et al.*, 2014), contorções abdominais induzidas por ácido acético (BASKIN *et al.*, 2022) e reflexo de retirada abdominal induzido por distensão colorretal (DISTRUTTI *et al.*, 2006b).

O Na₂S, embora não seja tão utilizado quanto o NaHS para avaliação de atividades relacionadas ao H₂S, apresenta diversas atividades em modelos de dor e inflamação. O Na₂S reduz a adesão de leucócitos ao endotélio vascular (ANDRUSKI *et al.*, 2008), a produção de mediadores inflamatórios, como NO em sinoviócitos estimulados por LPS (LI *et al.*, 2013), TNF- α em micróglia estimulada por IL-6 (KIDA *et al.*, 2015), IL-1 β pulmonar em modelo de lesão por queimadura (ESECHIE *et al.*, 2008), PGE₂ no hipotálamo em modelo de febre por LPS (KWIATKOSKI *et al.*, 2013) e IL-6 plasmática em modelo de hipertensão por estresse agudo (HAZZAA *et al.*, 2021). O Na₂S também reduz o edema induzido por carragenina (ZANARDO *et al.*, 2006), o reflexo de retirada abdominal induzido por distensão colorretal (DISTRUTTI *et al.*, 2010) e a resposta nociceptiva orofacial induzida por formalina (DONATTI *et al.*, 2014).

2.3.1.3 Reagente de Lawesson e GYY4137

O reagente de Lawesson é uma substância sintética amplamente usada em síntese orgânica, com a principal aplicação de adicionar íon sulfeto a carbonilas (sulfurização). Por ser um doador de H₂S, o reagente de Lawesson tem sido utilizado em alguns estudos que visam avaliar atividades relacionadas ao H₂S (ZHAO *et al.*, 2014). O reagente de Lawesson reduz, por exemplo, a infiltração celular em modelos de colite (TÖRÖK *et al.*, 2021), prurido (RODRIGUES *et al.*, 2017) e inflamação subcutânea

dorsal (ZANARDO *et al.*, 2006) ou articular (EKUNDI-VALENTIM *et al.*, 2010). Esse doador de H₂S também reduz a expressão de TNF- α no cólon em modelo de colite (WALLACE *et al.*, 2009) e a alodínia mecânica e o edema articular induzidos por carragenina (ZANARDO *et al.*, 2006).

O GYY4137 é um doador de H₂S desenvolvido a partir da estrutura química do reagente de Lawesson, com vantagem de ser hidrossolúvel, ao contrário do seu precursor, e liberar H₂S em taxas mais lentas (LI *et al.*, 2008a). Assim como o seu precursor, o GYY4137 libera H₂S por meio de hidrólise (ZHAO *et al.*, 2014). Por causa dessas propriedades, em muitos estudos, o GYY4137 foi utilizado como substância doadora de H₂S em diversas avaliações. O GYY4137 reduz a produção de mediadores inflamatórios e marcadores indicativos de migração celular em macrófagos estimulados por LPS (LI *et al.*, 2009; WHITEMAN *et al.*, 2010; VELMURUGAN *et al.*, 2015; YURINSKAYA *et al.*, 2020), condrócitos estimulados por IL-1 β (BURGUERA *et al.*, 2014) e células endoteliais submetidas a estiramento mecânico (SPASSOV *et al.*, 2022) ou estimuladas por TNF- α (GRAMBOW *et al.*, 2020) ou LDL oxidada (ZHENG *et al.*, 2020).

Em modelos de inflamação *in vivo*, o GYY4137 também reduz a produção de citocinas pró-inflamatórias e aumenta a produção de citocinas anti-inflamatórias em articulações (LI *et al.*, 2013), hipocampo (YIN *et al.*, 2020), lavado broncoalveolar (BALF), pulmões (ZHANG *et al.*, 2016; KAYA-YASAR *et al.*, 2017; TANG *et al.*, 2017; FALLER *et al.*, 2018; JIANG *et al.*, 2019), peritônio (CASTELBLANCO *et al.*, 2018), fígado e plasma (LI *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2016; UNUMA *et al.*, 2019). Ainda nesse contexto, a administração de GYY4137 em animais experimentais promove a redução de edemas articular (LI *et al.*, 2013; VAAMONDE-GARCÍA *et al.*, 2020) e pulmonar (TANG *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2022a).

Em diferentes modelos de dor, foi observado que o GYY4137 atenuou a alodínia e hiperalgesia induzidas por estímulos mecânicos ou térmicos. Entre esses modelos, podem ser citados diabetes induzido por estreptozotocina (SHAYEA *et al.*, 2020), osteoartrite induzida por iodoacetato monossódico (BATALLÉ *et al.*, 2021) e sensibilização induzida por oxaliplatina (DI CESARE MANNELLI *et al.*, 2017),

paclitaxel (QABAZARD *et al.*, 2020; ROCH *et al.*, 2022) ou constrição do nervo isquiático (BAI *et al.*, 2021; 2022).

O GYY4137 também serviu como base para o desenvolvimento de substâncias com estrutura similar, destacando-se o análogo denominado FW1256, que apresenta atividade de maior magnitude do que aquela induzida por doses equimolares de GYY4137 em relação à redução da liberação de mediadores inflamatórios por macrófagos estimulados por LPS (HUANG *et al.*, 2016).

2.3.1.4 Isotiocianatos

Os isotiocianatos, substâncias presentes em plantas da família *Cruciferae*, com diversas atividades descritas, foram descobertos recentemente como liberadores de H₂S, sendo um dos possíveis mecanismos responsáveis por suas atividades (MARTELLI *et al.*, 2014). Partindo da observação de que essas substâncias liberam H₂S na presença de L-cisteína somente, foi proposto e elucidado o mecanismo de liberação de H₂S por isotiocianatos, envolvendo a reação entre a substância e a L-cisteína, ciclização intramolecular e subsequente liberação de H₂S (MARTELLI *et al.*, 2020).

O sulforafano é um isotiocianato natural com diversas atividades demonstradas em modelos experimentais de câncer, além de induzir em modelos de dor e inflamação (HEISS *et al.*, 2001), tendo sido demonstrado sua capacidade de reduzir produção de mediadores inflamatórios *in vitro* (BRANDENBURG *et al.*, 2010) e *in vivo* (GUERRERO-BELTRAN *et al.*, 2012), além de reduzir alodínia mecânica e hiperalgesia térmica em modelos de dor inflamatória induzida por Adjuvante Completo de Freund (CFA) (REDONDO *et al.*, 2017) e dor neuropática induzida por CCI (WANG e WANG, 2017). O isotiocianato natural alil-isotiocianato, e seus derivados sintéticos fenil-isotiocianato e 3-carboxi-fenil-isotiocianato, tem apresentado atividades em diversos modelos de dor, atenuando alodínia e hiperalgesia em modelos de dor inflamatória induzida por CFA (PORTA *et al.*, 2021) ou iodoacetato monossódico (LUCARINI *et al.*, 2018; BATALLÉ *et al.*, 2020) e modelos de dor neuropática induzida por CCI (CABARGA *et al.*, 2020), paclitaxel ou oxaliplatina (DI CESARE MANNELLI *et al.*, 2017).

2.3.1.5 Benzotiamidas

Benzotiamidas, tiobenzamidas, ariltioamidas ou benzocarbotiamidas são substâncias em que a estrutura básica consiste das funções orgânicas tiocetona e amina ligados a um benzil. Um mecanismo de hidrólise do grupo tiocarbonila é o provável modo pelo qual essas substâncias liberam H₂S (CALIENDO *et al.*, 2010). Wallace *et al.* (2007b) foram os primeiros a utilizar uma benzotiamida, a 4-hidróxi-benzenocarbotiamida (4-HBC), como doador de H₂S em modelos experimentais, avaliando o efeito induzido por doadores de H₂S em modelo de úlcera gástrica. Martelli *et al.* (2013) demonstraram que diversas ariltioamidas, com diferentes padrões de substituição no anel benzênico, liberam H₂S *in vitro*. Algumas, porém, como a 4-HBC, só exibem essa propriedade na presença de tióis orgânicos (glutathiona e L-cisteína). Além disso, foi demonstrado que a 4-HBC reverte a vasoconstrição induzida por noradrenalina em anéis aórticos de ratos.

Outra tiobenzamida, derivada do carbazol, reduz a expressão de TNF- α , NO e COX-2 e aumenta a expressão de IL-10 em micróglia estimulada por LPS e no hipocampo em modelo experimental de epilepsia (LIU *et al.*, 2021). Recentemente, nosso grupo de pesquisa avaliou as atividades de outra benzotiamida, a 4-metil-benzenocarbotiamida, que, ao contrário do análogo hidroxilado 4-HBC, libera H₂S *in vitro* na ausência de tióis orgânicos. A 4-metil-benzenocarbotiamida atenuou a segunda fase da resposta nociceptiva induzida por formaldeído, reduziu o edema e a alodínia mecânica induzidos por carragenina, a produção de TNF- α , CXCL-1 e a atividade de MPO no tecido intraplantar (MELO *et al.*, 2019).

2.3.1.6 Outros doadores de H₂S

Vários estudos avaliando o papel do H₂S em diversos modelos experimentais de dor e inflamação foram realizados nos últimos anos. Assim, alguns autores usaram outras substâncias ou abordagens, embora menos frequentes, que promovem a liberação de H₂S em organismos, tecidos ou células.

Como mencionado anteriormente, embora o uso direto do gás H₂S seja uma estratégia limitada técnica e farmacologicamente, alguns estudos utilizaram essa abordagem,

por meio do borbulhamento do gás em água, principalmente em experimentos *in vitro*, ou mistura em oxigênio para posterior inalação em câmaras customizadas por animais experimentais (OH *et al.*, 2006; TOKUDA *et al.*, 2012). Assim, a exposição ou inalação de H₂S promoveu efeito inibitório sobre a produção de mediadores inflamatórios, como NO, IL-1 β , IL-6, TNF- α , em macrófagos estimulados por LPS (OH *et al.*, 2006), no lavado broncoalveolar em modelos de lesão pulmonar (FALLER *et al.*, 2017; ZIMMERMANN *et al.*, 2017) e em pulmões e fígado em modelo de inflamação sistêmica (TOKUDA *et al.*, 2012). Associado à redução de mediadores inflamatórios na medula espinhal, a inalação de H₂S também reduziu a alodínia mecânica e a hiperalgesia térmica em modelos de câncer ósseo (ZHUANG *et al.*, 2017) e dor neuropática induzida por constrição de nervo (KIDA *et al.*, 2015). A redução desses parâmetros nociceptivos pela inalação de H₂S também foi observada em modelo de neuropatia diabética induzida por estreptozotocina (LI *et al.*, 2020).

Substâncias derivadas do alho, capazes de liberar H₂S (BENAVIDES *et al.*, 2007), também têm sido avaliadas, como o dialil dissulfeto, que reduz o edema, o infiltrado celular, a produção de TNF- α , IL-1 β e IL-2, a ativação de NF- κ B e a expressão das enzimas NO sintase induzível (iNOS) e COX-2 induzidos por carragenina (ZHANG *et al.*, 2020) e as alodínias mecânica e térmica e hiperalgesia térmica em modelo de dor neuropática induzida por constrição de nervo (BAI *et al.*, 2021).

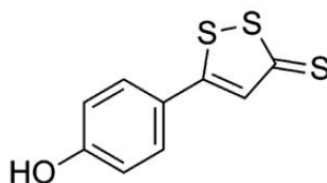
Outros doadores de H₂S que podem ser citados são o tiosulfato de sódio (Na₂S₂O₃), outro sal inorgânico doador de H₂S que inibiu a produção de IL-1 β por macrófagos estimulados por urato monossódico (CASTELBLANCO *et al.*, 2018), e o ácido lipoico, que reverteu o edema induzido por carragenina em camundongos (DUDEK *et al.*, 2013).

2.3.1.7 Híbridos doadores de H₂S

Assim como no desenvolvimento de híbridos ftalimídicos, diversos estudos se propuseram à síntese, a partir de estruturas conhecidas, de moléculas ligadas covalentemente a unidades doadores de H₂S, visto à diversidade de atividades atribuídas a esse mediador gasoso. Vários estudos foram desenvolvidos de forma similar, utilizando substâncias liberadoras dos gasotransmissores NO (WALLACE *et*

al., 1994) ou CO (ALI *et al.*, 2020). As tiobenzamidas (anteriormente mencionadas) e a 5-(4-hidroxifenil)-3H-1,2-ditiolano-3-tiona (ADT-OH – **Figura 4**) são exemplos de unidades doadoras de H₂S bastante utilizadas em diversos estudos.

Figura 4 – Estrutura química da ADT-OH



Fonte: elaborado pelo autor.

Os AINEs são uma das principais classes de fármacos utilizados como protótipos para híbridos doadores de H₂S. Tem sido demonstrado que o uso de AINEs acoplados a doadores de H₂S está associado a menor risco de reações adversas gastrointestinais, como úlceras e hemorragias, e atividade anti-inflamatória de maior magnitude (WALLACE, 2007). O ATB-346, sintetizado a partir do acoplamento do naproxeno com uma tiobenzamida, reduz, em maior magnitude que o naproxeno, a produção de PGE₂ e o influxo de neutrófilos em modelo de inflamação induzida por zimosano e atenua o edema de pata induzido pelo CFA, além de não induzir lesões gástricas, ao contrário do seu protótipo naproxeno (WALLACE *et al.*, 2010). Assim, ensaios pré-clínicos sucessivos com o ATB-346 se seguiram, incluindo avaliações da atividade anti-inflamatória e segurança gástrica em modelos de artrite induzida por CFA (BLACKER *et al.*, 2012) ou zimosano (DIEF *et al.*, 2015), sinovite induzida por carragenina (EKUNDI-VALENTIM *et al.*, 2013) e lesão gástrica induzida por estresse de contenção ou imersão em água (MAGIEROWSKI *et al.*, 2017). Após esses ensaios pré-clínicos, o ATB-346 foi finalmente avaliado em ensaios clínicos de fases I e II em voluntários saudáveis e pacientes com osteoartrite (WALLACE *et al.*, 2018; 2020). O ATB-346 também foi avaliado e apresentou eficácia em voluntários submetidos à inflamação com *E. coli* inativada (GLANVILLE *et al.*, 2021). Atividade anti-inflamatória do ATB-346 também foi demonstrada em modelos de lesão cerebral traumática induzida por impacto cortical (CAMPOLO *et al.*, 2014), melanoma (DE CICCIO *et al.*, 2016), neuroinflamação induzida por estreptozotocina (MOSTAFA *et al.*, 2016) e íleo pós-

operatório (VAN DINGENEN *et al.*, 2019). O ATB-346, atualmente, é denominado otenaproxesul (ANTIBE THERAPEUTICS, 2022).

Outros AINEs foram acoplados a liberadores de H₂S. Nesse contexto, o híbrido diclofenaco-H₂S (ATB-337) foi um dos primeiros a ser desenvolvido, apresentando atividade anti-inflamatória, caracterizada pela redução da produção de citocinas, da atividade de NF-κB, da atividade de MPO e do edema de pata induzido por carragenina (BHATIA *et al.*, 2005b; LI *et al.*, 2007; SIDHAPURIWALA *et al.*, 2007; WALLACE *et al.*, 2007a; BHATIA *et al.*, 2008), além de atividades em modelos de angiogênese (ISENBERG *et al.*, 2007) e proliferação celular (BASKAR *et al.*, 2008). O ATB-352, desenvolvido a partir do cetoprofeno, também possui, quando comparado ao precursor, melhor segurança gastrointestinal (GLOWACKA *et al.*, 2022) e maior atividade anti-inflamatória e antinociceptiva, reduzindo infiltração celular e produção de mediadores inflamatórios em modelo de periodontite (GUGLIANDOLO *et al.*, 2018) e alodínia mecânica em modelo de dor pós-operatória (COSTA *et al.*, 2020).

O acoplamento do ácido acetilsalicílico a um liberador de H₂S resultou no ACS14 (SPARATORE *et al.*, 2009), que apresenta diversas atividades, incluindo anti-oxidante (GIUSTARINI *et al.*, 2010) e anti-inflamatória (ZHAO *et al.*, 2019). Outros híbridos sintetizados a partir do ácido acetilsalicílico foram desenvolvidos com o acoplamento de duas porções distintas, uma doadora de H₂S e outra doadora de NO (KODELA *et al.*, 2012) e induziram efeitos anti-inflamatório e antinociceptivo em diversos modelos *in vivo* (NIA *et al.*, 2013; FONSECA *et al.*, 2015).

Outros híbridos doadores de H₂S desenvolvidos a partir de fármacos anti-inflamatórios foram avaliados em modelos de dor e/ou inflamação, como derivados da mesalazina (DISTRUTTI *et al.*, 2006a; FIORUCCI *et al.*, 2007; WALLACE *et al.*, 2007b); indometacina (WALLACE, 2007), ácido glicirrízico (SONG *et al.*, 2016), ibuprofeno (HASSAN *et al.*, 2019; GYÖNGYÖSI *et al.*, 2021) e anti-inflamatórios esteroides (CORVINO *et al.*, 2022). Alguns exemplos de híbridos doadores de H₂S com atividade em modelos experimentais e desenvolvidos a partir de diversas outras substâncias com atividades anteriormente determinadas estão listados no **quadro 1**.

Quadro 1 – Híbridos doadores de H₂S e suas atividades

Híbrido(s)		Atividades	Referências
ADT-OH	Sildenafil (inibidor da PDE5 e da formação de superóxido no tecido vascular)	Inibição da PDE5 e da formação de superóxido (revertido por proteína quinase A)	MUZAFFAR <i>et al.</i> , 2008
ADT-OH	L-DOPA (manutenção dos níveis de dopamina na doença de Parkinson)	Atenuação da redução de glutathione, TNF- α , NO e IL-6 em células estimuladas por LPS ou IFN- γ , redução da neurotoxicidade, inibição da atividade mono aminooxidase, atenuação de liberação de NO e produção de TNF- α em modelo de citotoxicidade induzida por β -amiloide em micróglia	LEE <i>et al.</i> , 2010; Liu <i>et al.</i> , 2011
ADT-OH ou 4-HBC	Trifenilfosfônio (reduzidor de estresse oxidativo mediado por mitocôndria)	Redução da hiperpolarização de membrana de mitocôndrias, aumento do transporte de elétrons e redução da produção de espécies reativas de oxigênio em células hiperglicêmicas	GERÖ <i>et al.</i> , 2016
ADT-OH ou 4-HBC	Capsaicina (agonista TRPV1 - diversas atividades experimentais)	Atividade agonista de receptores de potencial transitório vaniloide tipo 1 (TRPV1). Redução do tempo de lambda no teste de capsaicina, redução do número contorções induzidas por ácido acético e aumento da latência pela cauda no teste de retirada de cauda.	GAO <i>et al.</i> , 2018
Diali-dilsufeto	Tacrina (inibidor de acetilcolinesterases)	Melhora da cognição e atividade motora, inibição da acetilcolinesterase, aumento da plasticidade sináptica e inibição da expressão de citocinas em modelo de doença de Alzheimer induzida por AlCl ₃	CHENG <i>et al.</i> , 2019
ADT-OH	Benzenosulfonamidas (inibidores anidrase carbônica)	Redução da hiperalgesia mecânica em modelo de artrite induzida por CFA intra-articular.	BONARDI <i>et al.</i> , 2022

Fonte: elaborado pelo autor.

2.4 Híbridos ftalimídicos liberadores de gasotransmissores

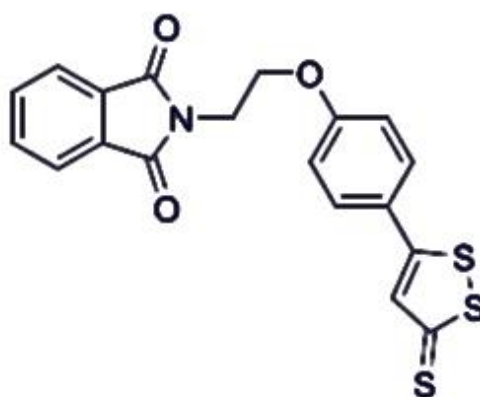
Outra abordagem utilizada em alguns estudos que desenvolveram híbridos ftalimídicos foi o acoplamento do anel ftalimida a estruturas doadoras de NO, um gasotransmissor que participa de diferentes maneiras em diversos processos fisiológicos e patológicos importantes. O mesmo grupo que desenvolveu o LASSBio-468, por exemplo, demonstrou que análogos ftalimídicos acoplados a doadores de NO apresentaram atividade antinociceptiva no modelo de constrição abdominal induzida por ácido acético e atividade anti-inflamatória nos modelos de edema induzido por capsaicina e de peritonite induzida por tioglicolato em camundongos, além de promover a redução das concentrações de TNF- α em culturas de monócitos oriundas de camundongos transgênicos para anemia falciforme (DOS SANTOS *et al.*, 2011;

2012). Recentemente, nosso grupo de pesquisa demonstrou as atividades antiedematogênica, antialodínica e antinociceptiva do nitrato de 2-ftalimidoetila, análogo ftalimídico acoplado a um doador de NO. Além disso, foi demonstrado que esse análogo ftalimídico reduz as concentrações de TNF- α e da quimiocina CXCL-1, a atividade da MPO e o acúmulo de neutrófilos em diferentes modelos, utilizando diferentes estímulos e tecidos (GODIN *et al.*, 2014; 2015; 2017).

O acoplamento de doadores de H₂S a estruturas conhecidas é uma das principais formas de investigar os efeitos induzidos pelo H₂S em diversos modelos e de desenvolver novas substâncias que apresentem melhor perfil farmacológico. Embora existam alguns estudos demonstrando que análogos ftalimídicos contendo grupos sulfeto no anel ftalimida reduzem a produção de TNF- α *in vitro*, não houve investigação da liberação de H₂S pelos análogos. Esses estudos, na verdade, tiveram como objetivo a avaliação da contribuição dos grupos amida do anel ftalimida para o efeito inibitório sobre a produção de TNF- α induzido por compostos análogos da talidomida (ZHU *et al.*, 2003; TWEEDIE *et al.*, 2011). Sendo assim, até então, o desenvolvimento de substâncias ftalimídicas doadoras de H₂S não havia sido abordado.

Assim, foi proposta a síntese (MELO *et al.*, 2023) e a avaliação das atividades do 2-(2-(4-tioxo-3H-1,2-ditioil-5-il)fenoxi)etil)isoindol-1,3-tiona (FTD-H₂S) (**Figura 5**), híbrido inédito resultante do acoplamento do anel ftalimida à estrutura doadora de H₂S ADT-OH, em modelos experimentais de inflamação e dor e os possíveis mecanismos envolvidos nessas atividades.

Figura 5 – Estrutura química do híbrido FTD-H₂S



Fonte: elaborado pelo autor.

3 JUSTIFICATIVA

Visto que vários fármacos disponíveis para o tratamento de pacientes com condições inflamatórias e dolorosas ainda apresentam limitações como eficácia reduzida ou segurança inadequada, faz-se necessário o desenvolvimento de novas alternativas farmacoterapêuticas que com melhor perfil farmacológico. Nos últimos anos, análogos ftalimídicos e compostos doadores de H₂S têm sido amplamente investigados em ensaios pré-clínicos, visto o seu potencial em atuar em diferentes processos fisiológicos e patológicos. Tem sido demonstrado que diversos análogos ftalimídicos, substâncias desenvolvidas a partir do anel ftalimida presente na talidomida, apresentam atividades em modelos de inflamação e dor, muito relacionadas à capacidade dessas substâncias de reduzir a produção e/ou expressão de TNF- α . Apesar do número crescente de estudos envolvendo o H₂S, ainda existem muitas atividades e mecanismos relacionados ao H₂S a serem elucidados. O H₂S possui atividades antinociceptiva e anti-inflamatória, principalmente quando tem origem exógena, resultante da administração de substâncias que são capazes de doar esse gás. O ADT-OH é uma estrutura que libera H₂S e bastante utilizada na síntese de diversos híbridos doadores de H₂S. Nesse contexto, a investigação da atividade de um híbrido ftalimidíco doador de H₂S, o FTD-H₂S, em modelos de dor e inflamação, assim como dos possíveis mecanismos envolvidos nessa atividade, pode contribuir para a avaliação do potencial de híbridos doadores de H₂S como candidatos a fármacos úteis no manejo de condições inflamatórias e dolorosas.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar as atividades do FTD-H₂S em diferentes modelos experimentais de dor e inflamação, bem como os possíveis mecanismos envolvidos.

4.2 Objetivos específicos

- Avaliar a capacidade de o FTD-H₂S liberar H₂S *in vitro*.
- Avaliar os efeitos induzidos pelo FTD-H₂S em modelos experimentais de edema inflamatório e de dores nociceptiva, inflamatória e neuropática.
- Comparar as atividades do FTD-H₂S com as do ADT-OH e do FTD-OH, seus precursores sintéticos, e NaHS, a substância mais frequentemente utilizada como doador de H₂S.
- Avaliar os efeitos induzidos pelo FTD-H₂S sobre a produção de citocinas inflamatórias.
- Avaliar o papel do H₂S na atividade do FTD-H₂S.
- Avaliar o papel dos canais K_{ATP} e receptores opioidérgicos na atividade do FTD-H₂S.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Animais experimentais

Foram utilizados camundongos Swiss fêmeas (25 a 30 g) provenientes do Biotério da Faculdade de Farmácia da UFMG. Os animais foram mantidos em ciclo claro-escuro de 12 h e em sala com temperatura controlada de 27 ± 1 °C, a qual corresponde à zona de termoneutralidade para roedores (GORDON, 1990). Ração e água foram fornecidas *ad libitum*, exceto quando o protocolo exigia a administração *per os* (*p.o.*). Nesse caso, a ração foi retirada 12 h antes do tratamento. Os animais foram ambientados na sala de experimentação por pelo menos dois dias antes da realização dos experimentos. A divisão dos grupos para posterior tratamento foi feita de forma que as massas corporais médias e/ou valores basais dos diferentes grupos experimentais fossem semelhantes. Após o término dos experimentos, os animais foram submetidos à eutanásia por deslocamento cervical após anestesia geral. Os protocolos do projeto foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMG (CEUA/UFMG) sob os números de protocolo 50/2017 e 17/2022. Os experimentos foram realizados de acordo com as recomendações para experimentação relacionada à dor em animais (ZIMMERMANN, 1983).

5.2 Fármacos, reagentes e veículos

- 2-(2-(4-tioxo-3*H*-1,2-ditioil-5-il)fenoxi)etil)isoindol-1,3-tiona (FTD-H₂S) (sintetizado no Laboratório de Química Orgânica do Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas, UFMG, coordenado pelo professor Ângelo de Fátima) - Híbrido ftalimídico doador de H₂S. Detalhes sobre a síntese estão descritos em MELO *et al.* (2023).
- 2-ftalimidoetanol (FTD-OH) (sintetizado no Laboratório de Química Orgânica do Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas, UFMG, coordenado pelo professor Ângelo de Fátima) – Precursor da síntese de FTD-H₂S.
- 5-(4-hidroxifenil)-3*H*-1,2-ditioilano-3-tiona (ADT-OH) (sintetizado no Laboratório de Química Orgânica do Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas, UFMG, coordenado pelo professor Ângelo de Fátima) – Precursor da síntese de FTD-H₂S.

- Acetato de zinco (Merck, Alemanha) – Reagente para quantificação de H₂S.
- Ácido cítrico anidro (Synth, Brasil) – Reagente para ELISA.
- Ácido clorídrico (HCl) (Merck, Alemanha) – Reagente para quantificação de H₂S.
- Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) (Sigma-Aldrich, EUA) – Reagente para extração de citocinas.
- Ácido sulfúrico (H₂SO₄) (Merck, Alemanha) – Reagente para ELISA.
- Ácido tricloroacético (Sigma-Aldrich, EUA) – Reagente para quantificação de H₂S.
- Albumina sérica bovina (BSA) (Sigma-Aldrich, EUA) - Reagente extração de citocinas e ELISA.
- Aprotinina de pulmão bovino (Sigma-Aldrich, EUA) – Reagente para extração de citocinas
- Carboximetilcelulose (CMC) (Sigma-Aldrich, EUA) – Veículo.
- Carragenina λ (Sigma-Aldrich, EUA) - Estímulo inflamatório/nociceptivo.
- Cloreto de benzetônio (Sigma-Aldrich, EUA) – Reagente para extração de citocinas.
- Cloreto de potássio (KCl) (Perfyl Tech, Brasil) – Reagente para ELISA.
- Cloreto de sódio (NaCl) (Synth, Brasil) – Reagente para ELISA.
- Cloreto de sódio (NaCl) 0,9% p/v estéril (Samtec, Brasil) - Veículo para o preparo das soluções ou suspensões utilizadas em administrações por via intraperitoneal (i.p.) ou intraplantar (i.pl.)
- Cloreto de sódio (NaCl) 0,9 % p/v não injetável (Sanobiol, Brasil) - Veículo para o preparo das soluções ou suspensões administradas per os (p.o.).
- Cloreto férrico (FeCl₃) (ACS Científica, Brasil) – Reagente para quantificação de H₂S.
- Cloridrato de cetamina (Ceva, Brasil) - Anestésico.
- Cloridrato de hidroxocobalamina (Sigma-Aldrich, EUA) – Sequestrador de H₂S.
- Cloridrato de naltrexona (Tocris, Reino Unido) – Antagonista opioidérgico.
- Cloridrato de xilazina (Ceva, Brasil) - Coadjuvante de anestesia.
- Dexametasona 21-fosfato dissódico (Sigma-Aldrich, EUA) - Anti-inflamatório esteroide.

- Dimetilsulfóxido (DMSO) (Synth, Brasil) – Veículo.
- Dipirona sódica (Sanofi Aventis, Brasil) – Analgésico.
- Fenobarbital (Sanofi Aventis, Brasil) - Fármaco depressor do sistema nervoso central (SNC).
- Fosfato dissódico (Na_2HPO_4) (Synth, Brasil) – Reagente para ELISA.
- Fosfato monopotássico (KH_2PO_4) (Synth, Brasil) – Reagente para ELISA.
- Fosfato monossódico (NaH_2PO_4) (Synth, Brasil) – Reagente para ELISA.
- Fenobarbital (Sanofi Aventis, Brasil) - Fármaco depressor do SNC.
- Fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF) (Sigma-Aldrich, EUA) – Reagente para extração de citocinas.
- Glibenclamida (Sigma-Aldrich, EUA) – Bloqueador de canais K_{ATP} .
- Hidrossulfeto de sódio (NaHS) (Sigma-Aldrich, EUA) – Doador de H_2S .
- Lipolissacarídeo (LPS; *Escherichia coli* 0111:B4) (Sigma-Aldrich, EUA) - Estímulo inflamatório/nociceptivo.
- Ortofenilenodiamina (OPD) (Sigma, EUA) – Reagente para ELISA.
- Paclitaxel (Sigma-Aldrich, EUA) – Estímulo nociceptivo.
- Peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Synth, Brasil) - Reagente para ELISA.
- Sulfato de N,N-dimetil-*p*-fenilenodiamina (Sigma, EUA) – Reagente para quantificação de H_2S .
- Sulfeto de sódio (Na_2S) – Doador de H_2S .
- Tween 20 (Sigma-Aldrich, EUA) – Reagente para extração de citocinas e ELISA.

5.3 Preparo das soluções e suspensões, doses e vias de administração

5.3.1 Veículos

- CMC

A suspensão de CMC 0,5% (p/v) foi preparada em solução de NaCl 0,9% p/v no dia anterior ao experimento.

- DMSO

A solução de DMSO 4% (p/v) foi preparada em solução de cloreto de sódio 0,9% p/v imediatamente antes de cada administração.

5.3.2 FTD-H₂S

As suspensões do FTD-H₂S foram preparadas em suspensão de CMC 0,5% p/v, quando administradas *p.o.*, ou diluídas em DMSO 4% v/v, quando administradas por via *i.p.*, em volume de 10 mL/kg. As doses administradas em diferentes protocolos variaram de 5 a 250 mg/kg (0,5 a 25 mg/mL).

5.3.3 NaHS, FTD-OH e ADT-OH

- NaHS

As soluções de NaHS foram preparadas em solução estéril de NaCl 0,9% p/v, e administradas por via *i.p.* em volume de 10 mL/kg. As doses administradas foram de 0,5, 2 ou 8 mg/kg.

- FTD-OH

A solução de FTD-OH foi preparada em solução estéril de NaCl 0,9% p/v e administrada por via *i.p.* na dose de 12 mg/kg em volume de 10 mL/kg.

- ATD-OH

A suspensão de ATD-OH foi preparada em solução estéril de NaCl 0,9% p/v e administrada por via *i.p.* na dose de 14,2 mg/kg em volume de 10 mL/kg.

5.3.4 Hidroxocobalamina, glibenclamida e naltrexona

- Hidroxocobalamina

A solução de hidroxocobalamina foi preparada em solução estéril de NaCl 0,9% p/v e administrada por via *i.p.* na dose de 300 mg/kg em volume de 10 mL/kg.

- Glibenclamida

A suspensão de glibenclamida foi preparada em suspensão de CMC 0,5% p/v e administrada *p.o.* na dose de 40 mg/kg em volume de 10 mL/kg.

- Naltrexona

A solução de naltrexona foi preparada em solução estéril de NaCl 0,9% p/v e administrada por via *i.p.* na dose de 10 mg/kg em volume de 10 mL/kg.

5.3.5 Estímulos inflamatórios/nociceptivos

- Carragenina

A suspensão de carragenina 2% p/v foi preparada em solução estéril de NaCl 0,9% p/v no dia anterior ao experimento e armazenada sob refrigeração. Foram injetados 30 µL (600 µg de carragenina) dessa suspensão por via *i.pl.* na pata posterior direita dos camundongos.

- LPS

As soluções de LPS 0,167, 0,03 ou 0,067 % p/v foram preparadas em solução estéril de NaCl 0,9% p/v imediatamente antes de cada administração. Foram injetados 30 µL (2, 10 ou 50 µg de LPS) dessa solução por via *i.pl.* na pata posterior direita dos camundongos.

- Paclitaxel

A solução de paclitaxel foi preparada em solução estéril de NaCl 0,9% p/v imediatamente antes de cada administração. O paclitaxel foi administrado por via *i.p.* na dose cumulativa de 8 mg/kg (quatro doses de 2 mg/kg, por quatro dias alternados), em volume de 2 mL/kg.

5.3.6 Dexametasona, dipirona, fenobarbital e pregabalina

- Dexametasona

A solução de dexametasona foi preparada em solução de NaCl 0,9% p/v e administrada *p.o.* na dose de 10 mg/kg em volume de 10 mL/kg.

- Dipirona

A solução de dipirona foi preparada em solução de NaCl 0,9% p/v e administrada *p.o.* ou na dose de 500 mg/kg em volume de 10 mL/kg.

- Fenobarbital

A solução de fenobarbital foi preparada em solução de NaCl 0,9% p/v e administrada *p.o.* na dose de 50 mg/kg em volume de 10 mL/kg.

- Pregabalina

A suspensão de pregabalina foi preparada em suspensão de CMC 0,5% p/v e administrada *p.o.* na dose de 30 mg/kg em volume de 10 mL/kg.

5.3.7 Soluções usadas para quantificação de H₂S

- Soluções de Na₂S

Foram preparadas em água destilada nas concentrações de 100, 150, 200, 250 e 300 mM.

- Solução de acetato de zinco

Foi preparada em água destilada na concentração de 1% p/v.

- Solução de sulfato de N,N-dimetil-*p*-fenilenodiamina

Foi preparada em HCl 7.2 M na concentração de 20 mM.

- Solução de FeCl_3

Foi preparada em HCl 1.2 M na concentração de 30 mM.

- Solução de ácido tricloroacético

Foi preparada em água destilada na concentração de 10% p/v.

5.3.8 Soluções usadas nos ensaios para a determinação das concentrações de citocinas (ELISA)

- Solução tampão fosfato-salino (PBS)

Para cada 1,5 L de água destilada, foram dissolvidos 12 g de NaCl; 0,302 g de KCl; 1,725 g de NaH_2PO_4 ; 0,306 g de KH_2PO_4 . O pH da solução foi ajustado para 7,4.

- Solução para extração de citocinas

Para cada 100 mL de solução de PBS, foram dissolvidos 2,34 g de NaCl; 500 mg de BSA; 4,48 mg de cloreto de benzetônio; 37,2 mg de EDTA; 50 μL de Tween 20; 1,7 mg de PMSF (dissolvidos em 100 μL de DMSO); 2 μL de aprotinina.

- Solução tampão de lavagem

Foi preparada, em PBS, uma solução de Tween 20 a 0,1% v/v.

- Solução tampão de bloqueio

Foi preparada, em PBS, uma solução de BSA a 1% p/v.

- Solução diluente das amostras

Foi preparada, em PBS, uma solução de BSA a 0,1% p/v.

- Solução tampão citrato

Para cada 25 mL de água destilada, foram dissolvidos 0,335 g de NaH_2PO_4 e 0,129 g de ácido cítrico. O pH da solução foi ajustado para 5,0.

- Solução do substrato OPD

Para cada 24 mL do tampão citrato, foram dissolvidos 9,6 mg de OPD e 4,8 μL de H_2O_2 30%.

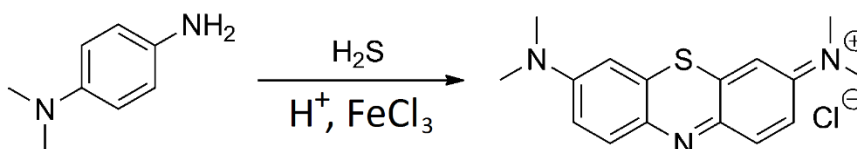
- Solução de parada para reação colorimétrica

Foi preparada, em água destilada, uma solução de H_2SO_4 a 1 M.

5.4 Quantificação de H_2S

O ensaio realizado para quantificar H_2S foi adaptado do procedimento descrito por Shen *et al.* (2011), com base no método do azul de metileno, formado a partir da reação do H_2S com N,N-dimetil-*p*-fenilenodiamina na presença de cloreto férrico (**Figura 6**). Resumidamente, 75 μL de solução FTD- H_2S (125, 250 ou 500 μM em DMSO) foram misturados com 250 μL de acetato de zinco. Em seguida, 133 μL de sulfato de N,N-dimetil-*p*-fenilenodiamina e 133 μL de FeCl_3 foram adicionados. Após 10 min de incubação à temperatura ambiente, 250 μL de ácido tricloroacético foi adicionado à mistura de reação. A absorbância das amostras foi medida a 670 nm. Uma curva de calibração de Na_2S foi preparada (**Apêndice A**) e medida simultaneamente para quantificar H_2S nas amostras.

Figura 6 – Reação do método de azul de metileno para quantificação de H_2S



Fonte: adaptado de HARTLE e PLUTH, 2016.

5.5 Avaliação da atividade motora

A atividade motora foi avaliada na haste girante (2,3 cm de diâmetro, 14 rpm). Nos três dias que antecederam os experimentos, os animais foram treinados no aparato durante 120 s. No dia do experimento, o tempo basal de permanência dos animais na haste foi determinado e a divisão dos grupos para posterior tratamento foi feita de forma que os tempos basais médios dos diferentes grupos experimentais fossem semelhantes. Foram realizadas avaliações 1, 3 e 6 h após a administração do FTD-H₂S ou fenobarbital, controle positivo utilizado no experimento. O tempo de corte foi de 120 s (**Figura 7**).

Figura 7 – Escala temporal de avaliação da coordenação motora



Fonte: elaborado pelo autor.

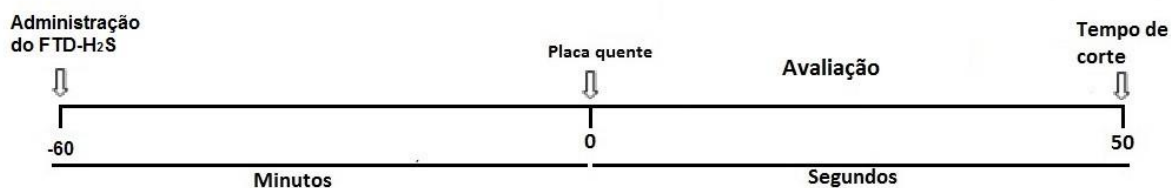
5.6 Avaliação da resposta nociceptiva induzida por calor

A avaliação da resposta nociceptiva induzida por calor foi realizada com auxílio da placa quente (Insight Ltda, Ribeirão Preto, Brasil). Os animais foram colocados sobre a superfície não aquecida da placa durante 2 min para ambientação nos três dias anteriores ao experimento. A divisão dos grupos para posterior tratamento foi feita de forma que as massas corporais médias dos diferentes grupos experimentais fossem semelhantes.

No momento do teste, os camundongos foram colocados, individualmente, sobre a placa metálica aquecida na temperatura de 50 °C e o tempo para que os animais exibissem comportamentos indicativos de desconforto (lambida das patas ou saltos) foi determinado e considerado como a latência para a resposta nociceptiva, com o tempo de corte de 50 s, a fim de evitar a ocorrência de lesão tecidual (**Figura 8**). O

FTD-H₂S ou a dipirona, controle positivo utilizado no experimento, foram administrados 1 h antes da realização do experimento.

Figura 8 - Escala temporal de avaliação da resposta nociceptiva induzida por calor



Fonte: elaborado pelo autor.

5.7 Avaliação da alodínia mecânica induzida por paclitaxel

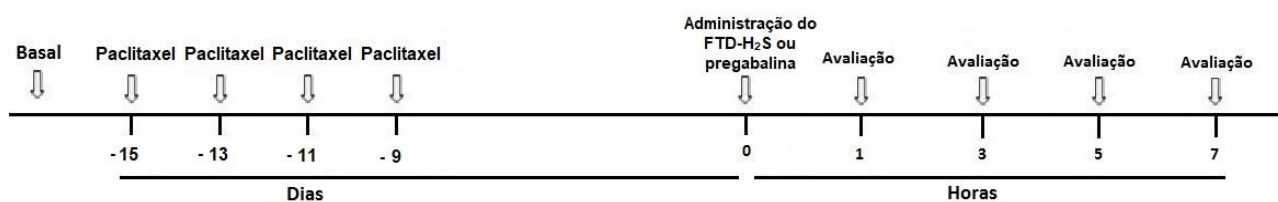
A massa do paclitaxel foi devidamente determinada em capela de fluxo laminar com a devida paramentação, em ocasião anterior ao preparo das soluções, que foram administradas por via i.p. por quatro dias alternados. A dose cumulativa do paclitaxel foi 8 mg/kg (quatro doses de 2 mg/kg, por quatro dias alternados).

Os camundongos foram colocados em compartimentos de acrílico (22 x 18 x 14 cm) dispostos sobre um suporte que possui como base uma tela metálica, onde foram ambientados no aparato em uma sessão diária de 60 min durante três dias antes da realização do experimento e em uma sessão de 10 min, imediatamente antes do experimento. A alodínia mecânica foi avaliada por meio do uso de um analgesímetro digital (Insight Ltda., Ribeirão Preto, Brasil), o qual permite determinar o limiar para a retirada da pata, que é expresso em gramas (g). Uma ponteira de polietileno, acoplada a um braço transdutor de força (faixa: 0,1 a 1000 g, ou aproximadamente 0,1 a 10 N), foi pressionada sobre o centro da superfície plantar da pata posterior direita de cada animal e um aumento gradual de pressão foi feito até que o animal retirasse a pata. O valor indicando a pressão a qual fez com que o animal removesse a pata foi registrado. Para cada animal, foram feitas cinco avaliações em intervalos de 20 s. O maior e o

menor valor foram descartados e o limiar nociceptivo foi calculado como a média das três medidas restantes.

No dia anterior à administração do paclitaxel, o limiar basal para retirada de pata de cada animal foi determinado. A divisão dos grupos para posterior tratamento foi feita de forma que as massas corporais e os limiares basais médios dos diferentes grupos experimentais fossem semelhantes. Após 15 dias da realização da primeira administração de paclitaxel, a alodínia mecânica foi avaliada 1, 3, 5 e 7 h após a administração do FTD-H₂S ou da pregabalina, controle positivo utilizado no experimento (**Figura 9**).

Figura 9 - Escala temporal de avaliação da alodínia mecânica induzida por paclitaxel

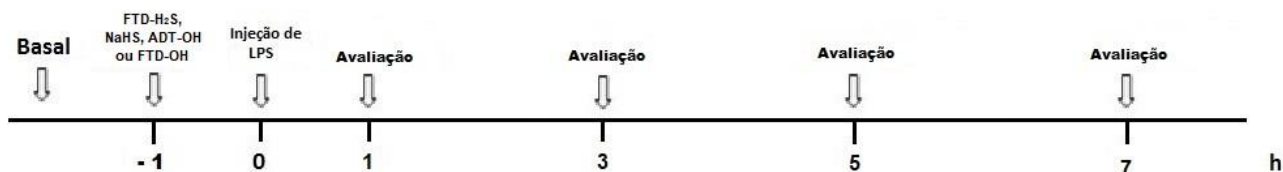


Fonte: elaborado pelo autor.

5.8 Avaliação da alodínia mecânica induzida por carragenina ou LPS

A avaliação da alodínia mecânica foi realizada conforme descrito anteriormente (item 5.7). O limiar basal para retirada da pata de cada animal foi determinado no dia anterior ao teste. As substâncias testadas ou a dexametasona, utilizada com controle positivo no experimento, foram administradas 1 h antes da administração i.pl. de carragenina ou LPS e os animais foram avaliados em diferentes momentos após a injeção do estímulo inflamatório (**Figura 10**).

Figura 10 - Escala temporal de avaliação da alodínia mecânica induzida por carragenina ou LPS

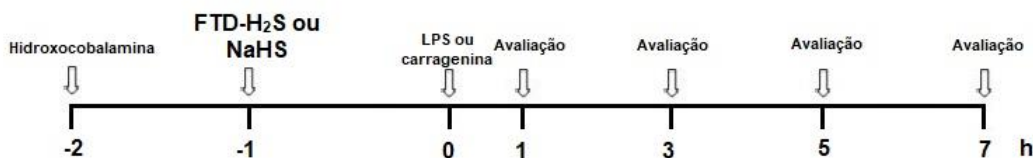


Fonte: elaborado pelo autor.

5.8.1 Avaliação dos efeitos induzidos pela hidroxocobalamina sobre as atividades do FTD-H₂S e NaHS no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS ou carragenina

A fim de avaliar o possível papel da liberação de H₂S na atividade do FTD-H₂S no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS ou carragenina, foi utilizado um sequestrador de H₂S (hidroxocobalamina). A hidroxocobalamina foi administrada previamente (1 h) aos tratamentos (**Figura 11**). A carragenina ou o LPS foram injetados 1 h após a administração do FTD-H₂S e a alodínia mecânica foi avaliada em diferentes momentos após a administração do estímulo inflamatório.

Figura 11 - Escala temporal de avaliação dos efeitos induzidos pelo FTD-H₂S ou NaHS sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina ou LPS em animais previamente tratados com hidroxocobalamina

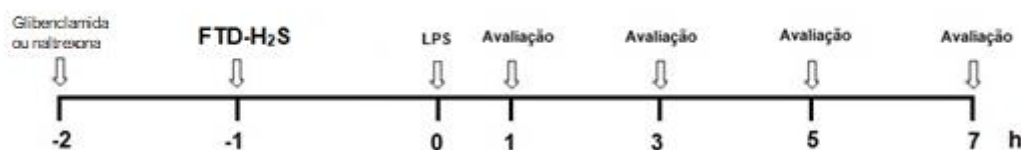


Fonte: elaborado pelo autor.

5.8.2 Avaliação dos efeitos induzidos pela glibenclamida ou naltrexona sobre a atividade do FTD-H₂S no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS

A fim de avaliar o possível papel da ativação de canais K_{ATP} ou receptores opioidérgicos na atividade do FTD-H₂S no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS, foram utilizados um bloqueador de canais K_{ATP} (glibenclamida) ou um antagonista opioidérgico (naltrexona). A glibenclamida ou naltrexona foram administradas previamente (1 h) aos tratamentos (**Figura 12**). O LPS foi injetado 1 h após a administração do FTD-H₂S e a alodínia mecânica foi avaliada em diferentes momentos após a administração do estímulo inflamatório.

Figura 12 - Escala temporal de avaliação dos efeitos induzidos pelo FTD-H₂S sobre a alodínia mecânica induzida por LPS em animais previamente tratados com glibenclamida ou naltrexona



Fonte: elaborado pelo autor.

5.9 Avaliação do edema de pata induzido por carragenina

Para a avaliação do edema de pata foi usado um pletismômetro (Modelo 7140, Ugo Basile, Itália). Esse aparelho contém uma célula cilíndrica para a medida do volume de pata, preenchida com uma solução de baixa concentração eletrolítica, conectada a outra célula, dentro da qual existe um eletrodo. Um sistema de vasos comunicantes faz com que o deslocamento da solução eletrolítica na célula onde a pata do animal é mergulhada resulte em um deslocamento da solução na célula que contém o eletrodo. Após ter sido calibrado, o aparelho converte o deslocamento do líquido em volume, que é indicado em um visor digital. Quando a pata do animal é introduzida na célula de medida até a articulação tíbio-tarsal, um pedal é pressionado pelo experimentador, que fixa o valor do volume observado.

O volume de pata basal de cada animal foi medido no dia anterior ao experimento e a divisão dos grupos para posterior tratamento foi feita de forma que as massas corporais e os volumes de pata basais médios dos diferentes grupos experimentais fossem semelhantes. As substâncias testadas ou a dexametasona, utilizada com controle positivo no experimento, foram administradas 1 h antes da administração i.pl. de carragenina e os animais foram avaliados em diferentes momentos após a injeção do estímulo inflamatório (**Figura 13**).

Figura 13 - Escala temporal de avaliação do edema de pata induzido por carragenina



Fonte: elaborado pelo autor.

5.10 Quantificação de citocinas

- Coleta e preparo das amostras

O FTD-H₂S ou a dexametasona foram administrados 1 h antes da injeção de LPS ou carragenina e a alodínia mecânica foi avaliada previamente à coleta das amostras de tecido. No protocolo correspondente, a hidroxocobalamina foi administrada 1 h antes da administração do FTD-H₂S. Anteriormente à coleta das amostras de tecido, a alodínia mecânica foi avaliada para confirmação dos resultados obtidos nos experimentos anteriores. Posteriormente, com os animais anestesiados, foi realizada a coleta das amostras de tecido da pata direita posterior, 3 h após administração i.pl. de LPS ou carragenina. Após a coleta, as amostras de tecido tiveram suas massas determinadas e foram congeladas. No dia seguinte, as amostras de tecidos foram descongeladas e processadas em um homogeneizador (Modelo ULTRA 80-11,

Ultrastirrer) em solução de extração de citocinas (100 mg de amostra/mL). Em seguida, houve a centrifugação (3000 rpm, 10 min a 4°C) do material e coleta do sobrenadante, que foi congelado para a determinação das concentrações de TNF- α , IL-1 β e IL-6.

- Determinação da concentração de TNF- α , IL-1 β e IL-6

As concentrações de TNF- α , IL-1 β e IL-6 foram determinadas de acordo com as instruções do fabricante R&D Systems. O ensaio foi realizado em placa de microtitulação de 96 poços. O anticorpo de captura foi diluído em PBS e foram adicionados 50 μ L dessa solução em cada poço. A placa foi devidamente vedada e armazenada na geladeira durante 4 h. Posteriormente, a placa foi lavada com tampão de lavagem e bloqueada com tampão de bloqueio. Após 1 h, a placa foi lavada novamente e foram adicionados 50 μ L de TNF- α , IL-1 β e IL-6 (duplicata), em diluição seriada, correspondentes à curva-padrão. Nos outros poços, foram adicionados 50 μ L dos sobrenadantes (diluídos na proporção 1:3, no caso na quantificação de IL-6, ou sem diluição, no caso da quantificação de TNF- α e IL-1 β) em diluente para amostras e, nos primeiros dois poços, foram adicionados 50 μ L de diluente (branco). A placa foi devidamente vedada e armazenada na geladeira durante 12 h.

Em seguida, a placa foi lavada e foram adicionados 50 μ L do anticorpo de detecção em cada poço e, durante 2 h, a placa foi vedada e mantida em temperatura ambiente. Após esse período, a placa foi lavada e foram adicionados 50 μ L do revelador estreptavidina (R&D Systems) em cada poço e, durante 20 min, a placa foi mantida, novamente, em temperatura ambiente. Finalmente, foram adicionados 50 μ L da solução do substrato OPD em cada poço. A reação foi devidamente monitorada e, com aparecimento de coloração amarelada (20 a 30 min) a reação foi interrompida com a adição de 25 μ L de H₂SO₄. A leitura foi feita no leitor de ELISA, usando comprimento de onda de 490 nm. Os resultados foram expressos em quantidade de TNF- α , IL-1 β e IL-6 presente no tecido (pg/100 mg de tecido).

5.11 Análise estatística

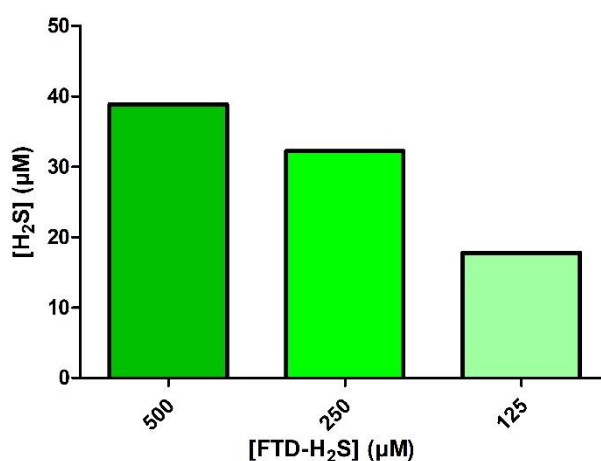
Os dados foram analisados pelo programa *GraphPad Prism 5.0* (San Diego, CA, EUA) e os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média. Os resultados referentes aos modelos de avaliação da resposta nociceptiva induzida por calor, atividade motora e quantificação de citocinas foram analisados por meio da análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste de Newman-Keuls. Os resultados referentes aos modelos de alodínia mecânica e edema de pata foram analisados por meio de ANOVA de duas vias, seguida pelo teste de Bonferroni, exceto os resultados referentes à área sob a curva dos respectivos testes, os quais foram analisados por meio da ANOVA uma via, seguida pelo teste de Newman-Keuls. Um valor de $P < 0,05$ foi considerado significativo.

6 RESULTADOS

6.1 Liberação de H₂S pelo FTD-H₂S *in vitro*

O método do azul de metileno foi empregado para determinar a quantidade de H₂S liberada pelo FTD-H₂S, nas condições de teste. As quantidades de H₂S liberadas pelo FTD-H₂S em três concentrações diferentes (125, 250 e 500 µM) são demonstradas na **Figura 14**. Esse resultado demonstra a capacidade de o FTD-H₂S liberar H₂S *in vitro*.

Figura 14 – Liberação de H₂S pelo FTD-H₂S pelo método de azul de metileno



Fonte: elaborado pelo autor.

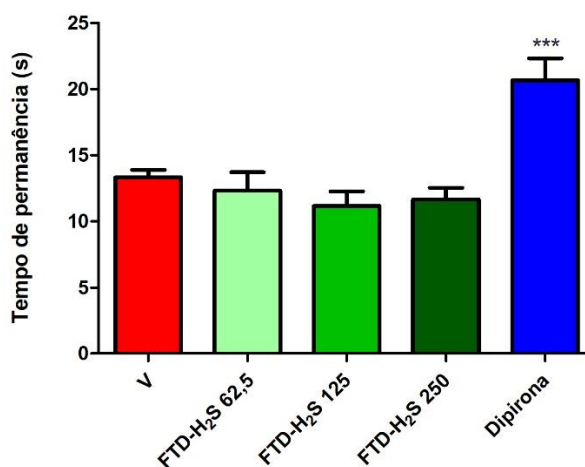
6.2 Efeito induzido pela administração *p.o.* de FTD-H₂S em modelos de dor e inflamação

Inicialmente, foi feita a avaliação da atividade do FTD-H₂S, por meio de sua administração *p.o.*, em modelos de resposta nociceptiva induzida por calor (modelo de dor nociceptiva), alodínia mecânica induzida por paclitaxel (modelo de dor neuropática), carragenina ou LPS (modelos de dor inflamatória) e edema de pata induzido por carragenina (modelo de edema inflamatório).

6.2.1 Efeito induzido pelo FTD-H₂S em modelo de dor nociceptiva

A resposta nociceptiva induzida por calor foi avaliada por meio da determinação da latência para os animais apresentarem o comportamento nociceptivo. O grupo controle teve uma latência média de aproximadamente 13 s. O FTD-H₂S, administrado *p.o.* nas doses de 62,5, 125 e 250 mg/kg, não inibiu a resposta nociceptiva induzida por calor, uma vez que não houve diferença estatisticamente significativa entre as latências médias dos grupos que receberam o composto e a latência média do grupo controle. A latência média do grupo tratado com dipirona, controle positivo do experimento, foi aumentada para aproximadamente 21 s (**Figura 15**).

Figura 15 - Efeitos induzidos por FTD-H₂S *p.o.* e dipirona sobre o tempo de permanência dos camundongos na placa quente



FTD-H₂S: 62,5, 125 ou 250 mg/kg; *p.o.*; - 1 h. Dipirona: 500 mg/kg, *p.o.*, - 1 h. V = veículo. *** indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle (V) ($p < 0,001$). n=6.

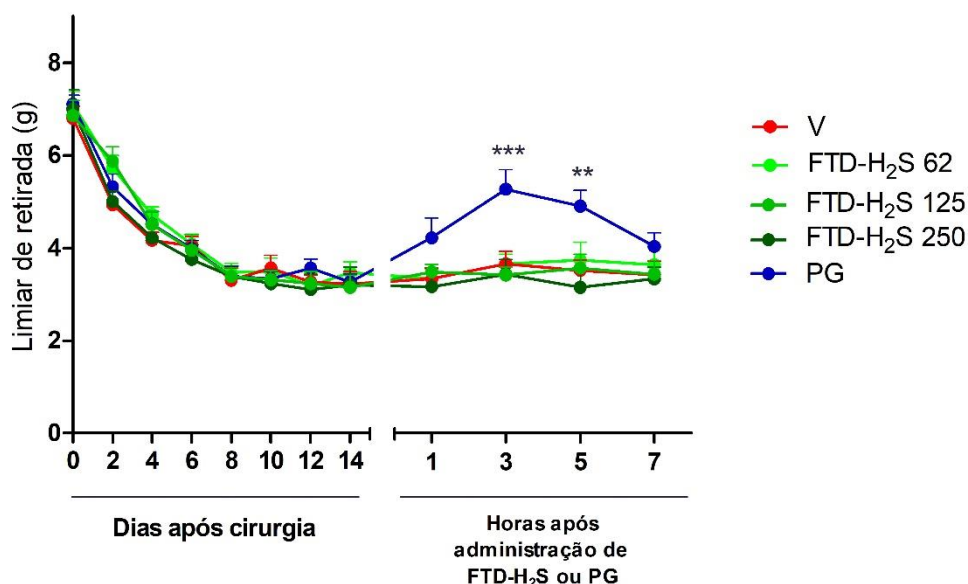
Fonte: elaborado pelo autor.

6.2.2 Efeito induzido pelo FTD-H₂S em modelo de dor neuropática

A alodínia mecânica foi avaliada em dias alternados durante 15 dias após a primeira administração de paclitaxel, administrado em quatro dias alternados sucessivos. Observou-se que a alodínia mecânica se estabeleceu de forma gradual após as

administrações de paclitaxel e se manteve até a última avaliação antes dos tratamentos. O FTD-H₂S, administrado *p.o.* nas doses de 62,5, 125 ou 250 mg/kg no 15º dia após a primeira administração de paclitaxel, não alterou a alodínia mecânica induzida por esse estímulo. A pregabalina, utilizada como controle positivo do experimento, reduziu a alodínia mecânica induzida por paclitaxel 3 e 5 h após sua administração (**Figura 16**).

Figura 16 – Efeitos induzidos por FTD-H₂S *p.o.* e pregabalina sobre a alodínia mecânica induzida por paclitaxel



FTD-H₂S: 62,5, 125 ou 250 mg/kg; *p.o.*; 15º dia após a primeira administração de paclitaxel.

Pregabalina (PG): 30 mg/kg; *p.o.*; 15º dia após a primeira administração de paclitaxel.

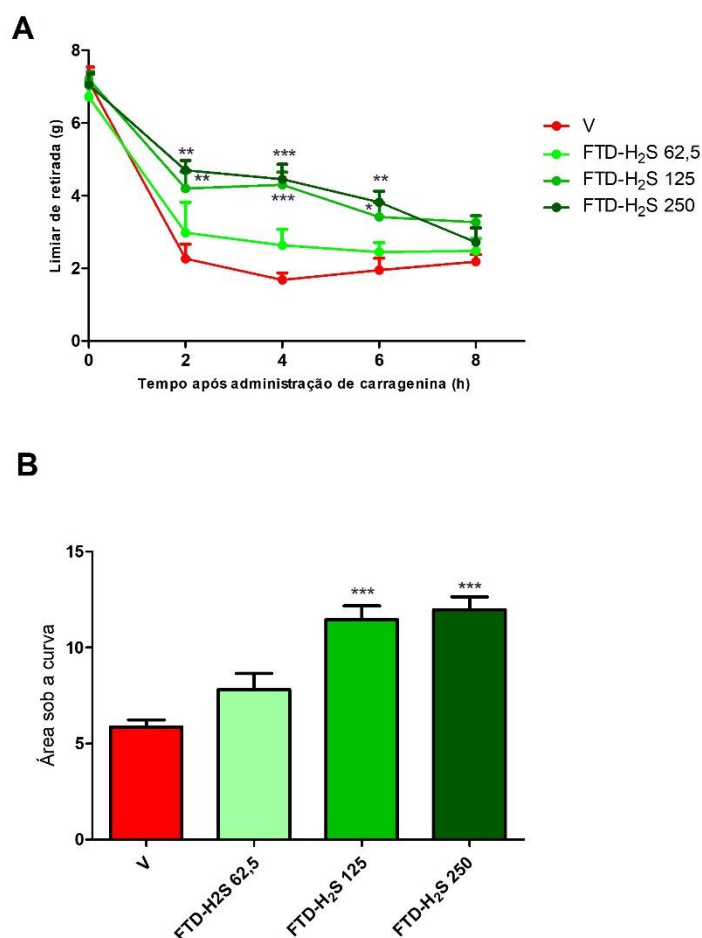
Paclitaxel: 8 mg/kg, *i.p.* V = veículo. ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle (V) ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n = 6$. Fonte: elaborado pelo autor.

6.2.3 Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S em modelos de dor inflamatória

Em experimentos preliminares, para avaliar a atividade do FTD-H₂S nos modelos de alodínia mecânica induzidos por carragenina, foi feita a administração *p.o.* da substância, nas doses de 5, 25 ou 125 mg/kg, 1 h antes da injeção *i.pl.* de carragenina. O FTD-H₂S, na dose de 125 mg/kg, inibiu a alodínia mecânica nas avaliações realizadas na 2^a, na 4^a e na 6^a h após injeção de carragenina. A dexametasona, utilizada como controle positivo do experimento, reduziu a alodínia mecânica induzida pela carragenina até a 6^a h (**Apêndice B**). A fim de determinar uma possível relação dose-atividade, doses maiores de FTD-H₂S foram utilizadas nos protocolos seguintes, 62,5, 125 ou 250 mg/kg, sendo a faixa de doses utilizada nos experimentos seguintes nos quais o FTD-H₂S foi administrado *p.o.*

Os animais do grupo controle, após a injeção *i.pl.* de carragenina, apresentaram diminuição acentuada do limiar nociceptivo, que se manteve reduzido durante todo o período de avaliação (2, 4, 6 e 8 h). A administração do FTD-H₂S, nas doses de 125 ou 250 mg/kg, atenuou a alodínia mecânica induzida por carragenina até a 6^a h após administração do estímulo inflamatório (**Figura 17**).

Figura 17 - Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S *p.o.* sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina



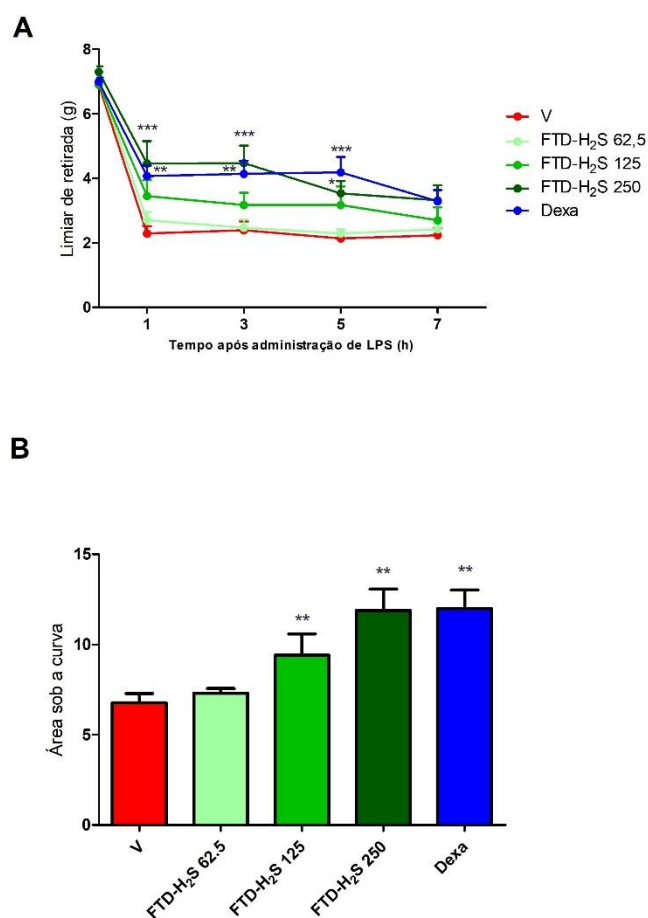
FTD-H₂S: 62,5, 125 ou 250 mg/kg; *p.o.*; - 1 h. Carragenina: 600 µg, 30 µL, i.pl. V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. *, ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle (V) ($p < 0,05$; $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n = 6$. Fonte: elaborado pelo autor.

A fim de determinar os efeitos induzidos pelo FTD-H₂S sobre respostas induzidas por outro estímulo inflamatório, foi feita uma caracterização prévia da alodínia mecânica e do edema de pata induzidos por LPS. Nesse protocolo, o LPS foi administrado por via i.pl. nas doses de 2, 10 ou 50 µg. O LPS, na dose de 10 µg, induziu alodínia mecânica até 5 h após sua administração. Administração de dose mais elevada (50 µg), que foi usada nos experimentos seguintes, induziu alodínia mecânica até 27 h (Apêndice C_A). Por outro lado, somente a maior dose do LPS induziu edema de pata, que foi de curta duração (Apêndice C_B). Assim, optou-se por avaliar, nos

experimentos seguintes nos quais foi utilizado o LPS como estímulo inflamatório, apenas a alodínia mecânica.

Para a avaliação da atividade do FTD-H₂S no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS, foi feita a administração da substância 1 h antes da injeção i.pl. de LPS. O grupo controle, após receber LPS, apresentou uma diminuição acentuada do limiar nociceptivo, que se manteve reduzido durante todo o período de avaliação (1, 3, 5 e 7 h). O FTD-H₂S, na dose de 250 mg/kg, inibiu a alodínia mecânica nas avaliações realizadas na 1^a, na 3^a e na 5^a h após injeção de LPS. A avaliação integrada dos resultados, por meio da área sob a curva, revelou uma redução da alodínia mecânica induzida pelo FTD-H₂S nas doses de 125 e 250 mg/kg. A dexametasona, utilizada como controle positivo do experimento, também reduziu a alodínia mecânica induzida por LPS até a 5^a h (**Figura 18**).

Figura 18 - Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S *p.o.* sobre a alodínia mecânica induzida por LPS



FTD-H₂S: 62,5, 125 ou 250 mg/kg; *p.o.*; - 1 h. Dexametasona (Dexa): 10 mg/kg, *p.o.*; - 1 h. LPS: 50 µg, 30 µL, *i.pl.* V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. *, ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle (V) ($p < 0,05$; $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n = 6$. Fonte: elaborado pelo autor.

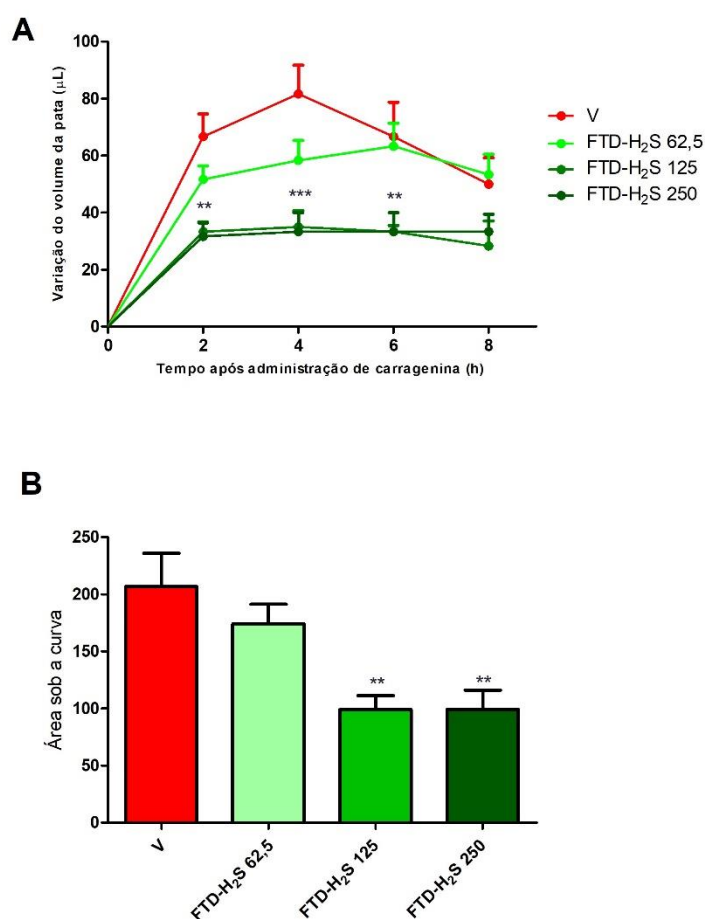
6.2.4 Efeito induzido pelo FTD-H₂S em modelo de edema inflamatório

A atividade do FTD-H₂S no modelo de edema induzido por carragenina foi avaliada logo após a avaliação dos efeitos induzidos por essa substância sobre a alodínia mecânica. Assim, o edema também foi avaliado em ensaio prévio, com doses menores (5, 25 ou 125 g/kg) de FTD-H₂S. O FTD-H₂S, na dose de 125 mg/kg, inibiu o edema na 2^a, na 4^a e na 6^a h após injeção de carragenina. A dexametasona, utilizada

como controle positivo do experimento, inibiu a formação do edema até a 8ª h (**Apêndice D**).

Assim como na avaliação da alodínia mecânica induzida pela carragenina, o efeito induzido pelo FTD-H₂S *p.o.*, nas doses de 25, 125 e 250 mg/kg, sobre o edema induzido por carragenina também foi avaliado. O edema de pata foi atenuado pelo FTD-H₂S, nas doses de 125 ou 250 mg/kg, até a 6ª h (**Figura 19**). O grupo controle, após receber carragenina, apresentou aumento significativo do volume da pata, com pico na 4ª hora avaliada.

Figura 19 - Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S *p.o.* sobre o edema de pata induzido por carragenina



FTD-H₂S: 62,5, 125 ou 250 mg/kg; *p.o.*; - 1 h. Carragenina: 600 µg, 30 µL, i.pl. V = veículo. (A)

Curso temporal e (B) área sob a curva. ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle (V) ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n=6$.

Fonte: elaborado pelo autor.

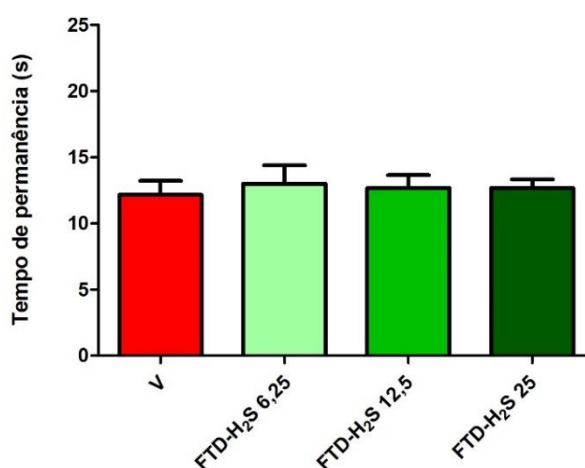
6.3 Efeito induzido pela administração por via i.p. de FTD-H₂S em modelos de dor e inflamação

A fim de reduzir o consumo de FTD-H₂S, que não é disponível comercialmente e é produzido por síntese orgânica com rendimento limitado, foi avaliado o efeito induzido por doses menores (6,25, 12,5 e 25 mg/kg) administradas pela via i.p. nos diferentes modelos de dor e inflamação.

6.3.1 Efeito induzido pelo FTD-H₂S em modelo de dor nociceptiva

O FTD-H₂S, administrado por via i.p., não inibiu a resposta nociceptiva induzida por calor, uma vez que não houve diferença estatisticamente significativa entre as latências médias dos grupos que receberam as diferentes doses da substância e a latência média do grupo controle (**Figura 20**).

Figura 20 - Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S por via i.p. sobre o tempo de permanência dos camundongos na placa quente

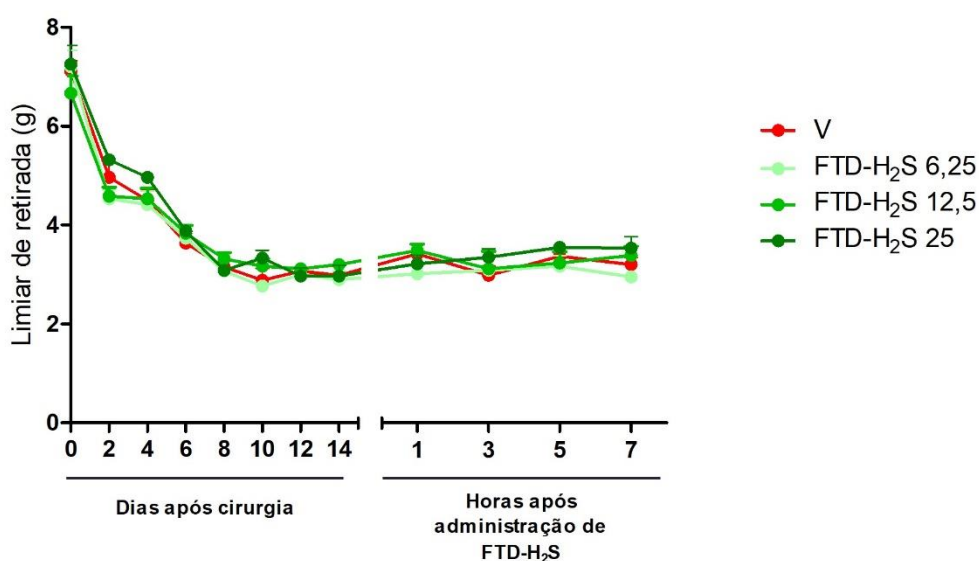


FTD-H₂S: 6,25, 12,5 ou 25 mg/kg; i.p.; - 1 h. V = veículo. n=6. Fonte: elaborado pelo autor.

6.3.2 Efeito induzido pelo FTD-H₂S em modelo de dor neuropática

A alodínia mecânica foi avaliada em dias alternados durante 15 dias após a primeira administração de paclitaxel, administrado em quatro dias alternados sucessivos. Observou-se, novamente, que a alodínia mecânica se estabeleceu de forma gradual após as administrações de paclitaxel e se manteve até a última avaliação antes dos tratamentos. O FTD-H₂S, administrado por via i.p. nas doses de 6,25, 12,5 ou 25 mg/kg no 15º dia após a primeira administração de paclitaxel, não alterou a alodínia mecânica induzida por esse estímulo (**Figura 21**).

Figura 21 – Efeito induzido pelo FTD-H₂S por via i.p. sobre a alodínia mecânica induzida por paclitaxel



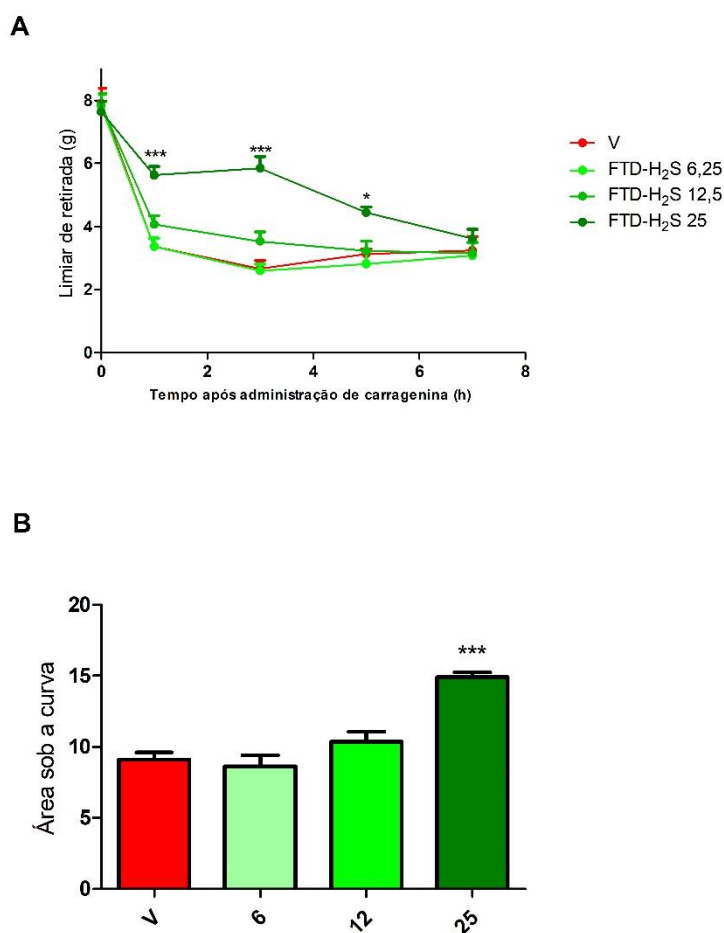
FTD-H₂S: 6,25, 12,5 ou 25 mg/kg; i.p.; 15º dia após a primeira administração de paclitaxel.

Paclitaxel: 8 mg/kg, i.p. V = veículo. n=6. Fonte: elaborado pelo autor.

6.3.3 Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S em modelos de dor inflamatória

A alodínia mecânica induzida por carragenina se estabeleceu, novamente, por todo o período avaliado no grupo controle. O FTD-H₂S foi administrado por via i.p. nas doses de 6,25, 12,5 e 25 mg/kg e reverteu a alodínia mecânica, na dose de 25 mg/kg, até a 5ª h após a administração da carragenina (**Figura 22**).

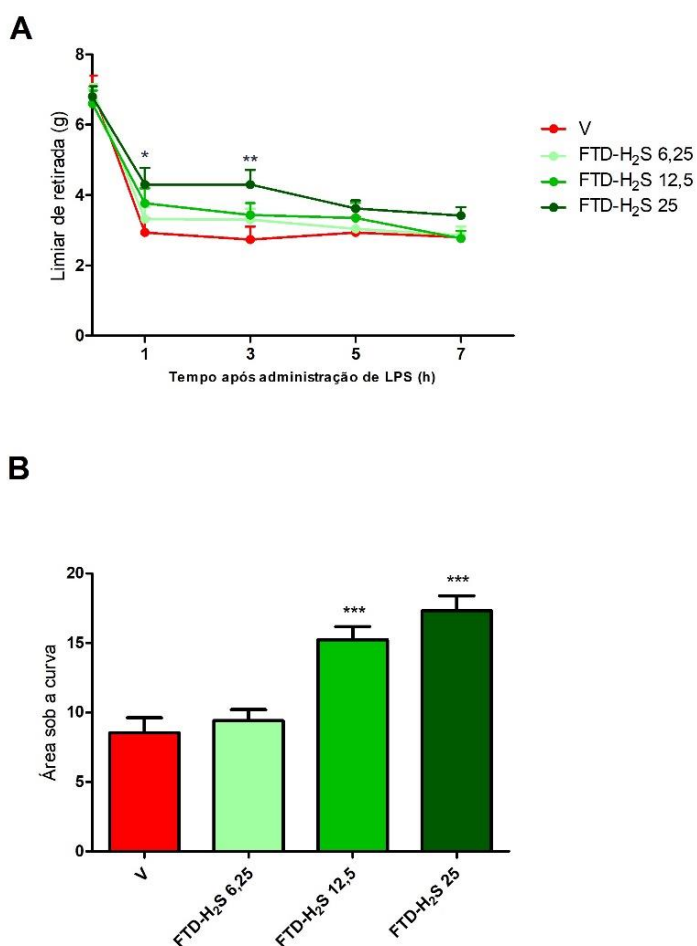
Figura 22 - Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S por via i.p. sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina



FTD-H₂S: 6,25, 12,5 ou 25 mg/kg; i.p.; - 1 h. Carragenina: 600 µg, 30 µL, i.pl. V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. * e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle (V) (p<0,05 e p<0,001, respectivamente). n=6. Fonte: elaborado pelo autor.

Na avaliação da atividade do FTD-H₂S no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS, observou-se que o FTD-H₂S, administrado por via i.p. na dose de 25 mg/kg, inibiu a alodínia mecânica nas avaliações realizadas na 1^a e 3^a h após injeção de LPS (**Figura 23A**). A avaliação integrada dos resultados, por meio da área sob a curva, revelou que a alodínia mecânica induzida pelo LPS foi reduzida pelas duas maiores doses (12,5 e 25 mg/kg) de FTD-H₂S (**Figura 23B**).

Figura 23: Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S por via i.p. sobre a alodínia mecânica induzida por LPS

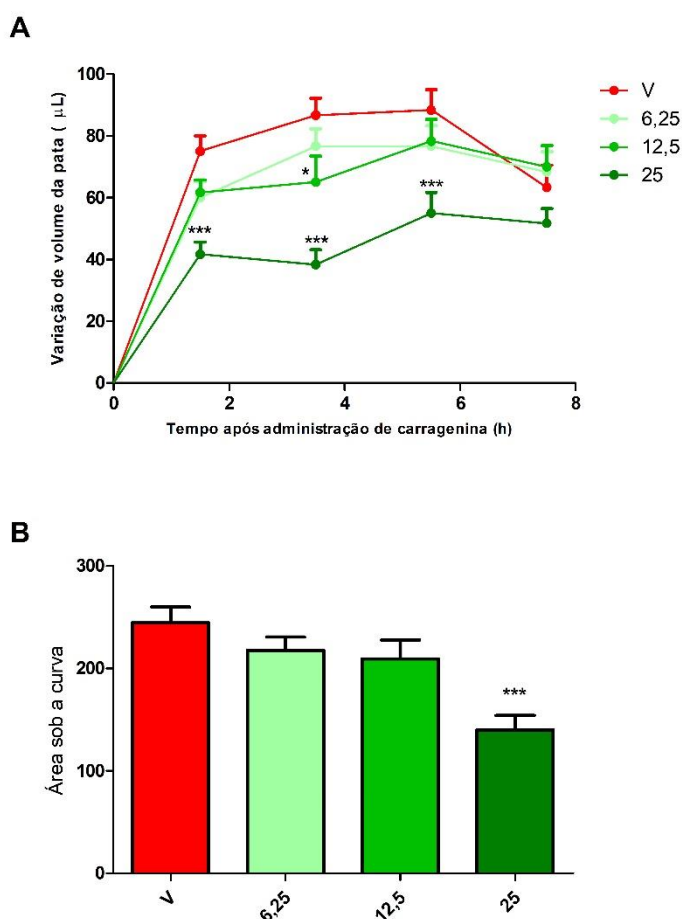


FTD-H₂S: 6,25, 12,5 ou 25 mg/kg; i.p.; - 1 h. LPS: 50 µg, 30 µL, i.pl. V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. *, ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle (V) (p<0,05; p<0,01 e p<0,001, respectivamente). n=6. Fonte: elaborado pelo autor.

6.3.4 Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S em modelo de edema inflamatório

Na avaliação da atividade do FTD-H₂S no modelo de edema induzido por carragenina, observou-se que o FTD-H₂S, administrado por via i.p. na dose de 25 mg/kg, inibiu o edema de pata até pelo menos a 5^a h após injeção de carragenina. Embora o FTD-H₂S na dose de 12,5 mg/kg tenha reduzido, pontualmente, o edema de pata na segunda avaliação (~3,5 h após o estímulo inflamatório), a avaliação integrada dos resultados, por meio da área sob a curva, não revelou diferença significativa, em relação ao grupo controle (**Figura 24**).

Figura 24 - Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S por via i.p. sobre o edema de pata induzido por carragenina



FTD-H₂S: 6,25, 12,5 ou 25 mg/kg; i.p.; - 1 h. Carragenina: 600 µg, 30 µL, i.pl. V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. * e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle (V) (p<0,05 e p<0,001, respectivamente). n=6. Fonte: elaborado pelo autor.

6.4 Efeitos induzidos pelo FTD-H₂S *p.o.* e por via *i.p.* sobre atividade motora

A atividade motora dos camundongos foi avaliada na haste girante com o objetivo de validar os resultados obtidos nos modelos de dor. O FTD-H₂S, administrado *p.o.* nas doses 62,5, 125 ou 250 mg/kg ou por via *i.p.*, nas doses 6,25, 12,5 ou 25 mg/kg não alterou o tempo de permanência dos animais na haste girante nos momentos avaliados (1, 3 e 6 h após administração da substância). Entretanto, o fenobarbital reduziu significativamente o tempo de permanência nos diferentes momentos de avaliação (**Tabela 1**).

Tabela 1 - Efeitos induzidos por FTD-H₂S e fenobarbital sobre o tempo de permanência dos animais na haste girante

Tratamento	Tempo de permanência (s)			
	0	1	3	6
Veículo	118,3 ± 2	118,8 ± 2	118,7 ± 1	120 ± 0
FTD-H ₂ S 62,5 mg/kg, <i>p.o.</i>	118,3 ± 2	120 ±	108,7 ± 11	120 ± 0
FTD-H ₂ S 125 mg/kg, <i>p.o.</i>	120 ± 0	120 ± 0	120 ± 0	120 ± 0
FTD-H ₂ S 250 mg/kg, <i>p.o.</i>	120 ± 0	120 ± 0	120 ± 0	120 ± 0
FTD-H ₂ S 6,25 mg/kg, <i>i.p.</i>	120 ± 0	120 ± 0	120 ± 0	120 ± 0
FTD-H ₂ S 12,5 mg/kg, <i>i.p.</i>	120 ± 0	120 ± 0	120 ± 0	120 ± 0
FTD-H ₂ S 25 mg/kg, <i>i.p.</i>	120 ± 0	120 ± 0	120 ± 0	120 ± 0
Fenobarbital 50 mg/kg	120 ± 0	22,17 ± 20 ***	43 ± 24 ***	50,33 ± 22 ***

FTD-H₂S: 62,5, 125 ou 250 mg/kg; *p.o.* ou 6,25, 12,5 ou 25 mg/kg; *i.p.* Fenobarbital: 50 mg/kg, *p.o.* Haste girante: 14 rpm. V = veículo. *** indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle (Veículo) ($p < 0,001$). n=6. Fonte: elaborado pelo autor.

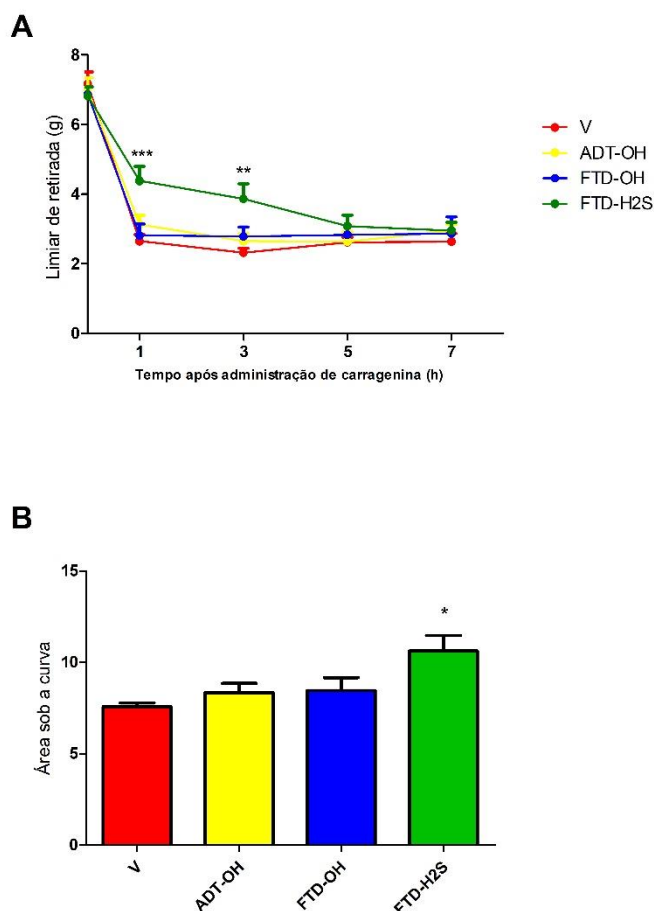
6.5 Atividade do FTD-H₂S em modelos de dor inflamatória e possíveis mecanismos envolvidos

Baseando-se na observação dos resultados obtidos nas avaliações anteriores, para os próximos experimentos, o FTD-H₂S foi administrado por via i.p. na dose de 25 mg/kg e suas atividades em modelos de dor inflamatória foram comparadas com seus precursores sintéticos e com o NaHS. Também, foram investigados os possíveis mecanismos envolvidos na atividade do FTD-H₂S nesses modelos.

6.5.1 Efeito induzido pelo FTD-H₂S e precursores sobre alodínia mecânica induzida por carragenina

De modo a comparar as atividades do FTD-H₂S com as dos seus precursores, ADT-OH e FTD-OH, foi realizada, inicialmente, uma avaliação da atividade dessas substâncias no modelo de alodínia mecânica induzida por carragenina. Foi observado que o FTD-H₂S (25 mg/kg, i.p.) reduziu a alodínia mecânica na 1^a e 3^a h após administração de carragenina, enquanto os precursores ADT-OH e FTD-OH (doses equimolares de 14,2 e 12 mg/kg, respectivamente, i.p.) não alteraram essa resposta (**Figura 25**).

Figura 25: Efeitos induzidos por FTD-H₂S, ADT-OH ou FTD-OH sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina

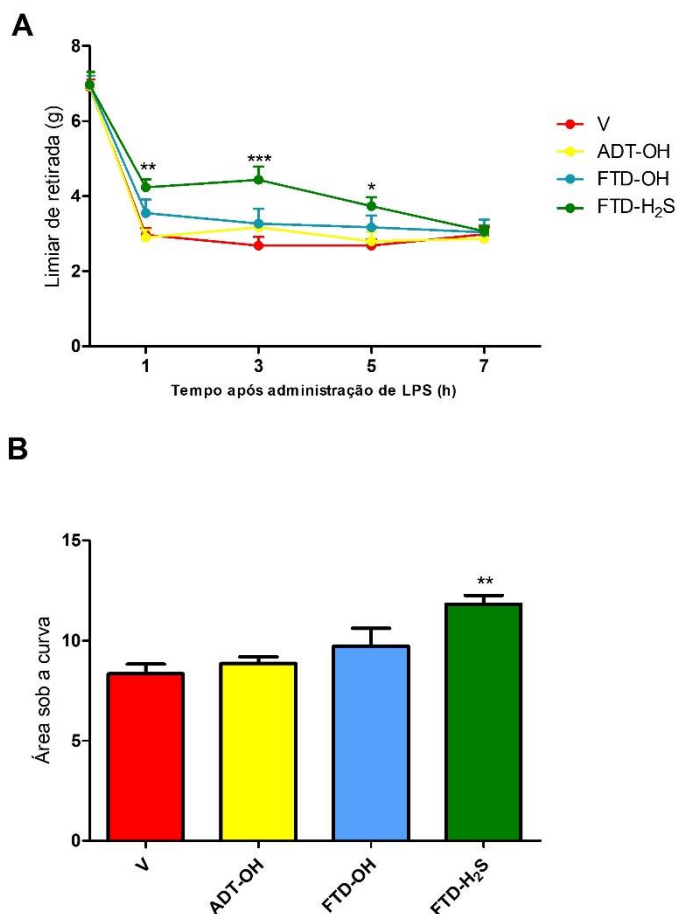


FTD-H₂S: 25 mg/kg; i.p.; - 1 h. ADT-OH: 14,2 mg/kg; i.p.; - 1 h. FTD-OH: 12 mg/kg; i.p.; - 1 h. Carragenina: 600 µg, 30 µL, i.pl. V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. *, ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle (V) (p<0,05; p<0,01 e p<0,001, respectivamente). n=6. Fonte: elaborado pelo autor.

6.5.2 Efeito induzido pelo FTD-H₂S e precursores sobre alodínia mecânica induzida por LPS

A comparação das atividades do FTD-H₂S com as do ADT-OH e do FTD-OH também foi realizada no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS. Assim, verificou-se que o FTD-H₂S (25 mg/kg, i.p.) reduziu a alodínia mecânica 1, 3 e 5 h após administração de LPS. Mais uma vez, foi observado que os precursores ADT-OH e FTD-OH, em doses equimolares (14,2 e 12 mg/kg, respectivamente, i.p.), não apresentam atividade no modelo (**Figura 26**).

Figura 26: Efeitos induzidos por FTD-H₂S, ADT-OH ou FTD-OH sobre a alodínia mecânica induzida por LPS



FTD-H₂S: 25 mg/kg; i.p.; - 1 h. ADT-OH: 14,2 mg/kg; i.p.; - 1 h. FTD-OH: 12 mg/kg; i.p.; - 1 h. LPS: 50 µg, 30 µL, i.pl. V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. *, ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle (V) (p<0,05; p<0,01 e p<0,001, respectivamente). n=6. Fonte: elaborado pelo autor.

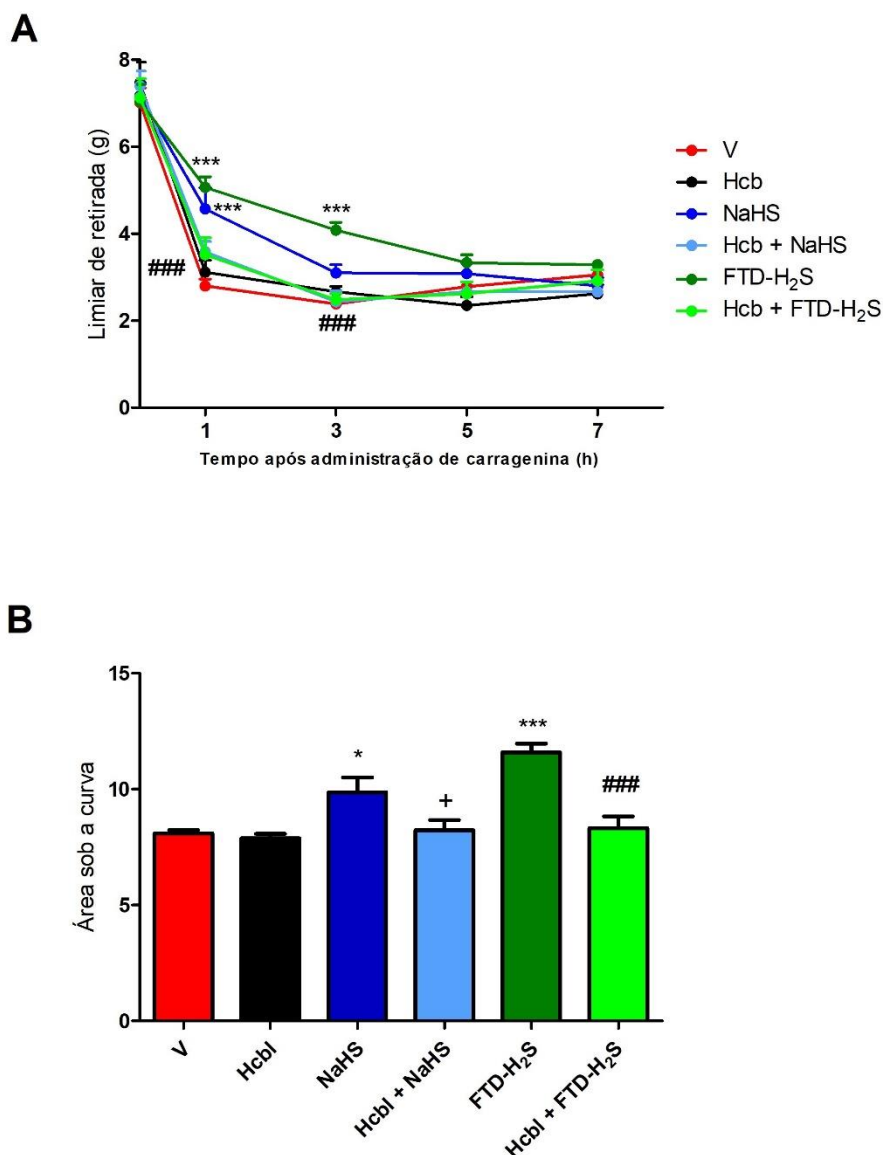
6.5.3 Efeito induzido pelo hidroxocobalamina sobre as atividades do FTD-H₂S e NaHS no modelo de alodínia mecânica induzida por carragenina

Nos experimentos utilizando a hidroxocobalamina como tratamento prévio ao FTD-H₂S, foram comparados os efeitos induzidos por FTD-H₂S com os efeitos induzidos por um conhecido doador de H₂S (NaHS). A dose de 8 mg/kg de NaHS foi estabelecida

de acordo com avaliação prévia do efeito induzido por diferentes doses de NaHS (0,5, 2 ou 8 mg/kg, i.p.) sobre a alodínia mecânica induzida por LPS (**Apêndice E**).

Para verificar o possível papel da liberação de H₂S na atividade do FTD-H₂S e do NaHS no modelo de alodínia mecânica induzida por carragenina, foi utilizada a hidroxocobalamina. A hidroxocobalamina foi administrada por via i.p. na dose de 300 mg/kg, 1 h antes da administração de FTD-H₂S (25 mg/kg, i.p.) ou NaHS (8 mg/kg, i.p.). A hidroxocobalamina, administrada isoladamente, não alterou a alodínia mecânica induzida por carragenina. Essa resposta foi inibida pelo tratamento com FTD-H₂S, 1 e 3 h após injeção de carragenina. Entretanto, quando houve a administração prévia de hidroxocobalamina, a atividade antialodínica do FTD-H₂S, 1 e 3 h após a administração de carragenina, foi revertida (**Figura 27A**). Uma avaliação integrada dos resultados, por meio da análise da área sob a curva, indicou reversão pelo pré-tratamento com a hidroxocobalamina das atividades antialodínicas do FTD-H₂S e do NaHS (**Figura 27B**).

Figura 27 – Efeitos induzidos pela hidroxocobalamina sobre a atividade do FTD-H₂S e NaHS em modelo de alodínia mecânica induzida por carragenina

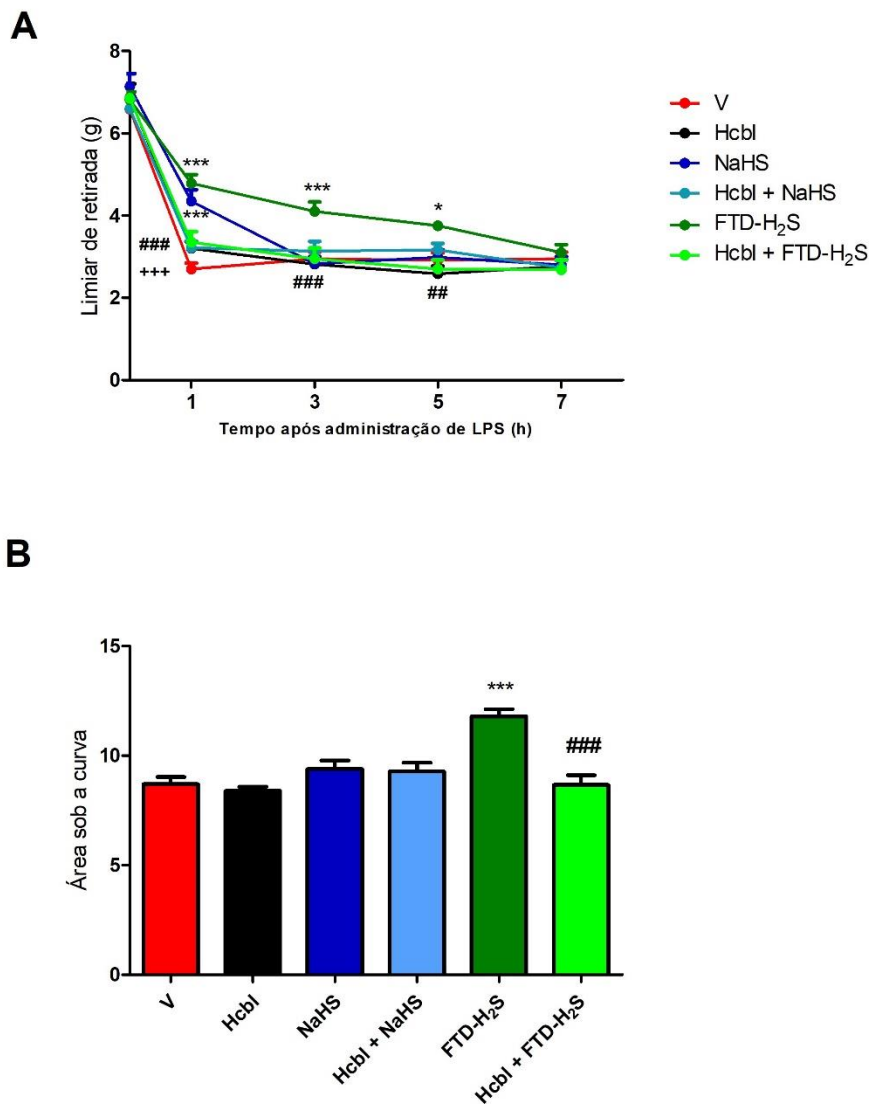


Hidroxocobalamina (Hcb): 300 mg/kg, i.p.; - 2 h. FTD-H₂S: 25 mg/kg, i.p.; - 1 h. NaHS :8 mg/kg, i.p.; -1 h. Carragenina: 600 µg, 30 µL, i.pl. V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. *** indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle (V) (p<0,001) . ### indica diferença estatisticamente significativa do grupo Hcb/FTD-H₂S em relação ao grupo tratado com FTD-H₂S (p<0,001) + indica diferença estatisticamente significativa em do grupo Hcb/NaHS relação ao grupo tratado com NaHS (p<0,05). n=6. Fonte: elaborado pelo autor.

6.5.4 Efeito induzido pelo hidroxocobalamina sobre as atividades do FTD-H₂S e NaHS no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS

A hidroxocobalamina também foi utilizada para verificar o possível papel da liberação de H₂S na atividade do FTD-H₂S e do NaHS no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS. Assim como no protocolo anterior, a hidroxocobalamina foi administrada por via i.p. na dose de 300 mg/kg, 1 h antes da administração de FTD-H₂S (25 mg/kg, i.p.) ou NaHS (8 mg/kg, i.p.). Quando administrada isoladamente, a hidroxocobalamina não alterou a alodínia mecânica induzida por LPS. Essa resposta foi inibida pelo tratamento com FTD-H₂S, 1, 3 e 5 h após injeção de LPS, ou NaHS, 1 h após injeção de LPS. Entretanto, quando houve a administração prévia de hidroxocobalamina as atividades antialodínicas do FTD-H₂S ou NaHS foram revertidas após a administração de LPS (**Figura 28A**). Uma avaliação integrada dos resultados, por meio da análise da área sob a curva, indicou reversão pelo pré-tratamento com a hidroxocobalamina apenas da atividade antialodínica do FTD-H₂S, devido à sua atividade de maior duração em relação ao NaHS (**Figura 28B**).

Figura 28 – Efeitos induzidos pela hidroxocobalamina sobre a atividade do FTD-H₂S e NaHS em modelo de alodínia mecânica induzida por LPS

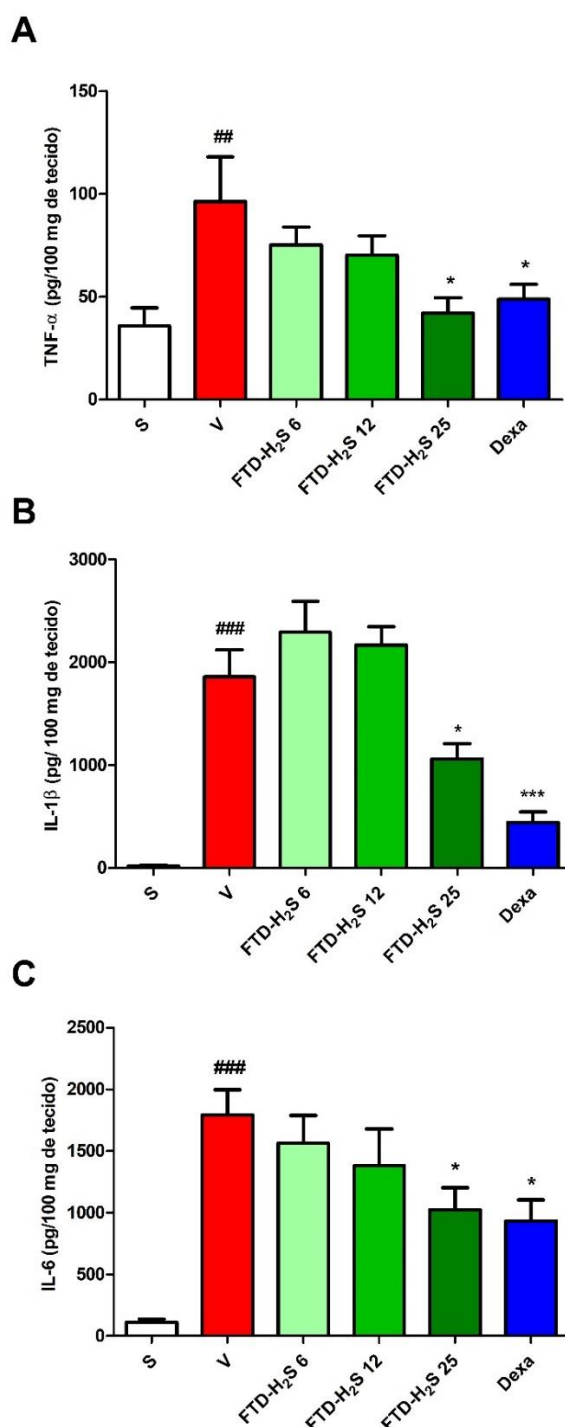


Hidroxocobalamina (Hcbl): 300 mg/kg, i.p.; - 2 h. FTD-H₂S: 25 mg/kg, i.p.; - 1 h. NaHS :8 mg/kg, i.p.; -1 h. LPS: 50 µg, 30 µL, i.pl. V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. *** indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle (V) ($p < 0,001$). ### indica diferença estatisticamente significativa do grupo Hcbl/FTD-H₂S em relação ao grupo tratado com FTD-H₂S ($p < 0,001$). + indica diferença estatisticamente significativa do grupo Hcbl/NaHS em relação ao grupo tratado com NaHS ($p < 0,05$). n=6. Fonte: elaborado pelo autor.

6.5.5 Efeito induzido pelo FTD-H₂S sobre a produção de TNF- α , IL-1 β e IL-6 induzida por carragenina

Imediatamente antes da coleta, a atividade do FTD-H₂S 25 mg/kg por via i.p. no modelo de alodínia mecânica induzida por carragenina foi confirmada. Três horas após a injeção i.pl. de carragenina (600 μ g), houve um aumento das concentrações de TNF- α , IL-1 β e IL-6 na pata dos animais. Foi observado que o tratamento prévio (1 h) com o FTD-H₂S (25 mg/kg, i.p.) reduziu as concentrações de TNF- α , IL-1 β e IL-6 na 3^a h após a injeção do estímulo inflamatório, assim também observado para o controle positivo dexametasona (10 mg/kg, p.o.) (**Figura 29**).

Figura 29 - Efeito induzido pelo FTD-H₂S sobre produção de citocinas induzida por carragenina



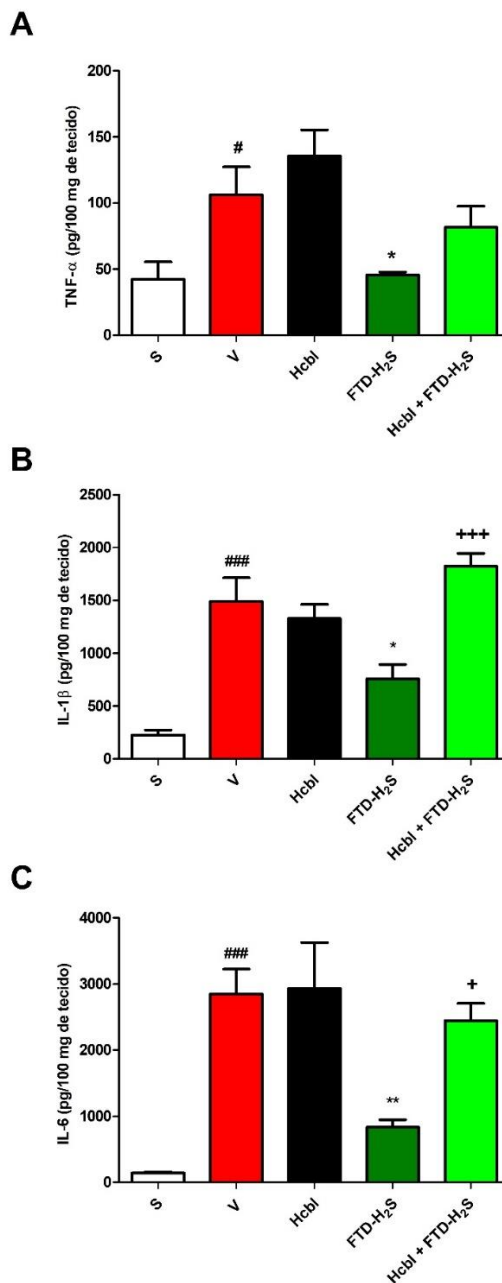
FTD-H₂S: 6,25, 12,5 ou 25 mg/kg, i.p., -1 h. Concentrações de (A) TNF- α (B) IL-1 β e IL-6 (C) 3 h após injeção de carragenina. Carragenina: 600 μ g, 30 μ L, i.pl. V = grupo veículo com estímulo.

S = grupo veículo sem estímulo. *, ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo V ($p > 0,05$, $p > 0,01$ e $p < 0,001$; respectivamente). ## e ### indicam diferenças estatisticamente significativas do grupo V em relação ao grupo S ($p < 0,01$ e $p < 0,001$; respectivamente). n=6. Fonte: elaborado pelo autor.

6.5.5.1 Efeito induzido pela hidroxocobalamina sobre a atividade inibitória do FTD-H₂S na produção de TNF- α , IL-1 β e IL-6 induzida por carragenina

A verificação do possível papel da liberação de H₂S na atividade do FTD-H₂S na produção de citocinas induzida por carragenina foi avaliada utilizando-se novamente a hidroxocobalamina. Como nos protocolos anteriores, a hidroxocobalamina foi administrada por via i.p. na dose de 300 mg/kg, 1 h antes da administração de FTD-H₂S (25 mg/kg, i.p.). Imediatamente antes da coleta, o efeito induzido pela hidroxocobalamina sobre a atividade do FTD-H₂S 25 mg/kg por via i.p. no modelo de alodínia mecânica induzida por carragenina foi confirmado. Mais uma vez, houve um aumento das concentrações de TNF- α , IL-1 β e IL-6 na 3^a h após a injeção i.p. de carragenina (600 μ g), revertido pelo tratamento prévio (1 h) com o FTD-H₂S (25 mg/kg, i.p.). A hidroxocobalamina, administrada isoladamente, não alterou a produção das citocinas. Entretanto, a administração prévia da hidroxocobalamina reverteu o efeito inibitório do FTD-H₂S sobre a produção de IL-1 β e IL-6 induzida por carragenina (**Figura 30**).

Figura 30 - Efeito induzido pela hidroxocobalamina sobre a atividade inibitória do FTD-H₂S sobre a produção de citocinas induzida por carragenina



Hidroxocobalamina (Hcbl): 300 mg/kg, i.p., -2 h. FTD-H₂S: 25 mg/kg, i.p., -1 h. Concentrações de (A) TNF- α (B) IL-1 β e IL-6 (C) 3 h após injeção de carragenina. Carragenina: 600 μ g, 30 μ L, i.pl.

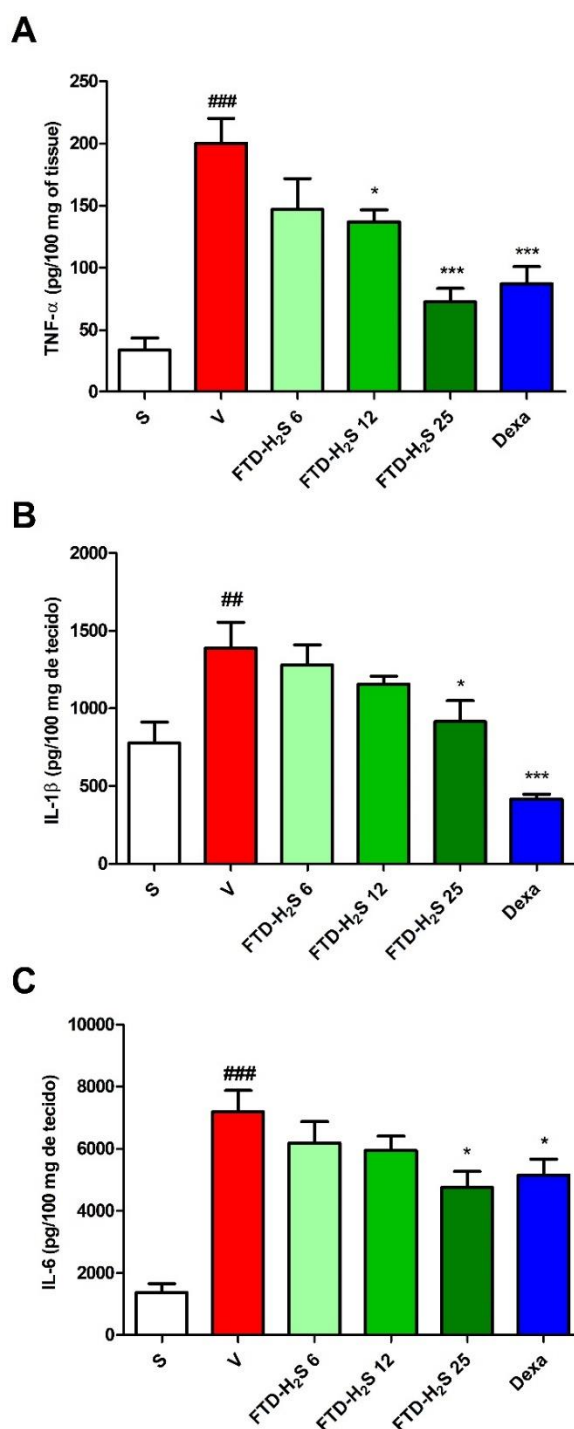
V = grupo veículo com estímulo. S = grupo veículo sem estímulo. * e ** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo V ($p > 0,05$ e $p > 0,01$; respectivamente). # e ### indicam diferenças estatisticamente significativas do grupo V em relação ao grupo S ($p < 0,05$ e $p < 0,001$; respectivamente). + e +++ indicam diferenças estatisticamente significativas do grupo Hcbl/FTD-H₂S em relação ao grupo FTD-H₂S ($p < 0,05$ e $p < 0,001$; respectivamente).

n=6. Fonte: elaborado pelo autor.

6.5.6 Efeito induzido pelo FTD-H₂S sobre a produção de TNF- α , IL-1 β e IL-6 induzidas por LPS

Imediatamente antes da coleta, a atividade do FTD-H₂S 25 mg/kg por via i.p. no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS foi confirmada. A injeção i.pl. de LPS (50 μ g) promoveu um aumento das concentrações de TNF- α , IL-1 β e IL-6, avaliadas 3 h após o estímulo. O tratamento prévio (1 h) com o FTD-H₂S (25 mg/kg, i.p.) ou dexametasona (10 mg/kg, *p.o.*) reduziu as concentrações de TNF- α , IL-1 β e IL-6 na 3^a h após a injeção do estímulo inflamatório (**Figura 31**). A redução de TNF- α 3 h pós-LPS também foi promovida pela administração de FTD-H₂S na dose de 12,5 mg/kg.

Figura 31 - Efeito induzido pelo FTD-H₂S sobre produção de citocinas induzida por LPS

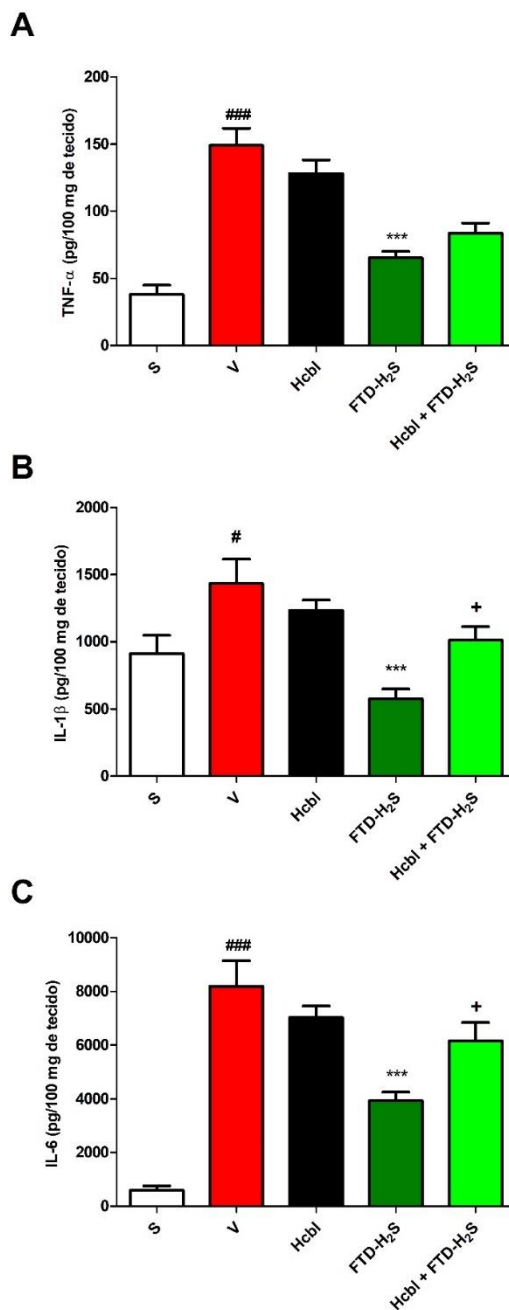


FTD-H₂S: 6,25, 12,5 ou 25 mg/kg, i.p., -1 h. Concentrações de (A) TNF- α (B) IL-1 β e IL-6 (C) 3 h após injeção de LPS. LPS: 50 μ g, 30 μ L, i.p. V = grupo veículo com estímulo. S = grupo veículo sem estímulo. * e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo V ($p > 0,05$ e $p < 0,001$; respectivamente). ## e ### indicam diferenças estatisticamente significativas do grupo V em relação ao grupo S ($p < 0,05$ e $p < 0,01$; respectivamente). n=6. Fonte: elaborado pelo autor

6.5.6.1 Efeito induzido pela hidroxocobalamina sobre a atividade inibitória do FTD-H₂S na produção de TNF- α , IL-1 β e IL-6 induzida por LPS

A hidroxocobalamina também foi utilizada para avaliar o papel da liberação de H₂S na atividade do FTD-H₂S na produção de citocinas induzida por LPS. Novamente, a hidroxocobalamina foi administrada por via i.p. na dose de 300 mg/kg, 1 h antes da administração de FTD-H₂S (25 mg/kg, i.p.). Imediatamente antes da coleta, o efeito induzido pela hidroxocobalamina sobre a atividade do FTD-H₂S 25 mg/kg por via i.p. no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS foi confirmado. As concentrações de TNF- α , IL-1 β e IL-6 na 3^a h após a injeção i.pl. de LPS (50 μ g) foram, como esperado, aumentadas, e o tratamento prévio (1 h) com o FTD-H₂S (25 mg/kg, i.p.) reverteu esses aumentos. A hidroxocobalamina, administrada isoladamente, não alterou a produção das citocinas induzida por LPS. Entretanto, o efeito inibitório do FTD-H₂S sobre a produção de IL-1 β e IL-6 induzidos por LPS foi revertido pela administração prévia de hidroxocobalamina. (**Figura 32**).

Figura 32 - Efeito induzido pela hidroxocobalamina sobre a atividade inibitória do FTD-H₂S sobre a produção de citocinas induzida por LPS



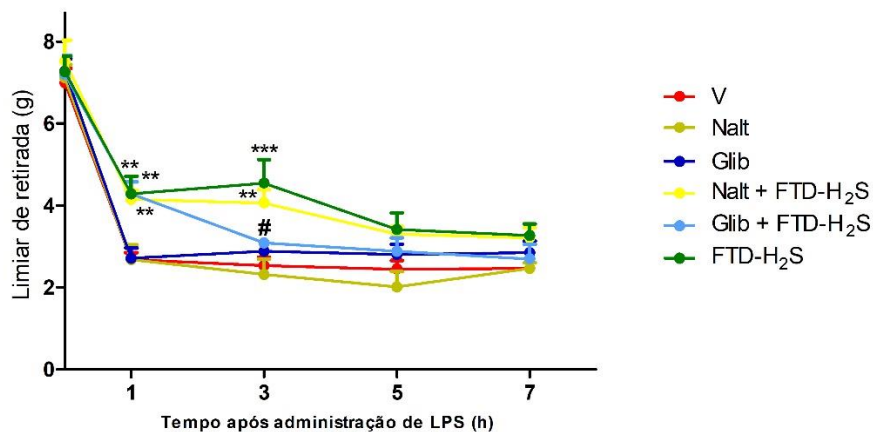
Hidroxocobalamina (Hcbl): 300 mg/kg, i.p., -2 h. FTD-H₂S: 25 mg/kg, i.p., -1 h. Concentrações de (A) TNF- α (B) IL-1 β e IL-6 (C) 3 h após injeção de LPS. LPS: 50 μ g, 30 μ L, i.pl. V = grupo veículo com estímulo. S = grupo veículo sem estímulo. *** indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo V ($p < 0,001$). # e ### indicam diferenças estatisticamente significativas do grupo V em relação ao grupo S ($p < 0,05$ e $p < 0,001$; respectivamente). + indica diferença estatisticamente significativa do grupo FTD-H₂S em relação ao grupo Hcbl/FTD-H₂S ($p < 0,05$). n=6. Fonte: elaborado pelo autor.

6.5.7 Efeito induzido pela glibenclamida e naltrexona sobre a atividade do FTD-H₂S no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS

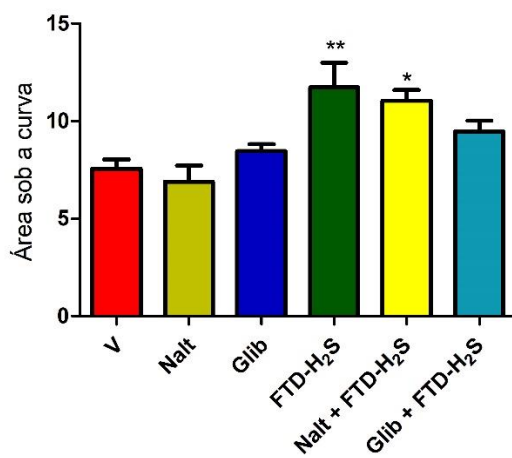
De modo a investigar os possíveis mecanismos que mediam a atividade antialodínica de FTD-H₂S, um bloqueador de canais para potássio ATP-dependente (glibenclamida) e um antagonista opioide (naltrexona) foram usados. Mais uma vez, a administração prévia de FTD-H₂S (25 mg/kg, i.p., -1 h) inibiu a alodinia mecânica induzida por LPS. As administrações de glibenclamida (40 mg/kg; *p.o.*) ou naltrexona (10 mg/kg, i.p.), isoladamente, não afetaram a alodinia mecânica induzida por LPS (**Figura 33**). A glibenclamida atenuou parcialmente a atividade antialodínica do FTD-H₂S, revertendo a inibição promovida pelo híbrido na 3^a h após a injeção de LPS (**Figura 33A**).

Figura 33 – Efeitos induzidos pela naltrexona ou glibenclamida sobre a atividade do FTD-H₂S em modelo de alodínia mecânica induzida por LPS

A



B



Naltrexona (Nalt): 10 mg/kg, i.p.; - 2 h. Glibenclamida (Glib): 40 mg/kg, p.o.; - 2 h. FTD-H₂S: 25 mg/kg, i.p.; - 1 h. LPS: 50 µg, 30 µL, i.pl. V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. *, ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle (V) (p<0,001). # indica diferença estatisticamente significativa do grupo em relação ao grupo tratado com FTD-H₂S (p<0,05). n=6. Fonte: elaborado pelo autor.

7 DISCUSSÃO

As limitações apresentadas por muitos fármacos utilizados como analgésicos e anti-inflamatórios, como eficácia reduzida e segurança inadequada, instigam a busca por novas terapias para pacientes acometidos por condições dolorosas ou inflamatórias e ainda representam um grande desafio. Assim, a busca por novas alternativas farmacoterapêuticas torna-se necessária. Diversas atividades relacionadas às substâncias ftalimídicas ou doadoras de H₂S têm sido demonstradas. O desenvolvimento de moléculas, denominadas híbridos, a partir de uma estrutura ftalimídica ou de um doador de H₂S acoplado a uma outra substância ou estrutura com atividades conhecidas tem se mostrado ser uma abordagem promissora para a caracterização de substâncias com várias atividades em modelos experimentais e eficácia em ensaios clínicos. No presente estudo, foi avaliada a atividade do híbrido ftalimídico doador de H₂S, FTD-H₂S, em diferentes modelos de dor e inflamação. Foi observado que o FTD-H₂S é capaz de liberar H₂S *in vitro* e, após administração de várias doses por diferentes vias, apresenta atividade em modelos de dor inflamatória e edema inflamatório. A atividade do FTD-H₂S em modelos de dor inflamatória parece envolver liberação de H₂S, redução da produção de citocinas e ativação de canais K_{ATP}. Foi verificado, ainda, que o FTD-H₂S apresenta atividade antialodínica mais duradoura quando comparada àquela do NaHS, um doador de H₂S bastante utilizado em estudos que avaliam as atividades do H₂S, e de maior magnitude quando comparado a seus precursores sintéticos, a estrutura ftalimídica FTD-OH e a unidade doadora de H₂S ADT-OH.

7.1 Caracterização das atividades do FTD-H₂S em modelos de dor e inflamação

Previamente aos experimentos que avaliassem possíveis mecanismos envolvidos nas atividades de FTD-H₂S, a caracterização das atividades do FTD-H₂S em diferentes doses e vias de administração em diversos modelos foi realizada.

Apesar do uso de uma ampla faixa de doses, as primeiras avaliações demonstraram que apenas a maior dose do FTD-H₂S, 125 mg/kg, induzia efeitos em modelos de alodínia mecânica e edema induzidos por carragenina. Visando obter melhor perfil

dessas atividades e identificar atividades que pudessem ocorrer de maneira dose-dependente, foram feitas novas avaliações com doses maiores do FTD-H₂S. Embora o FTD-H₂S tivesse apresentado atividades nas duas maiores doses utilizadas, 125 e 250 mg/kg nos modelos de alodínia e edema induzidos por carragenina, não ficou evidente uma relação dose-resposta, não havendo diferenças estatísticas entre os efeitos induzidos pelas duas doses da substância. No modelo de alodínia mecânica induzida por LPS, entretanto, essa relação ficou mais evidente.

Embora houvesse a possibilidade de conduzir novas avaliações com uma faixa de doses ainda maiores, a disponibilidade do FTD-H₂S demonstrou ser uma limitação, visto que a substância é inédita, não está disponível comercialmente e sua síntese envolve etapas complexas, com rendimento limitado durante as diferentes etapas do processo, com rendimento final de 42% (MELO *et al.*, 2023). Assim, no presente estudo, foi proposta a mudança da administração *p.o.* para a via *i.p.* que, embora também seja passível de metabolismo hepático e não reflita o que ocorre normalmente em situações clínicas, possui vantagens em relação ao tempo de absorção e biodisponibilidade (CLAASEN, 1994), possibilitando o uso de doses menores do FTD-H₂S. Assim, de maneira semelhante aos resultados obtidos pela administração *p.o.* de FTD-H₂S, mas em doses menores, o FTD-H₂S, quando administrado por via *i.p.*, apresentou atividades em modelos de dor e edema inflamatórios, mas não em modelos de dor neuropática ou nociceptiva. Foi estabelecida, então, a dose 25 mg/kg de FTD-H₂S, administrada por via *i.p.*, para os experimentos posteriores.

7.1.1 Atividade do FTD-H₂S em modelos de dor

A carragenina é uma mistura de polissacarídeos extraída de algas marinhas da família *Rhodophyceae* e composta, principalmente, por D-galactose sulfatada. A injeção *i.pl.* de carragenina induz processo inflamatório local, que envolve a produção e ação de vários mediadores inflamatórios e resulta em maior sensibilidade aos estímulos térmicos e mecânicos no local da lesão. A alodínia mecânica é uma resposta amplamente reconhecida e indica a sensibilização marcante dos nociceptores induzida por múltiplos mediadores inflamatórios (POSADAS *et al.*, 2004; GREGORY *et al.*, 2013).

No presente estudo, a alodínia mecânica induzida pela injeção i.pl. de carragenina foi inibida pelo FTD-H₂S, nas doses de 125 ou 250 mg/kg (p.o.) ou 25 mg/kg (i.p.). Atividades de análogos ftalimídicos ou doadores de H₂S em modelos de dor inflamatória induzida por carragenina têm sido demonstradas em diversos estudos. Em modelo de dor inflamatória, semelhante ao utilizado no presente estudo, o análogo ftalimídico N-(4-metil-fenil)-4-metilftalimida (denominado MPMPH-1) reverteu a redução do limiar de retirada de pata induzido por diversos estímulos, entre os quais a carragenina (DA SILVA *et al.*, 2017). A mesma atividade foi observada após administração, em camundongos, de um híbrido doador de H₂S e NO, desenvolvido a partir do ácido acetilsalicílico (NIA *et al.*, 2013; FONSECA *et al.*, 2015). Foi demonstrada a atividade de análogos ftalimídicos em um experimento também utilizando a carragenina como estímulo, dessa vez um modelo de hiperalgesia, com a administração prévia do estímulo antes da avaliação do tempo de permanência dos animais na placa quente (CASAL *et al.*, 2016).

Em modelo de sinovite induzida pela injeção de carragenina na articulação do joelho de ratos, foi demonstrado que o reagente de Lawesson inibe a alodínia e induz efeito sobre outros parâmetros indicativos da resposta dolorosa, como a mobilidade dos animais (EKUNDI-VALENTIM *et al.*, 2010). Em modelo semelhante foi demonstrada a redução da alodínia pelo híbrido doador de H₂S desenvolvido a partir do naproxeno, o ATB-346 (EKUNDI-VALENTIM *et al.*, 2013) e pelo sal inorgânico doador de H₂S Na₂S (ANDRUSKI *et al.*, 2008).

O LPS é uma endotoxina derivada da membrana externa das bactérias Gram-negativas (ZHANG *et al.*, 2013) e tem sido amplamente utilizado como indutor de respostas inflamatórias e/ou respostas relacionadas, como febre, hiperalgesia e alodínia (CAHILL *et al.* 1998). A injeção local de LPS induz a formação de bradicinina (POOLE *et al.*, 1999), que, por sua vez, é capaz de induzir a formação de TNF- α e vários outros mediadores, como interleucinas, e a expressão de ciclooxygenases. Esses mediadores, em concentrações mais elevadas, ativam e sensibilizam nociceptores (FERREIRA *et al.*, 1993; CUNHA *et al.*, 2000), o que resulta, em maior sensibilidade a estímulos mecânicos no local da lesão, caracterizando, assim, a dor inflamatória. O LPS é um agonista do receptor *toll-like* do tipo 4 (TLR4) e do receptor

de potencial transitório anquirina 1 (TRPA1), cuja ativação normalmente resulta em resposta pró-inflamatória e ativação de nociceptores, o que explica o uso do LPS como estímulo em modelos de dor inflamatória (CALIL *et al.*, 2014; MESEGUER *et al.*, 2014; CARPENTER *et al.*, 2019). Assim, a determinação da alodínia mecânica nesse modelo também pode indicar a sensibilização e ativação dos nociceptores como resultado da ação desses diversos mediadores inflamatórios.

Ao contrário da maioria dos modelos adotados no presente estudo, a alodínia mecânica induzida pelo LPS não havia sido padronizada pelo nosso grupo de pesquisa. Assim, foi feita uma avaliação preliminar dos efeitos induzidos pelo LPS em diferentes doses, de acordo com informações fornecidas por estudos prévios nos quais o LPS foi utilizado como estímulo em modelos de dor (FERREIRA *et al.*, 1993; MESEGUER *et al.*, 2014). Após a avaliação inicial, foi selecionada a dose de 50 µg, que induziu alodínia mecânica de forma mais eficaz e persistente. O FTD-H₂S, nas doses de 125 ou 250 mg/kg (*p.o.*) ou 25 mg/kg (*i.p.*), inibiu a alodínia mecânica induzida pela injeção *i.pl.* de LPS. Similarmente, o análogo ftalimídico MPMPH-1 também foi capaz de reduzir essa resposta frente à administração *i.pl.* de LPS (DA SILVA *et al.*, 2017). Cunha *et al.* (2008) demonstraram que o NaHS, um conhecido doador de H₂S, também apresenta atividade em modelo de hipernocicepção induzida por LPS. Assim, a atividade do FTD-H₂S nesse modelo de dor inflamatória induzida por LPS pode estar relacionada com sua estrutura ftalimídica e sua possível propriedade de liberação de H₂S.

A alodínia mecânica, induzida por outros estímulos, também é reduzida pela administração de substâncias com estrutura ftalimídica ou doadores de H₂S. Nosso grupo de pesquisa, recentemente, demonstrou a atividade de análogos ftalimídicos de estruturas simples em modelo de alodínia mecânica induzida por CFA (BATISTA *et al.*, 2019). A redução alodínia mecânica induzida por CFA também tem sido observada em avaliações de atividades de doadores de H₂S (REDONDO *et al.*, 2017; PORTA *et al.*, 2021). Em modelos experimentais de câncer ósseo, a redução da alodínia mecânica também é induzida pelo análogo ftalimídico MPMPH-1 (SANTIN *et al.*, 2019) ou pela inalação de H₂S em modelo similar (ZHUANG *et al.*, 2017). Doadores de H₂S também reduzem a alodínia em modelo de osteoartrite induzida por iodoacetato monossódico (BATALLÉ *et al.*, 2020) e em modelo de retirada abrupta de

opioides (YANG *et al.*, 2014). De modo similar, híbridos também apresentam atividade nesses modelos. A alodínia térmica é revertida por um híbrido ftalimídico acoplada a análogos do GABA (YOGEE SWARI *et al.*, 2008), enquanto um derivado da mesalazina doador de H₂S inibe a alodínia em modelo de distensão colorretal (DISTRUTTI *et al.*, 2006a).

O FTD-H₂S não elevou a latência do comportamento nociceptivo no modelo da placa quente. Cunha *et al.* (2008), ao estudarem o papel do H₂S endógeno e exógeno em modelos de dor, verificaram que o NaHS não apresenta atividade no modelo de placa quente, ao passo que atividade em modelos de dor inflamatória é observada. De modo semelhante, Baskin *et al.* (2022) também não observaram atividade antinociceptiva do NaHS no modelo de placa quente, enquanto a atividade antinociceptiva foi observada no modelo de contorções induzidas por ácido acético. O mesmo perfil de atividade foi observado para híbridos ftalimídicos, onde Dziubina *et al.* (2022) constataram que essas substâncias também apresentavam atividades em modelo de contorções induzidas por ácido acético, mas não em placa quente. Nesse modelo, ocorre a ativação de receptores da família TRP pelo estímulo nocivo (calor) (TOMINAGA, 2007). Tem sido demonstrado que analgésicos que atuam, principalmente, por meio de mecanismos centrais são capazes de inibir a resposta nociceptiva induzida por calor (VOGEL, 2002). Assim, embora o FTD-H₂S pode realmente não induzir qualquer efeito sobre o processamento nociceptivo nesse modelo, a ausência de atividade pode ser resultado de baixas concentrações da molécula no SNC e, assim, estudos adicionais avaliando e efeitos induzidos pela administração central do FTD-H₂S podem ser necessários para obtenção de conhecimento mais amplo do perfil de atividade dessa substância nesse modelo experimental.

No presente estudo, também foi avaliada a atividade do FTD-H₂S em um modelo de sensibilização induzida pelo quimioterápico paclitaxel, que mimetiza a dor neuropática relatada por pacientes oncológicos durante a quimioterapia (MORAIS *et al.*, 2018). O FTD-H₂S, nas doses e vias avaliadas, não reverteu a alodínia mecânica induzida pela administração de paclitaxel. Uma abordagem similar, utilizando paclitaxel e oxaliplatina como estímulos, foi utilizada por Di Cesare Mannelli *et al.* (2017) em um modelo de dor neuropática, no qual doadores de H₂S (NaHS, alil-isotiocianato, fenil-

e carboxilfenil-isotiocianato), administrados por via subcutânea, apresentam atividades em testes de sensibilidade ao frio. A administração de híbridos ftalimídicos (YOGEE SWARI *et al.* 2008) e a inalação de H₂S (KIDA *et al.* 2015) reduzem a alodínia mecânica e a hiperalgesia térmica induzidas por constrição do nervo isquiático, outro modelo de dor neuropática utilizado em estudos experimentais. Assim, apesar da atividade relacionada ao uso de híbridos ftalimídicos e à liberação de H₂S em modelos de dor neuropática ser demonstrada, alguns fatores devem ser considerados, como vias de administração, doses ou esquemas terapêuticos e estímulos utilizados, além de parâmetros avaliados no modelo.

Com o objetivo de investigar se a atividade antialodínica apresentada pelo FTD-H₂S poderia resultar de incoordenação motora e/ou relaxamento muscular, avaliou-se o efeito induzido por essa molécula sobre o tempo de permanência dos animais na haste girante. Uma vez que o FTD-H₂S não alterou o tempo de permanência dos animais na haste girante, é pouco provável que a atenuação do comportamento nociceptivo induzida por essa substância nos modelos utilizados seja resultado de comprometimento da atividade motora ou de relaxamento muscular. Essa observação, além de validar os resultados encontrados, coincide com aquelas feitas em outros estudos que demonstraram ausência de relação entre administração de análogos ftalimídicos (DA SILVA *et al.* 2017) ou doadores de H₂S (CAMPOLO *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2015) e incoordenação motora.

7.1.2 Atividade do FTD-H₂S em modelo experimental de inflamação aguda

A administração local de carragenina induz migração de neutrófilos para o sítio inflamatório, que resulta na produção de vários mediadores. Um dos sinais resultantes, o edema, é bastante útil para avaliar a atividade anti-inflamatória de substâncias e estudar a contribuição de mediadores envolvidos nos eventos vasculares associados ao processo inflamatório (SALVEMINI *et al.*, 1996).

Assim, em concordância com sua atividade no modelo de dor inflamatória induzida também pela carragenina, o FTD-H₂S, nas doses de 125 ou 250 mg/kg (*p.o.*) ou 25 mg/kg (*i.p.*), inibiu o edema. Vários resultados semelhantes utilizando outras

estruturas ftalimídicas ou doadores de H₂S foram obtidos por outros pesquisadores. Análogos ftalimídicos desenvolvidos a partir de algumas substituições no anel ftalimida reduzem o edema induzido por carragenina (COLLIN *et al.*, 2001; ASSIS *et al.*, 2014; CASAL *et al.*, 2016; SU *et al.*, 2017; BANAROU EI *et al.*, 2019). Outros grupos de pesquisa também demonstraram a redução de edema induzido por carragenina em animais tratados com doadores de H₂S como NaHS, Na₂S (ZANARDO *et al.*, 2006), ácido lipoico (DUDEK *et al.*, 2013) e dialil dissulfeto (ZHANG *et al.*, 2020). Zanardo *et al.* (2006) ainda demonstraram que a inibição da produção endógena de H₂S, através da administração do inibidor da atividade de CSE, β-cianoalanina, aumenta o edema de pata induzido pela carragenina, reforçando o papel do H₂S no modelo e, conseqüentemente, no controle do processo inflamatório. O edema induzido por carragenina é reduzido pela administração de híbridos ftalimídicos derivados de arilssulfonamidas (ALEXANDRE-MOREIRA *et al.*, 2005), pirimidinas (FALCAO *et al.*, 2006), pirazolininas (POPHALE e DEODHAR, 2010), piridonas (SINGH *et al.*, 2021), hidrazinas (IAMN *et al.*, 2016) e triazóis (ASSIS *et al.*, 2019), assim como híbridos doadores de H₂S desenvolvidos a partir de estruturas como diclofenaco (BHATIA *et al.*, 2005b; SIDHAPURIWALA *et al.*, 2007), ácido acetilsalicílico (KODELA *et al.*, 2012) e ibuprofeno (HASSAN *et al.*, 2019; GYÖNGYÖSI *et al.*, 2021).

Outros estudos demonstraram que estruturas ftalimídicas ou doadores de H₂S também reduzem o edema em outros modelos, utilizando diferentes estímulos e/ou locais de avaliação, como: edema cerebral por hemorragia subaracnoide (CAO *et al.*, 2016), em modelo de ressuscitação após parada cardíaca (GENG *et al.*, 2015) ou em modelo de neuroinflamação após hemorragia intracerebral (ZHAO *et al.*, 2017); edema pulmonar induzido por clampeamento aórtico infra-renal (TANG *et al.*, 2017) ou ligadura e punção cecal (LI *et al.*, 2022a); edema de articular induzida por zimosano (DIEF *et al.*, 2015) ou CFA (LI *et al.*, 2013) e edema de orelha induzido por forbol (COLLIN *et al.*, 2001), capsaicina (DOS SANTOS *et al.*, 2011) ou xileno (MENG *et al.*, 2007; SONG *et al.*, 2016). Antes de sua avaliação em ensaios clínicos, foi demonstrado que o híbrido naproxeno-H₂S, ATB-346, reduz o edema induzido por CFA (WALLACE *et al.*, 2010) e o edema articular induzido por zimosano (DIEF *et al.*, 2015).

7.2 Atividades do FTD-H₂S e mecanismos envolvidos

No presente estudo, foi demonstrado que o FTD-H₂S libera H₂S *in vitro*. Essa observação foi feita utilizando-se o método de azul de metileno. Esse método baseia-se na reação do sulfeto com N,N-dimetil-p-fenilenodiamina na presença de cloreto férrico, em condição ácida. O azul de metileno formado apresenta alta absorvidade molar em torno de 670 nm (HUGHES *et al.*, 2009). Embora existam limitações em relação ao método, como falta de seletividade e sensibilidade (IBRAHIM *et al.*, 2021), esse método, além de ser mais simples e de menor custo comparado a outros métodos como o uso de sondas fluorescentes e amperometria, é um dos mais utilizados em estudos que utilizam doadores de H₂S ou avaliam produção de H₂S endógena. De fato, vários estudos citados anteriormente utilizaram esse método para verificar produção de H₂S em soluções, células ou tecidos (ZHAO *et al.*, 2001; LI *et al.*, 2007; SIDHAPURIWALA *et al.*, 2007; LI *et al.*, 2008a; MUZAFFAR *et al.*, 2008; LEE *et al.*, 2010; KODELA *et al.*, 2012; KWIATKOSKI *et al.*, 2013; ZHOU *et al.*, 2014a; DIEF *et al.*, 2015; GAO *et al.*, 2015; ZHAO *et al.*, 2017; BOURQUE *et al.*, 2018; QIU *et al.*, 2018; QABAZARD *et al.*, 2020; BONARDI *et al.*, 2022; ZHONG *et al.*, 2022; ZHOU *et al.*, 2022). O FTD-H₂S possui solubilidade limitada e, por isso, optou-se por utilizar concentrações em que a soluções se apresentassem mais límpidas (até 500 µM), visto que a turbidez da solução pode interferir nos valores de absorbância obtidos. A observação que o FTD-H₂S libera H₂S em solução gera a expectativa que essa liberação também ocorra *in vivo*. De fato, é constatado que a liberação de H₂S por híbridos com o ADT-OH em sua estrutura ocorre em maior magnitude quando na presença de homogenatos de tecido, como fígado, ou plasma do que em solução não-biológica somente (DISTRUTTI *et al.*, 2006a; LI *et al.*, 2007; LEE *et al.*, 2010).

Visto que o FTD-H₂S é um híbrido ftalimídico doador de H₂S, o entendimento do papel de cada uma de suas unidades, seja pelas propriedades relacionadas a grupos ftalimidas ou à liberação de H₂S, é necessário. Essa investigação, porém, é complexa e com muitas limitações. Diversas ferramentas também podem ser utilizadas para inibir a liberação e ação do H₂S, como inibição das enzimas produtoras de H₂S, no caso de investigações do papel do H₂S endógeno (WALLACE *et al.*, 2009); uso de substâncias “expiradas”, em que as soluções são expostas ao ar por um determinado tempo, para o consumo de H₂S (LI *et al.*, 2009; JIANG *et al.*, 2019); comparação com

substâncias análogas sem o átomo de enxofre na estrutura (DI CESARE MANNELLI *et al.*, 2017; MELO *et al.*, 2019) ou uso de sequestradores de H₂S, tais como hemoglobina (DI CESARE MANNELLI *et al.*, 2017), embora este apresente a desvantagem de não ser seletivo para H₂S (PAPAPETROPOULOS *et al.*, 2015). A hidroxocobalamina é uma substância utilizada como sequestradora de H₂S, principalmente em situações de intoxicação por altas concentrações de H₂S no ambiente (HAOUZI *et al.*, 2015), mas também para inibir ação do H₂S em contexto farmacológico (PAPAPETROPOULOS *et al.*, 2015; HUANG *et al.*, 2016). A hidroxocobalamina é uma das estruturas pertencentes ao conjunto das vitaminas B12, sendo denominada vitamina B12_a. O mecanismo proposto para justificar uso da hidroxocobalamina como sequestrador de H₂S é a combinação do seu grupamento contendo o elemento cobalto ao H₂S, catalisando sua oxidação em meio biológico (HAOUZI *et al.*, 2014). Assim, no presente estudo foi proposta a utilização da hidroxocobalamina, na dose de 300 mg/kg (TRUONG *et al.*, 2007), como ferramenta para investigar o possível papel da liberação de H₂S nas atividades do FTD-H₂S ou NaHS.

O NaHS é uma substância bastante utilizada em experimentos nos quais se avaliam atividades do H₂S. Sendo assim, foi também proposto que avaliações dos mecanismos envolvendo as atividades do FTD-H₂S fossem feitas comparativamente com as atividades do NaHS. Para isso, foi feita uma avaliação inicial da atividade do NaHS em modelo de alodínia mecânica após administração de diferentes doses, tendo como referência a maior dose, por via i.p., encontrada nos estudos mencionados anteriormente, 8 mg/kg (FIORUCCI *et al.*, 2005). O NaHS, na dose de 8 mg/kg, apresentou atividade antialodínica apenas na primeira avaliação (1 h após administração do estímulo). Esse efeito de curta duração pode estar relacionado à rápida cinética de liberação de H₂S comparada àquela de outros doadores de H₂S (LI *et al.*, 2008a).

Na avaliação do efeito da hidroxocobalamina sobre as atividades do FTD-H₂S ou NaHS no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS ou carragenina, foi observado que hidroxocobalamina, isoladamente, não apresentou qualquer atividade e, ainda, reverteu os efeitos induzidos por FTD-H₂S ou NaHS em todos momentos em que essas substâncias apresentaram atividade. Essa reversão pela

hidroxocobalamina do efeito induzido por uma molécula liberadora de H₂S foi também observado por Huang *et al.*, 2016. Esses autores observaram que a substância doadora de H₂S FW1256 tem sua capacidade de reduzir a produção de TNF- α e IL-6, em neutrófilos estimulados por LPS, revertida pela adição da hidroxocobalamina ao meio de cultura. A relação entre liberação de H₂S e a atividade do FTD-H₂S em modelo de dor inflamatória induzida por LPS pode ser estar associada ao fato de que a produção endógena de H₂S apresenta-se reduzida em diversos estudos em que o LPS foi utilizado como estímulo. De fato, foi demonstrado que o LPS reduz a produção endógena de H₂S em células (DUFTON *et al.*, 2012; SUN *et al.*, 2019; LIN *et al.*, 2022), hipocampo (KUMAR *et al.*, 2020), hipotálamo (KWIATKOSKI *et al.*, 2013) e plasma (TOKUDA *et al.*, 2012), além de reduzir expressão das enzimas produtores de H₂S, CBS, CSE e 3-MST (BOURQUE *et al.*, 2018; CHEN *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2018; DUAN *et al.*, 2022). Assim, esses resultados indicam que a liberação de H₂S pelo FTD-H₂S, bem como pelo NaHS, provavelmente deve ter um importante papel na atividade antialodínica dessas substâncias nos modelos avaliados.

O FTD-H₂S é sintetizado a partir do acoplamento da unidade doadora de H₂S, ADT-OH, e da estrutura ftalimídica FTD-OH (MELO *et al.*, 2023). A unidade ADT-OH é uma das mais utilizadas no desenvolvimento de híbridos doadores de H₂S (WANG, 2012; JIA *et al.*, 2013). Isso ocorre, principalmente, pelo fato da unidade ADT-OH e os híbridos desenvolvidos a partir dessa unidade liberarem H₂S de forma lenta e sustentada (ISENBERG *et al.*, 2007; WHITEMAN e WINYARD, 2011), característica desejável para a avaliação de atividades relacionadas à liberação de H₂S *in vivo*. O mecanismo de liberação de H₂S pelo ADT-OH envolve oxidação do enxofre do grupo C=S (tiona) do anel 1,2 ditiol-3-tiona e sua metabolização. *In vivo*, esse processo parece envolver participação de CYP450 e a enzima flavina monooxigenase (DULAC *et al.*, 2018). A síntese de híbridos com a unidade ADT-OH envolve, na maioria das vezes, etapas simples de esterificação da unidade com o fármaco original (KASHFI e OLSON, 2013). O FTD-OH é um análogo ftalimídico simples, que, assim como outras substâncias dessa classe, é capaz de reduzir a produção de TNF- α , além de reduzir as concentrações da quimiocina CXCL-1 e o acúmulo de neutrófilos, além de apresentar diversas atividades, como antiedematogênica, antialodínica e antinociceptiva (GODIN, 2014; 2015; 2017).

Assim, foi proposto no presente estudo a comparação das atividades do FTD-H₂S com as dos seus precursores ADT-OH e FTD-OH, de modo a racionalizar a justificativa da hibridização dessas duas estruturas. Foi observado que o FTD-H₂S, na dose de 25 mg/kg (i.p.) reduz a alodínia mecânica até 5 h após a administração de LPS e carragenina, confirmando o que foi observado nos protocolos anteriores. No entanto, seus precursores (em doses equimolares à do FTD-H₂S) não apresentaram atividade em qualquer momento avaliado.

Embora o FTD-OH tenha reduzido a alodínia mecânica em estudo anterior do nosso grupo de pesquisa (GODIN *et al.*, 2014), deve ser salientado que a menor dose, entre aquelas que foram avaliadas, que induziu efeito foi 750 mg/kg, mais de 60 vezes maior que a dose de FTD-OH equimolar à dose de FTD-H₂S utilizada no presente estudo. Embora o ADT-OH tenha apresentado algumas atividades que podem contribuir para redução da resposta nociceptiva e inflamação, como redução da expressão de iNOS, TNF- α , IL-6, IL-1 β e COX-2 em micróglia estimulada por LPS (ZHOU *et al.*, 2014a), tem sido demonstrado que o seu acoplamento resulta em moléculas com atividades de maior magnitude. Além disso, foi demonstrado que o híbrido desenvolvido a partir do ADT-OH pode liberar H₂S em quantidades maiores que o ADT-OH isoladamente (DISTRUTTI *et al.*, 2006a; WALLACE *et al.*, 2007a), sendo um possível indício de que, mesmo que a liberação de H₂S seja o principal fator envolvido nas atividades desses híbridos (embora certamente não o único, pois são desenvolvidos a partir de moléculas com atividades já demonstradas), essa liberação unicamente pela ADT-OH não seja suficiente para resultar em tais atividades. Assim, embora preliminares, esses resultados podem indicar o papel da hibridização dessas unidades, ADT-OH e FTD-OH, nas atividades observadas no presente estudo.

De forma semelhante ao realizado no presente estudo, outros pesquisadores têm avaliado a atividade de híbridos doadores de H₂S em comparação à substância que deu origem à molécula, visando justificar a hibridização de uma substância, com atividades demonstradas, a uma unidade doadora de H₂S. Por exemplo, o ATB-337, híbrido doador de H₂S derivado do diclofenaco, apresentou atividades, em modelos de inflamação, de maior magnitude que o diclofenaco, como redução da migração celular no pulmão, de citocinas pró-inflamatórias no plasma, de ativação de NF- κ B no fígado e de edema (LI *et al.*, 2007; SIDHAPURIWALA *et al.*, 2007), além de induzir

menos lesões e úlceras gástricas que o precursor (WALLACE *et al.*, 2007a). O mesmo foi observado para o ATB-346, que, além de apresentar melhor perfil de segurança gástrica que o seu precursor naproxeno (BLACKER *et al.*, 2012), foi capaz de reduzir, de forma mais significativa que seu precursor, alodínia mecânica, edema articular, recrutamento de leucócitos e produção de TNF- α plasmático induzido por zimosano (DIEF *et al.*, 2015) e edema induzido por CFA (WALLACE *et al.*, 2010). O ATB-352, derivado do cetoprofeno, também apresentou melhor perfil de eficácia quando comparado ao precursor, como na redução do infiltrado celular inflamatório e expressão de citocinas no tecido gengivomucosal em modelo de periodontite (GUGLIANDOLO *et al.*, 2018) e redução da alodínia mecânica em modelo de dor pós-operatória induzida por incisão cirúrgica na pata (COSTA *et al.*, 2020).

O papel das citocinas no desenvolvimento da inflamação e dor tem sido bem demonstrado. Mais especificamente, em modelos experimentais de dor induzida por LPS ou carragenina, tem sido demonstrado que citocinas, como TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-8 são essenciais para o desenvolvimento da nocicepção, estimulando a produção de outros mediadores inflamatórios que, por sua vez, estimulam a produção de outros mediadores ou agem diretamente na sensibilização de nociceptores (VERRI *et al.*, 2006).

O TNF- α é uma citocina pró-inflamatória, sendo rapidamente secretada frente a lesões teciduais ou infecções. Entre suas diversas funções, a principal, no processo inflamatório, consiste no estímulo à produção de outros mediadores inflamatórios. Portanto, por estar envolvido na fase inicial do desenvolvimento da inflamação, o TNF- α é um dos principais reguladores do processo e, por isso, o bloqueio de sua produção e atividade é visada em muitos estudos que tem como objetivo o desenvolvimento de agentes terapêuticos (PARAMESWARAN e PATIAL, 2010). Logo, no desenvolvimento da dor inflamatória, caracterizada principalmente pela ação de mediadores inflamatórios, o TNF- α possui grande relevância. É demonstrado, em modelos experimentais de dor, que o TNF- α estimula a liberação de IL-1 β e IL-6, que estimulam a produção prostaglandinas que, por sua vez, sensibilizam nociceptores, levando a nocicepção. De modo semelhante, o TNF- α induz a secreção de IL-8, que estimula a produção de aminas do sistema nervoso simpático, que também induzem a sensibilização de nociceptores (CUNHA *et al.*, 1992).

Assim, as citocinas TNF- α , IL-1 β e IL-6, cuja produção foi avaliada no presente estudo, são de grande importância, representando um elo entre reconhecimento de lesão ou reconhecimento celular e sinais e sintomas da inflamação, entre os quais a dor (VERRI *et al.*, 2006). Essas evidências foram reforçadas pela administração direta dessas citocinas, que foram capazes de induzir, por exemplo, alodínia e hiperalgesia mecânica (FERREIRA *et al.*, 1988; CUNHA *et al.*, 1992; DELEO *et al.*, 1996; CALIL *et al.*, 2014).

Além da demonstração direta do papel dessas citocinas no desenvolvimento da dor inflamatória, tem sido demonstrado em diversos estudos o papel da produção dessas citocinas em modelos de dor inflamatória frente a estímulos inflamatórios. Em camundongos deficientes para produção ou atividade de TNF- α , IL-1 β e IL-6, por exemplo, o estímulo com carragenina ou LPS não foi capaz de induzir alodínia mecânica (ROCHA *et al.*, 2006; XU *et al.*, 1997; CLARK *et al.*, 2010). Consequentemente, e assim como foi demonstrado no presente estudo, é bem estabelecido que estímulos como carragenina e LPS induzem um aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias (CUNHA *et al.*, 2000).

Devido a isso, foram avaliados os efeitos induzidos pelo FTD-H₂S sobre produção das citocinas TNF- α , IL-1 β e IL-6 estimulada por carragenina ou LPS. Além disso, foi utilizado novamente o sequestrador de H₂S, hidroxocobalamina, para avaliar o papel da liberação de H₂S nessa atividade. O FTD-H₂S, administrado 1 h antes do estímulo (carragenina ou LPS), reduziu a produção de TNF- α , IL-1 β e IL-6.

A redução de produção de citocinas, em modelos experimentais de dor ou inflamação, por substâncias ftalimídicas ou doadoras de H₂S é demonstrada em um extenso número de estudos e, mais especificamente, essas substâncias reduzem a produção de TNF- α , IL-1 β ou IL-6 induzidos por LPS em modelos experimentais *in vivo*. O NaHS, por exemplo, reduziu a produção dessas citocinas em modelos de inflamação pulmonar (KAYA-YASAR *et al.*, 2017; ALI *et al.*, 2018), lesão aguda renal (CHEN *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2022c) ou neuroinflamação (KUMAR *et al.*, 2020) induzidas pelo LPS. O GYY4137 também inibiu a produção dessas citocinas em modelos de inflamação sistêmica (LI *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2016; UNUMA *et al.*, 2019) ou

pulmonar (ZHANG *et al.*, 2016; FALLER *et al.*, 2018; JIANG *et al.*, 2019) induzida por LPS. Híbridos doadores de H₂S, como ATB-337 (LI *et al.*, 2007) e ATB-352 (GUGLIANDOLO *et al.*, 2018) também reduziram a produção dessas citocinas em modelos de inflamação sistêmica ou periodontite, respectivamente, induzidos por LPS. Substâncias ftalimídicas também reduzem a produção de citocinas induzidas por LPS (CORRAL *et al.*, 1996; MACHADO *et al.*, 2005; CASAL *et al.*, 2016). De forma semelhante, a produção dessas citocinas induzidas por carragenina também foi reduzida por doadores de H₂S, dialil dissulfeto (ZHANG *et al.*, 2020) e 4-metil-benzenocarbotiamida (MELO *et al.*, 2019), ou por substâncias ftalimídicas (BHAT *et al.*, 2015; GERA *et al.*, 2019). Como citado anteriormente, a produção de citocinas induzidas por exposição ao LPS, reduzida por doadores de H₂S (SUN *et al.*, 2019; YURINSKAYA *et al.*, 2020) ou substâncias ftalimídicas (MARRIOTT *et al.*, 1998; CORRAL *et al.*, 1999), também tem sido extensivamente demonstrada em experimentos *in vitro*.

Assim, o FTD-H₂S inibiu a produção de TNF- α , IL-1 β e IL-6 induzidas por LPS ou carragenina. Essa atividade foi parcialmente reduzida pela administração prévia de hidroxocobalamina. Além de, como citado anteriormente, doadores de H₂S reduzirem a produção dessas citocinas, é demonstrado que uma correlação negativa entre concentrações de H₂S e produção dessas citocinas. Por exemplo, há uma expressiva redução desses mediadores frente ao aumento da expressão de CBS (ZHOU *et al.*, 2014a; LI *et al.*, 2021) ou CSE (LIU *et al.*, 2017), ao passo que, em camundongos deficientes para produção de CSE, há um aumento da produção dessas citocinas (LIU *et al.*, 2017). O uso de inibidores dessas enzimas produtoras de H₂S também resultou em aumento da produção de TNF- α , IL-1 β e IL-6 (TANG *et al.*, 2017; GAO *et al.*, 2022).

O sequestrador de H₂S reverteu a redução induzida pelo FTD-H₂S sobre a produção de IL-1 β e IL-6, mas não de TNF- α . Embora o resultado demonstre uma tendência da reversão, pela hidroxocobalamina, da redução de TNF- α por FTD-H₂S, não houve uma diferença significativa entre os grupos experimentais. Embora existam diversos resultados, citados anteriormente, demonstrando relação entre redução de TNF- α e H₂S, alguns aspectos devem ser considerados. A produção de TNF- α , comparado à das outras citocinas avaliadas, ocorreu em magnitude bem menor, estando, assim, diferenças estatísticas menos evidentes. Cunha *et al.* (2000) também demonstraram

que a produção de TNF- α na pata de animais induzidos por carragenina ou LPS ocorre em ordens de grandeza menores que IL-1 β pelos mesmos estímulos. Além disso, foi demonstrado no mesmo modelo que, ao passo que a produção de IL-1 β induzida por LPS apresenta valor máximo na 3^a hora após o estímulo, o TNF- α tem seu valor de produção máximo na 1^a hora, com progressiva redução nos tempos posteriores, o que pode estar relacionado ao fato de o TNF- α ser um dos primeiros mediadores a ser liberado no processo inflamatório e, assim, ter atividades nas fases iniciais do processo. Outro fato a ser considerado é que o FTD-H₂S possui o anel ftalimida em sua estrutura. Assim como em relação à própria talidomida, a atividade mais característica de substâncias ftalimídicas é a redução da produção de TNF- α (MIYACHI *et al.*, 1996; 1997; SHANNON *et al.*, 1997; CHING *et al.*, 1998; MACHADO *et al.*, 2005; CASAL *et al.*, 2016; BACH *et al.*, 2017). Assim, embora a liberação de H₂S possa contribuir na redução de produção de citocinas, inclusive o TNF- α , outros mecanismos podem estar envolvidos e, assim, a liberação de H₂S somente não seja o suficiente para explicar essas atividades.

Visto que ativação de vias opioidérgicas (GRAY *et al.*, 1998) e de canais K_{ATP} (OCAÑA *et al.*, 1990; RODRIGUES e DUARTE, 2000; ALVES e DUARTE, 2002; ALVES *et al.*, 2004) contribui para a atividade de substâncias em modelos de dor, foi investigado, no presente estudo, o papel dessas vias na atividade do FTD-H₂S no modelo de dor inflamatória induzida por LPS, por meio do uso da naltrexona, antagonista opioidérgico, e glibenclamida, bloqueador de canais K_{ATP}.

A administração prévia de naltrexona não alterou a atividade antialodínica do FTD-H₂S, o que sugere que mecanismos opioidérgicos não sejam relevantes para essa atividade. Ainda existem poucas informações sobre efeitos induzidos por doadores de H₂S sobre vias opioidérgicas. Distrutti *et al.* (2010) demonstraram que a atividade antinociceptiva de Na₂S em modelo de distensão colorretal é revertida pela administração central de um antagonista de receptores opioidérgicos do tipo μ e que a substância causa mudanças conformacionais nesses receptores. Embora a importância da via opioidérgica para efeitos induzidos por doadores de H₂S ainda não esteja bem elucidada, as interações entre esses podem depender dos doadores de H₂S avaliados e seu perfil de liberação, modelos e estímulos utilizados e receptores opioidérgicos envolvidos.

A glibenclamida, por sua vez, reverteu a atividade do FTD-H₂S no modelo de alodínia mecânica induzida por LPS. A ativação de canais K_{ATP} por H₂S é bem estabelecida, com muitos estudos demonstrando a correlação dessa propriedade com efeitos induzidos pelo H₂S em diversos modelos. A primeira demonstração dessa relação foi feita por Zhao *et al.* (2001), em que a glibenclamida reverteu a atividade vasorrelaxante do H₂S. Além disso, tem sido amplamente demonstrado que antagonistas de canais K_{ATP} são capazes de reverter os efeitos induzidos pelo H₂S em modelos de dor (DISTRUTTI *et al.*, 2006b; CUNHA *et al.*, 2008; DISTRUTTI *et al.*, 2010; DONATTI *et al.*, 2014; QABAZARD *et al.*, 2020; PORTA *et al.*, 2021) e inflamação (FIORUCCI *et al.*, 2005; ZANARDO *et al.*, 2006; ANDRUSKI *et al.*, 2008; DUDEK *et al.*, 2013; FOUAD *et al.*, 2020), indicando que essa via tem grande importância nas atividades antinociceptiva e anti-inflamatória desse gasotransmissor. Além disso, a administração prévia de glibenclamida também reverteu atividade de híbridos doadores de H₂S, como a redução, pelo híbrido derivado da mesalazina, do reflexo de retirada abdominal por distensão colorretal (DISTRUTTI *et al.*, 2006a) e a redução da alodínia mecânica induzida por PGE₂ por um híbrido derivado do ácido acetilsalicílico (FONSECA *et al.*, 2015). Como em outras atividades do H₂S, o mecanismo envolvido na ativação de canais K_{ATP} provavelmente envolve modificação de proteínas de subunidades de canais K_{ATP} por sulfidratação (JIANG *et al.*, 2010; MUSTAFA *et al.*, 2011; GADE *et al.*, 2013). Assim, reversão pela glibenclamida da atividade antialodínica do FTD-H₂S 3 h após a administração do estímulo, aliada ao fato que o FTD-H₂S libera H₂S que, por sua vez, é capaz de ativar canais K_{ATP}, indica que esse mecanismo é parcialmente responsável pela atividade do FTD-H₂S no modelo.

7.3 Limitações

Os resultados do presente estudo indicam uma perspectiva da investigação do FTD-H₂S como um candidato a fármaco analgésico e anti-inflamatório. Porém, sabe-se que a translação de resultados de ensaios pré-clínicos para ensaios clínicos é limitada, visto que há uma grande diferença entre o elevado número de moléculas que apresentam atividade antinociceptiva e anti-inflamatória em ensaios pré-clínicos e o

reduzido número de fármacos analgésicos aprovados nas últimas décadas. O presente estudo, apesar de ter avaliado a atividade do FTD-H₂S em diferentes modelos de dor e inflamação, ainda indica a necessidade de outros modelos para caracterização do perfil da molécula.

Como mencionado anteriormente, o FTD-H₂S é uma substância inédita, não estando disponível comercialmente, que requer etapas complexas para sua síntese, com rendimentos limitados durante as diferentes etapas. Assim, a sua disponibilidade para as avaliações é limitada, visto que há um consumo considerável da substância, principalmente nos primeiros protocolos de caracterização das atividades da molécula, que demandam a avaliação dos efeitos induzidos por diferentes doses. Essa adequação ao consumo da substância provou-se ser limitante também em relação ao período necessário para obter os resultados de caracterização inicial das atividades da molécula.

7.4 Perspectivas

Os resultados do presente estudo, que demonstram as atividades do FTD-H₂S e os prováveis mecanismos envolvidos, são expressivos, considerando que podem contribuir para o entendimento de atividades relacionadas a estruturas ftalimídicas e efeitos induzidos por H₂S, além do desenvolvimento de moléculas híbridas. Estudos adicionais, porém, devem ser conduzidos, avaliando mecanismos e processos que possam ocorrer durante a atividade do FTD-H₂S.

Ainda se fazem necessárias, assim, abordagens mais amplas que demonstrem essa relação entre a propriedade de liberação de H₂S e a sua atividade. A relação entre as atividades do FTD-H₂S e a relevância da presença do grupo ftalimida ou da liberação de H₂S ainda não está bem estabelecida, embora tenha-se a expectativa que o híbrido, caracteristicamente, tenha esses mecanismos como componentes importantes para suas atividades. Nesse contexto, quantificações mais detalhadas do perfil de liberação de H₂S pelo FTD-H₂S, comparação com análogos com estruturas químicas modificadas (como substituição do átomo de enxofre ou modificações no anel ftalimida) podem auxiliar no entendimento da atividade do FTD-H₂S.

A avaliação do FTD-H₂S em outros modelos *in vivo* de dor e inflamação pode ser considerada, devido a sua atividade em modelo de alodínia mecânica induzida por LPS ou carragenina e edema inflamatório induzido por carragenina demonstrado no presente estudo. Além disso, avaliações das atividades do FTD-H₂S sobre outras vias importantes para o desenvolvimento da dor, como vias canabinoidérgicas ou serotoninérgicas, também podem ser realizadas. Os efeitos induzidos pelo FTD-H₂S em outros eventos importantes do processo inflamatório são passíveis de avaliação. Efeitos sobre a migração celular, por exemplo, podem ser avaliados por meio da determinação da atividade de MPO. Ainda, a avaliação da ação de H₂S sobre a produção de outras citocinas ou mesmo sobre mecanismos transcricionais relacionados à produção de citocinas, como ativação de NF-κB, pode ajudar esclarecer de forma mais ampla a atividade anti-inflamatória do híbrido. De fato, um vasto número de estudos que demonstram a redução da ativação de NF-κB por doadores de H₂S ou substâncias ftalimídicas. Avaliações *in vitro* também podem contribuir para uma investigação mais ampla do efeito induzido pelo FTD-H₂S sobre a produção e/ou expressão de diferentes mediadores inflamatórios, em diferentes tipos de células, com diferentes estímulos, além de contornar as limitações envolvidas no uso de animais. Outras avaliações que ainda podem ser consideradas são estudos de modelagem ou ancoragem molecular, que demonstrem interação da substância com alvos de interesse. Estudos que avaliem perfis farmacocinético e toxicológico, essenciais para o desenvolvimento de fármacos, também se fazem necessários. Ainda podem ser incluídas outras avaliações importantes utilizadas em outros estudos da área, como utilização de animais deficientes geneticamente para alguma característica em que possa se avaliar a importância na atividade do FTD-H₂S e quantificação e/ou marcação da sulfidratação de proteínas, importante processo envolvido na atividade de liberadores de H₂S.

Finalmente, o uso clínico da substância pode ser almejado. Apesar de o número de substâncias que atingem essas fases de avaliação ser limitado e o campo de pesquisa de H₂S e análogos ftalimídicos ser relativamente recente, o fato de haver substâncias dessas classes aprovadas ou em avaliação clínica, como o apremilast e otenaproxesul, citados anteriormente, encoraja a continuidade do estudo das atividades do FTD-H₂S.

8 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo demonstram que o FTD-H₂S, um híbrido ftalimídico doador de H₂S, apresenta atividades em modelos de dor inflamatória e também em modelo de edema inflamatório, com atividade antialodínica de maior magnitude que seus precursores sintéticos e com indícios do papel da liberação de H₂S, redução da produção de citocinas pró-inflamatórias e ativação de canais K_{ATP} em sua atividade em modelos de alodínia mecânica.

REFERÊNCIAS

ABE, K.; KIMURA, H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. **The Journal of Neuroscience**. v. 16, n. 3, p.1066-1071, 1996.

ALANAZI, A. M.; EL-AZAB, A. S.; AL-SUWAIDAN, I. A.; ELTAHIR, K. E.; ASIRI, Y. A.; ABDEL-AZIZ, N. I.; ABDEL-AZIZ, A. A. Structure-based design of phthalimide derivatives as potential cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors: anti-inflammatory and analgesic activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 92, p. 115-123, 2015.

ALEXANDRE-MOREIRA, M. S.; TAKIYA, C. M.; ARRUDA, L. B.; PASCARELLI, B.; GOMES, R. N.; NETO, H. C. C. F.; LIMA, L. M, BARREIRO, E. J. LASSBio-468: a new achiral thalidomide analogue which modulates TNF-alpha and NO production and inhibits endotoxic shock and arthritis in an animal model. **International Immunopharmacology**. v. 5, n. 3, p. 485-494, 2005.

ALI, F. F.; HABDEL-HAMID, H. A.; TONI, H. D. M. H₂S attenuates acute lung inflammation induced by administration of lipopolysaccharide in adult male rats. **General Physiology and Biophysics**. v. 37, p. 421-431, 2018.

ALI, Z. E.; OLLIVIER, A.; MANIN, S.; RIVARD, M.; MOTTERLINI, R.; FORESTI, R. Therapeutic effects of CO-releaser/Nrf2 activator hybrids (HYCOs) in the treatment of skin wound, psoriasis and multiple sclerosis. **Redox Biology**. v. 34, 2020.

ALVES, D.; DUARTE, I. Involvement of ATP-sensitive K⁺ channels in the peripheral antinociceptive effect induced by dipyrrone. **European Journal of Pharmacology**. v. 444, n. 1-2, p. 47-52, 2002.

ALVES, D. P.; TATSUO, M. A.; LEITE, R.; DUARTE, I. D. G. Diclofenac-induced peripheral antinociception is associated with ATP-sensitive K⁺ channels activation. **Life Sciences**. v. 74, n. 20, p. 2577-2591, 2004.

ANDRUSKI, B.; MCCAFFERTY, D. M.; IGNACY, T.; MILLEN, B.; MCDUGALL, J. J. Leukocyte trafficking and pain behavioral responses to a hydrogen sulfide donor in acute monoarthritis. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. v. 295, n. 3, p. 814-820, 2008.

Antibe Therapeutics. Disponível em: <<https://www.antibetherapeutics.com/pipeline/otenaproxesul/>>. Acesso em 27 de novembro de 2022.

ANTUNES, R.; BATISTA, H.; SRIVASTAVA, R. M.; THOMAS, G.; ARAÚJO, C. C. New phthalimide derivatives with potent analgesic activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v. 8, n. 21, p. 3017-3076, 1998.

ANTUNES, R.; BATISTA, H.; SRIVASTAVA, R. M.; THOMAS, G.; ARAÚJO, C. C.; LONG, R. L.; MAGALHÃES, H.; LEÃO, M. B. C.; PAVÃO, A. C. Synthesis, characterization and interaction mechanism of new oxadiazolo-phthalimides as peripheral analgesics. IV. **Journal of Molecular Structure**. v. 8, n. 21, p. 3017-3076, 2003.

ASSIS, S. P. O.; ARAÚJO, T. G.; SENA, V. L. M.; CATANHO, M. T. J. A.; RAMOS, M. N.; SRIVASTAVA, R. J.; LIMA, V. L. M. Synthesis, hypolipidemic, and anti-inflammatory activities of arylphthalimides. **Medicinal Chemistry Research**. v. 23, p. 708-716, 2014.

ASSIS, S. P. O.; SILVA, M. T.; SILVA, F. T.; SANT'ANNA, M. P.; TENÓRIO, C. M. B. A.; SANTOS, C. F. B.; FONSECA, C. S. M.; SEABRA, G.; LIMA, V. L. M.; OLIVEIRA, R. N. Design and synthesis of triazole-phthalimide hybrids with anti-inflammatory activity. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**. v. 6, n. 72, p. 96-105, 2019.

BACH, D. H.; LIU, J. Y.; KIM, W. K.; HONG, J. Y.; PARK, S. H.; KIM, D.; QIN, S. N.; LUU, T. T.; PARK, H. J.; XU, Y. N.; LEE, S. K. Synthesis and biological activity of new phthalimides as potential anti-inflammatory agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 25, n. 13, p. 3396-3405, 2017.

BAI, X.; BATALLÉ, G.; POL., O. The anxiolytic and antidepressant effects of diallyl disulfide and GYY4137 in animals with chronic neuropathic pain. **Antioxidants**. v. 10, n. 7, 1074, 2021.

BAI, X.; BATALLÉ, G.; BALBONI, G.; POL., O. Hydrogen Sulfide Increases the Analgesic effects of μ - and δ -opioid receptors during neuropathic pain: pathways implicated. **Antioxidants**. v. 11, n. 7, 1321, 2022.

BANAROU EI, N.; DAVOOD, A.; SHAFAROODI, H.; SAEEDI, G.; SHAFIEE, A. N-arylmethylideneaminophthalimide: design, synthesis and evaluation as analgesic and anti-inflammatory agents. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**. v. 19, n. 8, p. 679-687, 2019.

BARBOSA, M. L. C.; RAMOS, T. J. F.; ARANTES, A. C. S.; MARTINS, M. A.; SILVA, P. M. R. E.; BARREIRO, E. J.; LIMA, L. M. Synthesis and pharmacological evaluation of novel phenyl sulfonamide derivatives designed as modulators of pulmonary inflammatory response. **Molecules**. v. 17, n. 12, p. 14651-14672, 2012.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. New insights for multifactorial disease therapy: the challenge of the symbiotic drugs. **Current Drug Therapy**. v. 3, n. 1, p. 1-13, 2008.

BARROT, M. Tests and models of nociception and pain in rodents. **Neuroscience**. v. 211, p. 39-50, 2012.

BASKAR, R.; SPARATORE, A.; DEL SOLDATO, P.; MOORE, P. K. Effect of S-diclofenac, a novel hydrogen sulfide releasing derivative inhibit rat vascular smooth muscle cell proliferation. **European Journal of Pharmacology**. v. 594, n. 1-3, p. 1-8, 2008.

BASKIN, V.; EROGLU, E.; HARMANCI, N.; EROL, K. Antinociceptive, anxiolytic, and depression-like effects of hydrogen sulfide, nitric oxide, and carbon monoxide in rats and the role of opioidergic and serotonergic systems in antinociceptive activity. **Fundamental & Clinical Pharmacology**. v. 36, n. 4, p. 674-686, 2022.

BATISTA, C. R. A.; GODIN, A. M.; MELO, I. S. F.; COURA, G. M. E.; MATSUI, T. C.; DUTRA, M. M. G. B.; BRITO, A. M. S.; CANHESTRO, W. G.; ALVES, R. J.; ARAÚJO, D. P.; DE FÁTIMA, A.; MACHADO, R. R.; COELHO, M. M. The phthalimide analogues n-3-hydroxypropylphthalimide and n-carboxymethyl-3-nitrophthalimide exhibit activity in experimental models of inflammatory and neuropathic pain. **Pharmacological Reports**. v. 71, n. 6, p. 1177-1183, 2019.

BATALLÉ, G.; CABARGA, L.; POL, O. The inhibitory effects of slow-releasing hydrogen sulfide donors in the mechanical allodynia, grip strength deficits, and depressive-like behaviors associated with chronic osteoarthritis pain. **Antioxidants**. v. 9, n. 1, 31, 2020.

BATALLÉ, G.; BAI, X.; POUISO-VÁZQUEZ, E.; ROCH, G.; RODRÍGUEZ, L.; POL, O. The recovery of cognitive and affective deficiencies linked with chronic osteoarthritis pain and implicated pathways by slow-releasing hydrogen sulfide treatment. **Antioxidants**. v. 10, n. 10, 1632, 2021.

BENAVIDES, G. A.; SQUADRITO, G. L.; MILLS, R. W.; PATEL, H. D.; ISBELL, T. S.; PATEL, R. P.; DARLEY-USMAR, V. M.; DOELLER, J. E.; KRAUS, D. W. Hydrogen sulfide mediates the vasoactivity of garlic. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** v. 104, n. 46, p. 17977-17982, 2007.

BHAT, M. A.; AL-OMAR, M. A.; ANSARI, M. A.; ZOHEIR, K. M. A.; IMAM, F.; ATTIA, S. M.; BAKHEET, S. A.; NADEEM, A.; KORASHY, H. M.; VORONKOV, A.; BERISHVILI, V.; AHMAD, S. F. Design and synthesis of N-arylphthalimides as inhibitors of glucocorticoid-induced TNF receptor-related protein, proinflammatory mediators, and cytokines in carrageenan-induced lung inflammation. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 58, n. 22, p. 8850-8867, 2015.

BHATIA, M.; SIDHAPURIWALA, J.; MOOCHHALA, S. M.; MOORE, P. K. Hydrogen sulphide is a mediator of carrageenan-induced hindpaw oedema in the rat. **British Journal of Pharmacology**. v. 145, n. 2, p. 141-144, 2005a.

BHATIA, M.; SIDHAPURIWALA, J.; SPARATORE, A.; MOORE, P. K. Treatment with H₂S-releasing derivative of diclofenac reduces inflammation in carrageenan-induced hindpaw oedema. **Inflammation Research**. Suppl. 2, S. 185 (7046), 2005b.

BHATIA, M.; SIDHAPURIWALA, J.; SPARATORE, A.; MOORE, P. K. Treatment with H₂S-releasing diclofenac protects mice against acute pancreatitis-associated lung injury. **Shock**. v. 29, n. 1, p. 84-88, 2008.

BLACKER, R.; SYER, S.; BOLLA, M.; ONGINI, E.; WALLACE, J. L. Gastrointestinal-sparing effects of novel NSAIDs in rats with compromised mucosal defence. **PLoS One**. v. 7, n. 4, e35196, 2012.

BONARDI, A.; MICHELI, L.; DI CESARE MANNELLI, L.; GHELARDINI, C.; GRATTERI, P.; NOCENTINI, A.; SUPURAN, C. T. Development of hydrogen sulfide-releasing carbonic anhydrases IX- and XII-selective inhibitors with enhanced antihyperalgesic action in a rat model of arthritis. **Journal of Medicinal Chemistry**. v.65, n. 19, p. 13143-13157, 2022.

BOSQUESI, P. L.; MELO, T. R. F.; VIZIOLI, E. O.; SANTOS, J. L.; CHUNG, M. C. Anti-inflammatory drug design using a molecular hybridization approach. **Pharmaceuticals**. v. 4, n. 11, p. 1450-1474, 2011.

BOURQUE, C.; ZHANG, Y.; FU, M.; RACINE, M.; GREASLEY, A.; PEI, Y.; WU, L.; WANG, R.; YANG, G. H₂S protects lipopolysaccharide-induced inflammation by blocking NFκB transactivation in endothelial cells. **Toxicology and Applied Pharmacology**. v. 338, p. 20-29, 2018.

BRANDENBURG, L.; KIPP, M.; LUCIUS, R.; PUFE, T.; WRUCK, C. J. Sulforaphane suppresses LPS-induced inflammation in primary rat microglia. **Inflammation Research**. v. 59, n. 6, p. 443-450, 2010.

BURGUERA, E. F.; VELA-ANERO, A.; MAGALHÃES, J.; MEIJIDE-FAÍLDE, R.; BLANCO, F. J. Effect of hydrogen sulfide sources on inflammation and catabolic

markers on interleukin 1 β -stimulated human articular chondrocytes. **Osteoarthritis and Cartilage**. v. 22, n. 7, p. 1026-1035, 2014.

BURGUERA, E. F.; VELA-ANERO, A.; GATO-CALVO, L.; VAAMONDE-GARCÍA, C.; MEIJIDE-FAÍLDE, R. BLANCO, F. J. Hydrogen sulfide biosynthesis is impaired in the osteoarthritic joint. **International Journal of Biometeorology**. v. 64, n. 6, p. 997-1010, 2019.

CABARGA, L.; BATALLÉ, G.; POL, O. Treatment with slow-releasing hydrogen sulfide donors inhibits the nociceptive and depressive-like behaviours accompanying chronic neuropathic pain: endogenous antioxidant system activation. **Journal of Psychopharmacology**. v. 37, n. 7, p. 737-749, 2020.

CAHILL, C. M.; DRAY, A.; CODERRE, T. J. Priming enhances endotoxin-induced thermal hyperalgesia and mechanical allodynia in rats. **Brain Research**. v. 808, n. 1, p. 13-22, 1998.

CALIENDO, G.; CIRINO, G.; SANTAGADA, V.; WALLACE, J. L. Synthesis and biological effects of hydrogen sulfide (H₂S): development of H₂S-releasing drugs as pharmaceuticals. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 53, n. 17, p. 6275-6286, 2010.

CALIL, I. L.; ZARPELON, A. C.; GUERRERO, A. T. G.; ALVES-FILHO, J. C.; FERREIRA, S. H.; CUNHA, F. Q.; CUNHA, T. M.; VERRI, W. A. Lipopolysaccharide induces inflammatory hyperalgesia triggering a TLR4/MyD88-dependent cytokine cascade in the mice paw. **PLoS One**. v. 9, n. 3, e90013, 2014.

CAMPOLO, M.; ESPOSITO, E.; AHMAD, A.; DI PAOLA, R.; PATERNITI, I.; CORDARO, M.; BRUSCHETTA, G.; WALLACE, J. L.; CUZZOCREA, S. Hydrogen sulfide-releasing cyclooxygenase inhibitor ATB-346 enhances motor function and reduces cortical lesion volume following traumatic brain injury in mice. **Journal of Neuroinflammation**. v. 11, n. 196, 2014.

CAO, H.; ZHOU, X.; ZHANG, J.; HUANG, X.; ZHAI, Y.; ZHANG, X.; CHU, L. Hydrogen sulfide protects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats by inhibiting NF-

κ B expression and regulating Th1/Th2 balance. **Toxicology Letters**. v. 224, n. 3, p. 387-394, 2014.

CAO, L.; CO, X.; ZHOU, Y.; NAGPURE, B. V.; WU, Z.; HU, L. F.; YANG, Y.; SETHI, G.; MOORE, P. K.; BIAN, J. Hydrogen sulfide inhibits atp-induced neuroinflammation and $a\beta$ 1-42 synthesis by suppressing the activation of STAT3 and cathepsin. **Brain, Behavior, and Immunity**. v. 73, p. 603-614, 2018.

CAO, S.; ZHU, P.; YU, X.; CHEN, J.; LI, J.; YAN, F.; WANG, L.; YU, J.; CHEN, G. Hydrogen sulfide attenuates brain edema in early brain injury after subarachnoid hemorrhage in rats: possible involvement of MMP-9 induced blood-brain barrier disruption and AQP4 expression. **Neuroscience Letters**. v. 621, p. 88-97, 2016.

CARPENTER, K. C.; HAKENJOS, J. M.; FRY, C. D.; NEMZEK, J. A. The influence of pain and analgesia in rodent models of sepsis. **Comparative Medicine**. v. 69, n. 6, p. 546-554, 2019.

CASAL, J. J.; BOLLINI, M.; LOMBARDO, M. E.; BRUNO, A. M. Thalidomide analogues: Tumor necrosis factor-alpha inhibitors and their evaluation as anti-inflammatory agents. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 83, p. 114-119, 2016.

CASTELBLANCO, M.; LUGRIN, J.; EHIRCHIOU, D.; NASI, S.; ISHII, I.; SO, A.; MARTINON, F.; BUSSO, N. Hydrogen sulfide inhibits NLRP3 inflammasome activation and reduces cytokine production both *in vitro* and in a mouse model of inflammation. **Journal of Biological Chemistry**. v. 293, n. 7, p. 2546-2557, 2018.

CHAULET, C.; CROIX, C.; ALAGILLE, D.; NORMAND, S.; DELWAIL, A.; FAVOT, L.; LECRON, J. C.; VIAUD-MASSUARD, M. C. Design, synthesis and biological evaluation of new thalidomide analogues as TNF- α and IL-6 production inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v. 21, n. 3, p. 1019-1022, 2011.

CHEN, Y.; LIU, Z.; XIE, X. Hydrogen sulphide attenuates renal and cardiac injury after total hepatic ischemia and reperfusion. **Journal of Surgical Research**. v. 164, n. 2, p. 305-313, 2010.

CHEN, H.; XIE, K.; CHEN, Y.; WANG, Y.; WANG, Y.; LIAN, N.; ZHANG, K.; YU, Y. Nrf2/HO-1 signaling pathway participated in the protection of hydrogen sulfide on neuropathic pain in rats. **International Immunopharmacology**. v. 75, 105746, 2019.

CHEN, S.; BU, D.; MA, Y.; ZHU, J.; SUN, L.; ZUO, S.; MA, J.; LI, T.; CHEN, Z.; ZHENG, Y.; WANG, X.; PAN, Y.; WANG, P.; LIU, Y. GYY4137 ameliorates intestinal barrier injury in a mouse model of endotoxemia. **Biochemical Pharmacology**. v. 118, p. 59-67, 2016.

CHEN, X.; XU, W.; WANG, Y.; LUO, H.; QUAN, S.; ZHOU, J.; YANG, N.; ZHANG, T.; WU, L.; LIU, J.; LONG, X.; ZHU, N.; XIE, H.; LUO, Z. Hydrogen sulfide reduces kidney injury due to urinary-derived sepsis by inhibiting NF- κ B expression, decreasing TNF- α levels and increasing IL-10 levels. **Experimental and Therapeutic Medicine**. v. 8, n. 2, p. 464-470, 2014.

CHEN, Y.; WU, R.; GENG, B.; QI, Y.; WANG, P.; YAO, W.; TANG, C. Endogenous hydrogen sulfide reduces airway inflammation and remodeling in a rat model of asthma. **Cytokine**. v. 45, n. 2, p. 117-123, 2009.

CHEN, Y.; JIN, S.; TENG, X.; HU, Z.; ZHANG, Z.; QIU, X.; TIAN, D.; WU, Y. Hydrogen sulfide attenuates LPS-induced acute kidney injury by inhibiting inflammation and oxidative stress. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. v. 2018, 6717212, 2018.

CHENG, X.; GU, J.; PANG, Y.; LIU, J.; XU, T.; LI, X.; HUA, Y.; NEWELL, K. A.; HUANG, X.; YU, Y.; LIU, Y. Tacrine-hydrogen sulfide donor hybrid ameliorates cognitive impairment in the aluminum chloride mouse model of Alzheimer's disease. **ACS Chemical Neuroscience**. v. 10, n. 8, p. 3500-3509, 2019.

CHING, L. M.; BROWNE, W. L.; TCHERNEGOVSKI, R.; GREGORY, T.; BAGULEY, B. C.; PALMER, B. D. Interaction of thalidomide, phthalimide analogues of thalidomide and pentoxifylline with the anti-tumour agent 5,6-dimethylxanthenone-4-acetic acid: concomitant reduction of serum tumour necrosis factor-alpha and enhancement of anti-tumour activity. **British Journal of Cancer**. v. 78, n. 3, p. 336-343, 1998.

CLAASEN, V. Intraperitoneal Drug Administration. In: CLAASEN, V. **Neglected Factors in Pharmacology and Neuroscience Research: Biopharmaceutics, Animal characteristics Maintenance, Testing conditions**. v. 12, Amsterdam: Elsevier B.V., 1994. p. 46-58.

CLARK, A. C.; STANILAND, A. A.; MARCHAND, F.; KAN, T. K. Y.; MCMAHON, S. B.; MALCANGIO, M. P2X7-dependent release of interleukin-1beta and nociception in the spinal cord following lipopolysaccharide. **Journal of Neuroscience**. v. 30, n. 2, p. 573-582, 2010.

COHEN, S. P.; MAO, J. Neuropathic pain: mechanisms and their clinical implications. **BMJ**. v. 348, f7656, 2014.

COLLIN, X.; ROBERT, J.; WIELGOSZ, G.; LE BAUT, G.; BOBIN-DUBIGEON, C.; GRIMAUD, N.; PETIT, J. New anti-inflammatory N-pyridinyl(alkyl)phthalimides acting as tumour necrosis factor-alpha production inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 36, n. 7-8, p. 639-649, 2001.

CORRAL, L. G.; MULLER, G. W.; MOREIRA, A. L.; CHEN, Y.; WU, M.; STIRLING, D.; KAPLAN, G. Selection of novel analogs of thalidomide with enhanced tumor necrosis factor alpha inhibitory activity. **Molecular Medicine**. v. 2, n. 4, p. 506-515, 1996.

CORRAL, L. G.; HASLETT, P. A. J.; MULLER, G. W.; CHEN, R.; WONG, L.; OCAMPO, C. J.; PATTERSON, R. T.; STIRLING, D. I.; KAPLAN, G. Differential cytokine modulation and t cell activation by two distinct classes of thalidomide analogues that are potent inhibitors of TNF- α . **Journal of Immunology**. v. 163, n. 1, p. 380-386, 1999.

CORVINO, A.; CITI, V.; FIORINO, F.; FRECENTESE, F.; MAGLI, E.; PERISSUTTI, E.; SANTAGADA, V.; CALDERONE, V.; MARTELLI, A.; GORICA, E.; BROGI, S.; COLOMBO, F. F.; CAPELLO, C. N.; FERREIRA, H. H. A.; RIMOLI, M. G.; SODANO, F.; ROLANDO, B.; PAVESE, F.; PETTI, A.; MUSCARÁ, M. N.; CALIENDO, G.; SEVERINO, B. H₂S donating corticosteroids: design, synthesis and biological evaluation in a murine model of asthma. **Journal of Advanced Research**. v. 35, p. 267-277, 2022.

COSTA, S. K. P. F.; MUSCARA, M. N.; ALLAIN, T.; DALLAZEN, J.; GONZAGA, L.; BURET, A. G.; VAUGHAN, D. J.; FOWLER, C. J.; NUCCI, G.; WALLACE, J. L. Enhanced analgesic effects and gastrointestinal safety of a novel, hydrogen sulfide-releasing anti-inflammatory drug (ATB-352): a role for endogenous cannabinoids. **Antioxidants & Redox Signaling**. v. 33, n. 14, p. 1003-1009, 2020.

COSTIGAN, M.; SCHOLZ, J.; WOOLF, C. J. Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. **Annual Review of Neuroscience**. v. 32, p. 1-32, 2009.

CUNHA, F. Q.; POOLE, S.; LORENZETTI, B. B.; FERREIRA, S. H. The pivotal role of tumour necrosis factor alpha in the development of inflammatory hyperalgesia. **British Journal of Pharmacology**. v. 107, n. 3, p. 660-664, 1992.

CUNHA, J. M.; CUNHA, F. Q.; POOLE, S.; FERREIRA, S. H. Cytokine-mediated inflammatory hyperalgesia limited by interleukin-1 receptor antagonist. **British Journal of Pharmacology**. v. 130, n. 6, p. 1418-1424, 2000.

CUNHA, T. M.; DAL-SECCO, D.; VERRI, W. A.; GUERRERO, A. T.; SOUZA, G. R.; VIEIRA, S. M.; LOTUFO, C. M.; NETO, A. F.; FERREIRA, S. H.; CUNHA, F. Q. Dual role of hydrogen sulfide in mechanical inflammatory hypernociception. **European Journal of Pharmacology**. v. 590, p. 127-135, 2008.

D'AMATO, R. J.; LOUGHNAN, M. S.; FLYNN, E.; KOLFMAN, J. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 91, n. 9, p. 4082-4085, 1994.

DA SILVA, G. F.; DOS ANJOS, M. F.; ROCHA, L. W.; FERREIRA, L. F. G. R.; STIZ, D. S.; CORRÊA, R.; SANTIN, J. R.; CECHINEL FILHO, V.; HERNANDES, M. Z.; QUINTÃO, N. L. M. Anti-hypersensitivity effects of the phthalimide derivative N-(4methyl-phenyl)-4-methylphthalimide in different pain models in mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. v. 96, p. 503-512, 2017.

DANIELAK, A.; WALLACE, J. L.; BRZOZOWSKI, T.; MAGIEROWSKI, M. Gaseous mediators as key molecular targets for the development of gastrointestinal-safe anti-inflammatory pharmacology. **Frontiers in Pharmacology**. v. 12, 657457, 2021.

DE CICCIO, P., PANZA, E.; ERCOLANO, G.; ARMOGIDA, C.; SESSA, G.; PIROZZI, G.; CIRINO, G.; WALLACE, J. L.; IANARO, A. ATB-346, a novel hydrogen sulfide-releasing anti-inflammatory drug, induces apoptosis of human melanoma cells and inhibits melanoma development in vivo. **Pharmacological Research**. v. 114, p. 67-73, 2016.

DELEO, J. A.; COLBURN, R. W.; NICHOLS, M.; MALHOTRA, A. Interleukin-6-mediated hyperalgesia/allodynia and increased spinal IL-6 expression in a rat mononeuropathy model. **Journal of Interferon & Cytokine Research**. v. 16, n. 9, p. 695-700, 1996.

DI CESARE MANNELLI, L. C.; LUCARINI, E.; MICHELI, L.; MOSCA, I.; AMBROSINO, P.; SOLDOVIERI, M. V.; MARTELLI, A.; TESTAI, L.; TAGLIALATELA, M.; CALDERONE, V.; GHELARDINI, C. Effects of natural and synthetic isothiocyanate-based H₂S-releasers against chemotherapy-induced neuropathic pain: Role of Kv7 potassium channels. **Neuropharmacology**. v. 121, p. 49-59, 2017.

DIEF, A. E.; MOSTAFA, D. K.; SHARARA, G. M.; ZEITOUN, T. H. Hydrogen sulfide releasing naproxen offers better anti-inflammatory and chondroprotective effect relative to naproxen in a rat model of zymosan induced arthritis. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**. v. 19, n. 8, p. 1537-1546, 2015.

DISTRUTTI, E.; SEDIARI, L.; MENCARELLI, A.; RENGA, B.; ORLANDI, S.; RUSSO, G.; CALIENDO, G.; SANTAGADA, V.; CIRINO, G.; WALLACE, J. L.; FIORUCCI, S. 5-Amino-2-hydroxybenzoic acid 4-(5-thioxo-5H-[1,2]dithiol-3yl)-phenyl ester (ATB-429), a hydrogen sulfide-releasing derivative of mesalamine, exerts antinociceptive effects in a model of postinflammatory hypersensitivity. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 319, n. 1, p. 447-458, 2006a.

DISTRUTTI, E.; SEDIARI, L.; MENCARELLI, A.; RENGA, B.; ORLANDI, S.; ANTONELLI, E.; ROVIEZZO, F.; MORELLI, A.; CIRINO, G.; WALLACE, J. L.; FIORUCCI, S. Evidence that hydrogen sulfide exerts antinociceptive effects in the gastrointestinal tract by activating K_{ATP} channels. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 316, n. 1, p. 325-335, 2006b.

DISTRUTTI, E.; CIPRIANI, S.; RENGA, B.; MENCARELLI, A.; MIGLIORATI, M.; CIANETTI, S.; FIORUCCI, S. Hydrogen sulphide induces μ opioid receptor-dependent analgesia in a rodent model of visceral pain. **Molecular Pain**. v. 6, n. 36, 2010.

DONATTI, A. F.; ARAUJO, R. M.; SORIANO, R. N.; AZEVEDO, L. U.; LEITE-PANISSI, C. A.; BRANCO, L. G. Role of hydrogen sulfide in the formalin-induced orofacial pain in rats. **European Journal of Pharmacology**. v. 738, p. 49-56, 2014.

DOS SANTOS, J. L.; LANARO, C.; LIMA, L. M.; GAMBERO, S.; FRANCO-PENTEADO, C. F.; ALEXANDRE-MOREIRA, M. S.; WADE, M.; YERIGENAHALLY, S.; KUTLAR, A.; MEILER, S. E.; COSTA, F. F.; CHUNG, M. Design, synthesis, and pharmacological evaluation of novel hybrid compounds to treat sickle cell disease symptoms. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 54, n. 16, p. 5811-5819, 2011.

DOS SANTOS, J. L.; LANARO, C.; CHELUCCI, R. L.; GAMBERO, S.; BOSQUESI, P. L.; REIS, J. S.; LIMA, L. M.; CERECETTO, H.; GONZÁLES, M.; COSTA, F. F.; CHUNG, M. Design, synthesis, and pharmacological evaluation of novel hybrid compounds to treat sickle cell disease symptoms. Part II: furoxan derivatives. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 55, n. 17, p. 7583-7592, 2012.

DU, C.; JIN, M.; HONG, Y.; LI, Q.; WANG, X.; XU, J.; WANG, F.; ZHANG, Y.; JIA, J.; LIU, C.; HU, L. Downregulation of cystathionine β -synthase/hydrogen sulfide contributes to rotenone-induced microglia polarization toward M1 type. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 451, n. 2, p. 239-245, 2014a.

DU, J.; HUANG, Y.; YAN, H.; ZHANG, Q.; ZHAO, M.; ZHU, M.; LIU, J.; CHEN, S. X.; BU, D.; TANG, C.; JIN, H. Hydrogen sulfide suppresses oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL)-stimulated monocyte chemoattractant protein 1 generation from macrophages via the nuclear factor κ B (NF- κ B) pathway. **Journal of Biological Chemistry**. v. 289, n. 14, p. 9741-9753, 2014b.

DU, J.; WANG, P.; GOU, P.; JIN, S.; XUE, H.; LI, D.; TIAN, D.; SUN, J.; ZHANG, X.; TENG, X.; WU, Y. Hydrogen sulfide ameliorated preeclampsia via suppression of toll-like receptor 4-activated inflammation in the rostral ventrolateral medulla of rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. v. 150, 113018, 2022.

DUAN, J.; XIANG, L.; YANG, Z.; CHEN, L.; GU, J.; LU, K.; MA, D.; ZHAO, H.; YI, B.; ZHAO, H.; NING, J. Methionine restriction prevents lipopolysaccharide-induced acute lung injury via modulating CSE/H₂S pathway. **Nutrients**. v. 14, n. 2, 322, 2022.

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

DUDEK, M.; BILSKA-WILKOSZ, A.; KNUTELSKA, J.; MOGILSKI, S.; BEDNARSKI, M.; ZYGMUNT, M.; ICIEK, M.; SAPA, J.; BUGAJSKI, D.; FILIPEK, B.; WŁODEK, L. Are anti-inflammatory properties of lipoic acid associated with the formation of hydrogen sulfide? **Pharmacological Reports**. v. 65, n. 4, p. 1018-1024, 2013.

DUFTON, N.; NATIVIDAD, J.; VERDU, E. F.; WALLACE, J. L. Hydrogen sulfide and resolution of acute inflammation: A comparative study utilizing a novel fluorescent probe. **Scientific Reports**. v. 2, 499, 2012.

DULAC, M.; SASSI, A.; NAGARATHINAN, C.; CHRISTEN, M.; DANSETTE, P. M.; MANSUY, D.; BOUCHER, J. Metabolism of anethole dithiolethione by rat and human

liver microsomes: formation of various products deriving from its o-demethylation and s-oxidation involvement of cytochromes P450 and flavin monooxygenases in these pathways. **Drug Metabolism & Disposition**. v. 46, n. 10, p. 1390-1395, 2018.

DZIUBINA, A.; SZKATULA, D.; GDULA-ARGASIŃSKA, J.; SAPA, J. Synthesis and antinociceptive activity of four 1H-isoindolo-1,3(2H)-diones. **Archiv der Pharmazie**. v. 355, n. 7, e2100423, 2022.

EKUNDI-VALENTIM, E.; SANTOS, K. T.; CAMARGO, E. A.; DENADAI-SOUZA, A.; TEIXEIRA, S. A.; ZANONI, C. I.; GRANT, A. D.; WALLACE, J. L.; MUSCARÁ, M. N.; COSTA, S. K. Differing effects of exogenous and endogenous hydrogen sulphide in carrageenan-induced knee joint synovitis in the rat. **British Journal of Pharmacology**. v. 159, n. 7, p. 1463-1474, 2010.

EKUNDI-VALENTIM, E.; MESQUITA, F. P.; SANTOS, K. T.; de PAULA, M. A.; FLORENZANO, J.; ZANONI, C. I.; RODRIGUES, L.; de NUCCI, G.; TEIXEIRA, S. A.; FERREIRA, H. H.; WALLACE, J. L.; COSTA, S. K.; MUSCARÁ, M. N. A comparative study on the anti-inflammatory effects of single oral doses of naproxen and its hydrogen sulfide (H₂S)-releasing derivative ATB-346 in rats with carrageenan-induced synovitis. **Medical Gas Research**. v. 3, n. 1, 24, 2013.

ESECHIE, A.; KISS, L.; OLAH, G.; HORVÁTH, E. M.; HAWKINS, H.; SZABÓ, C.; TRABER, D. L. Protective effect of hydrogen sulfide in a murine model of acute lung injury induced by combined burn and smoke inhalation. **Clinical Science**. v. 115, n. 3, p. 91-97, 2008.

FALCÃO, E. P. S.; MELO, S. J.; SRIVASTAVA, R. M.; CATANHO, M. T. J. A.; NASCIMENTO, S. C. Synthesis and antiinflammatory activity of 4-amino-2-aryl-5-cyano-6-{3- and 4-(n-phthalimidophenyl)} pyrimidines. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 41, n. 2, p. 276-282, 2006.

FALLER, S.; SEILER, R.; DONUS, R.; ENGELSTAEDTER, H.; HOETZEL, A.; SPASSOV, S. G. Pre- and posttreatment with hydrogen sulfide prevents ventilator-induced lung injury by limiting inflammation and oxidation. **PLoS One**. v. 12, n. 4, 2017.

FALLER, S.; HAUSLER, F.; GOEFT, A.; VON ITTER, M. A.; GYLLENRAM, V.; HOETZEL, A.; SPASSOV, S. G. Hydrogen sulfide limits neutrophil transmigration, inflammation, and oxidative burst in lipopolysaccharide-induced acute lung injury. **Scientific Reports**. v. 8, n. 1, 14676, 2018.

FAN, H.; GUO, Y.; LIANG, X.; YUAN, Y.; QI, X.; WANG, M.; MA, J.; ZHOU, H. Hydrogen sulfide protects against amyloid beta-peptide induced neuronal injury via attenuating inflammatory responses in a rat model. **Journal of Biomedical Research**. v. 27, n. 4, p. 296-304, 2013.

FARO, M. L. L.; FOX, B.; WHATMORE, J. L.; WINYARD, P. G.; WHITEMAN, M. Hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in inflammation. **Nitric Oxide: Biology and Chemistry**. v. 41, p. 38-47, 2014.

FEGHALI, C. A.; WRIGHT, T. M. Cytokines in acute and chronic inflammation. **Frontiers in Bioscience**. v. 2, p. 12-26, 1997.

FERREIRA, S. H.; LORENZETTI, B. B.; BRISTOW, A. F.; POOLE, S. Interleukin-1 beta as a potent hyperalgesic agent antagonized by a tripeptide analogue. **Nature**. v. 334, p. 698-700, 1988.

FERREIRA, S. H.; LORENZETTI, B. B.; POOLE, S. Bradykinin initiates cytokine-mediated inflammatory hyperalgesia. **British Journal of Pharmacology**. v. 110, n. 3, p. 1227-1231, 1993.

FIORUCCI, S.; ANTONELLI, E.; DISTRUTTI, E.; RIZZO, G.; MENCARELLI, A.; ORLANDI, S.; ZANARDO, R.; RENGA, B.; DI SANTE, M.; MORELLI, A.; CIRINO, G.; WALLACE, J. L. Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by anti-inflammatory nonsteroidal drugs. **Gastroenterology**. v. 129, n. 4, p. 1210-1224, 2005.

FIORUCCI, S.; ORLANDI, S.; MENCARELLI, A.; CALIENDO, G.; SANTAGADA, V.; DISTRUTTI, E.; SANTUCCI, L.; CIRINO, G.; WALLACE, J. L. Enhanced activity of a

hydrogen sulphide-releasing derivative of mesalamine (ATB-429) in a mouse model of colitis. **British Journal of Pharmacology**. v. 150, n. 8, p. 996-1002, 2007.

FONSECA, M. D.; CUNHA, F. Q.; KASHFI, K.; CUNHA, T. M. NOSH-aspirin (NBS-1120), a dual nitric oxide and hydrogen sulfide-releasing hybrid, reduces inflammatory pain. **Pharmacology Research and Perspectives**. v. 3, n. 3, e00133, 2015.

FOUAD, A. A.; HAFEZ, H. M.; HAMOUDA, A. A. H. Hydrogen sulfide modulates IL-6/STAT3 pathway and inhibits oxidative stress, inflammation, and apoptosis in rat model of methotrexate hepatotoxicity. **Human & Experimental Toxicology**. v. 39, n. 1, p. 77-85, 2020.

GADE, A. R.; KANG, M.; AKBARALI, H. I. Hydrogen sulfide as an allosteric modulator of ATP-sensitive potassium channels in colonic inflammation. **Molecular Pharmacology**. v. 83, n. 1, p. 294-306, 2013.

GAO, L.; XU, Z.; YIN, Z.; CHEN, K.; WANG, C.; ZHANG, H. Association of hydrogen sulfide with alterations of monocyte chemokine receptors, CCR2 and CX3CR1 in patients with coronary artery disease. **Inflammation Research**. v. 64, n. 8, p. 627-635, 2015.

GAO, M.; LI, J.; NIE, C.; SONG, B.; YAN, L.; QIAN, H. Design, synthesis and biological evaluation of novel hydrogen sulfide releasing capsaicin derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 26, n. 9, p. 2632-2639, 2018.

GAO, Y.; ZHANG, H.; WANG, Y.; HAN, T.; JIN, J.; LI, J.; TANG, Y.; LIU, C. L-Cysteine alleviates myenteric neuron injury induced by intestinal ischemia/reperfusion via inhibiting the macrophage NLRP3-IL-1 β pathway. **Frontiers in Pharmacology**. v. 13, 899169, 2022.

GENG, Y.; LI, E.; MU, Q.; ZHANG, Y.; WEI, X.; LI, H.; CHENG, L.; ZHANG, B. Hydrogen sulfide inhalation decreases early blood-brain barrier permeability and brain edema induced by cardiac arrest and resuscitation. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**. v. 35, n. 3, p. 494-500, 2015.

GERA, A.; MOHAN, C.; ADAN, J.; ARORA, S. Molecular hybrids of N-phthaloylglycyl hydrazide and hydrazinecarbothioamide with anti-inflammatory and anti-oxidant activities. **Current Organic Synthesis**. v. 16, n. 7, p. 1055-1066, 2019.

GERÖ, D.; TORREGROSSA, R.; PERRY, A.; WATERS, A.; LE-TRIONNAIRE, S.; WHATMORE, J. L.; WOOD, M.; WHITEMAN, M. The novel mitochondria-targeted hydrogen sulfide (H₂S) donors AP123 and AP39 protect against hyperglycemic injury in microvascular endothelial cells *in vitro*. **Pharmacological Research**. v. 113, p. 186-198, 2016.

GHANBARI, F.; KHAKSARI, M.; VAEZI, G.; HOJATI, V.; SHIRAVI, A. Hydrogen sulfide protects hippocampal neurons against methamphetamine neurotoxicity via inhibition of apoptosis and neuroinflammation. **Journal of Molecular Neuroscience**. v. 67, n. 1, p. 133-141, 2018.

GIUFFRÈ, A.; VICENTE, J. B. Hydrogen Sulfide Biochemistry and Interplay with Other Gaseous Mediators in Mammalian Physiology. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. v. 2018, 6290931, 2018.

GIUSTARINI, D.; DEL SOLDATO, P.; SPARATORE, A.; ROSSI, R. Modulation of thiol homeostasis induced by H₂S-releasing aspirin. **Free Radical Biology and Medicine**. v. 48, n. 9, p. 1263-1272, 2010.

GLANVILLE, J. R. W.; JALALI, P.; FLINT, J. D.; PATEL, A. A.; MAINI, A. A.; WALLACE, J. L.; HOSIN, A. A.; GILROY, D. W. Potent anti-inflammatory effects of an H₂ S-releasing naproxen (ATB-346) in a human model of inflammation. **FASEB Journal**. v. 35, n.10, e21913, 2021.

GLOWACKA, U.; MAGIEROWSKA, K.; WÓJCIK, D.; HANKUS, J.; SZETELA, M.; CIESZKOWSKI, J.; KORBUT, E.; DANIELAK, A.; SURMIAK, M.; CHMURA, A.; WALLACE, J. L.; MAGIEROWSKI, M. Microbiome profile and molecular pathways alterations in gastrointestinal tract by hydrogen sulfide-releasing nonsteroidal anti-

inflammatory drug (ATB-352): insight into possible safer polypharmacy. **Antioxidants & Redox Signaling**. v. 36, p. 189-210, 2022.

GODIN, A. M.; ARAÚJO, D. P.; MENEZES, R. R.; BRITO, A. M.; MELO, I. S. F.; COURA, G. M.; SOARES, D. G.; BASTOS, L. F.; AMARAL, F. A.; RIBEIRO, L. S.; BOFF, D.; SANTOS, J. R.; SANTOS, D. A.; TEIXEIRA, M. M.; DE FÁTIMA, Â.; MACHADO, R. R.; COELHO, M. M. Activities of 2-phthalimidethanol and 2-phthalimidethyl nitrate, phthalimide analogs devoid of the glutarimide moiety, in experimental models of inflammatory pain and edema. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. v. 122, p. 291-298, 2014.

GODIN, A. M.; ARAÚJO, D. P.; CESAR, I. C.; MENEZES, R. R.; BRITO, A. M.; MELO, I. S. F.; COURA, G. M.; BASTOS, L. F.; ALMEIDA, M. O.; BYRRO, R. M.; MATSUI, T. C.; BATISTA, C. R.; PIANETTI, G. A.; DE FÁTIMA, Â.; MACHADO, R. R.; COELHO, M. M. Activities of 2-phthalimidethyl nitrate and 2-phthalimidethanol in the models of nociceptive response and edema induced by formaldehyde in mice and preliminary investigation of the underlying mechanisms. **European Journal of Pharmacology**. v. 756, p. 59-66, 2015.

GODIN, A. M.; ARAÚJO, D. P.; MENEZES, R. R.; BRITO, A. M.; MELO, I. S. F.; COURA, G. M.; BASTOS, L. F.; AMARAL, F. A.; TEIXEIRA, M. M.; DE FÁTIMA, Â.; MACHADO, R. R.; COELHO, M. M. 2-Phthalimidethanol and 2-phthalimidethyl nitrate inhibit mechanical allodynia, neutrophil recruitment and cytokine and chemokine production in a murine model of articular inflammation. **Pharmacological Reports**. v. 69, n. 4, p. 691-695, 2017.

GORDON, C. J. Thermal biology of the laboratory rat. **Physiology and Behavior**. v. 47, n. 5, p. 963-991, 1990.

GRAMBOW, E.; KLEE, G.; XIE, W.; SCHAFMAYER, C.; VOLLMAR, B. Hydrogen sulfide reduces the activity of human endothelial cells. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**. v. 76, n. 4, p. 513-523, 2020.

GRAY, A. M.; SPENCER, P. S.; SEWELL, R. D. The involvement of the opioidergic system in the antinociceptive mechanism of action of antidepressant compounds. **British Journal of Pharmacology**. v. 124, n. 4, p. 669-674, 1998.

GREGORY, N.; HARRIS, A. L.; ROBINSON, C. R.; DOUGHERTY, P. M.; FUCHS, P. N. SLUKA, K. A. An overview of animal models of pain: disease models and outcome measures. **The Journal of Pain**. v. 14, n. 11, p. 1255-1269, 2013.

GU, X.; ZHENG, Y.; REN, B.; ZHANG, R.; MEI, F.; ZHANG, J.; MA, Z. Intraperitoneal injection of thalidomide attenuates bone cancer pain and decreases spinal tumor necrosis factor- α expression in a mouse model. **Molecular Pain**. v. 6, n. 64, p. 1-10, 2010.

GUAN, Q.; WANG, X.; GAO, L.; CHEN, J.; LIU, Y.; YU, C.; ZHANG, N.; ZHANG, X.; ZHAO, J. Hydrogen sulfide suppresses high glucose-induced expression of intercellular adhesion molecule-1 in endothelial cells. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**. v. 62, n. 3, p. 278-284, 2013.

GUERRERO-BELTRÁN, C. E.; MUKHOPADHYAY, P.; HORVÁTH, B.; RAJESH, M.; TAPIA, E.; GARCÍA-TORRES, I.; PEDRAZA-CHAVERRI, J.; PACHER, P. Sulforaphane, a natural constituent of broccoli, prevents cell death and inflammation in nephropathy. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 23, n. 5, p. 494-500, 2012.

GUGLIANDOLO, E.; FUSCO, R.; D'AMICO, R.; MILITI, A.; OTERI, G.; WALLACE, J. L.; DI PAOLA, R.; CUZZOCREA, S. Anti-inflammatory effect of ATB-352, a H₂S-releasing ketoprofen derivative, on lipopolysaccharide-induced periodontitis in rats. **Pharmacological Research**. v. 132, p. 220-231, 2018.

GYÖNGYÖSI, A.; VERNER, V.; BERECZKI, I.; KISS-SZIKSZAI, A.; ZILINYI, R.; TÓSAKI, A.; BAK, I.; BORBÁS, A.; HERCZEGH, P.; LEKLI, I. Basic pharmacological characterization of EV-34, a new H₂S-releasing ibuprofen derivative. **Molecules**. v. 26, n. 3, 599, 2021.

HA, C.; TIAN, S.; SUN, K.; WANG, D.; LV, J.; WANG, Y. Hydrogen sulfide attenuates IL-1 β -induced inflammatory signaling and dysfunction of osteoarthritic chondrocytes. **International Journal of Molecular Medicine**. v. 35, n. 6, p. 1657-1666, 2015.

HAOUZI, P.; TORSELL-TUBBS, N.; PROKOPCZYK, B.; SONOBE, T.; KLINGERMAN, C. M.; CHENUDEL, B. *In vivo* interactions between cobalt or ferric compounds and the pools of sulphide in the blood during and after H₂S poisoning. **Clinical toxicology (Philadelphia, Pa.)**. v. 53, n. 1, p. 28-36, 2014.

HAOUZI, P.; CHENUDEL, B.; SONOBE, T. High-dose hydroxocobalamin administered after H₂S exposure counteracts sulfide-poisoning-induced cardiac depression in sheep. **Clinical toxicology (Philadelphia, Pa.)**. v. 53, n. 1, p. 28-36, 2015.

HARIZI, H.; CORCUFF J. B.; GUALDE, N. Arachidonic-acid-derived eicosanoids: roles in biology and immunopathology. **Trends in Molecular Medicine**. v. 14, n. 10, p. 461-469, 2008.

HASLETT, P. A.; CORRAL, L. G.; ALBERT, M.; KAPLAN, G. Thalidomide costimulates primary human T lymphocytes, preferentially inducing proliferation, cytokine production, and cytotoxic responses in the CD8⁺ subset. **The Journal of Experimental Medicine**. v. 187, n. 11, p. 1885-1895, 1998.

HASSAN, G. S.; HEGAZY, G. H.; IBRAHIM, N. M.; FAHIM, S. H. New ibuprofen derivatives as H₂S and NO donors as safer anti-inflammatory agents. **Future Medicinal Chemistry**. v. 11, n. 23, p. 3029-3045, 2019.

HAZZAA, S. M.; ARAFAT, E. S. E. E.; ISMAIL, A. E. A.; ELTORGOMAN, A. E. A.; ABDELAZIZ, S. A.; KOMBR, Y. F. A.; ZIDAN, R. A.; ASSAR, M. G. H₂S releasing sodium sulfide protects from acute stress-induced hypertension by increasing the activity of endothelial nitric oxide synthase enzyme. **Tissue & Cell**. v. 72, 101550, 2021.

HEISS, E.; HERHAUS, C.; KLIMO, K.; BARTSH, H.; GERHAUSER, C. Nuclear factor kappa B is a molecular target for sulforaphane-mediated anti-inflammatory mechanisms. **Journal of Biological Chemistry**. v. 276, n. 34, p. 32008-32015, 2001.

HU, L.; WONG, P. T.; MOORE, P. K.; BIAN, J. Hydrogen sulfide attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation by inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase in microglia. **Journal of Neurochemistry**. v. 100, n. 4, p. 1121-1128, 2007.

HUANG, C. W.; FENG, W.; PEH, M. T.; PEH, K.; DYMOCK, B. W.; MOORE, P. K. A novel slow-releasing hydrogen sulfide donor, FW1256, exerts anti-inflammatory effects in mouse macrophages and *in vivo*. **Pharmacological Research**. v. 113, p. 533-546, 2016.

HUANG, J.; SU M.; LEE, B.; KIM, M.; JUNG, J. H.; IM, D. Suppressive effect of 4-hydroxy-2-(4-hydroxyphenethyl) isoindoline-1,3-dione on ovalbumin-induced allergic asthma. **Biomolecules & Therapeutics (Seoul)**. v. 26, n. 6, p. 559-545, 2018.

HUANG, P. H.; McBRIDE, W. G. Interaction of [glutarimide-2-¹⁴C]-thalidomide with rat embryonic DNA *in vivo*. **Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis**. v. 17, n. 1, p. 1-5, 1997.

HUANG, P. H.; McBRIDE, W. G.; TUMAN, W. G. Interaction of thalidomide with DNA of rabbit embryos: a possible explanation for its immunosuppressant and teratogenic effects. **Pharmacology & Toxicology**. v. 85, n. 2, p. 103-104, 1999.

HUGHES, M. N.; CENTELLES, M. N.; MOORE, K. P. Making and working with hydrogen sulfide: The chemistry and generation of hydrogen sulfide *in vitro* and its measurement *in vivo*: a review. **Free Radical Biology and Medicine**. v. 47, n. 10, p. 1346-1353, 2009.

IAMN, M.; SHAFAROODI, H.; DAVOOD, A.; ABEDINI, M.; PISHVA, P.; TAHERKHANI, M.; DEHPOUR, A. R.; SHAFIEE, A. Design and synthesis of 2-(arylmethylideneamino) isoindolines as new potential analgesic and anti-inflammatory

agents: a molecular hybridization approach. **Current Pharmaceutical Design**. v. 22, n. 37, p. 5760-5766, 2016.

IBRAHIM, H.; SERAG, A.; FARAG, M. A. Emerging analytical tools for the detection of the third gasotransmitter H₂S, a comprehensive review. **Journal of Advanced Research**. v. 27, p. 137-153, 2021.

International Association for the Study of Pain – IASP. Disponível em: <<https://www.iasp-pain.org/publications/iasp-news/iasp-announces-revised-definition-of-pain/>>. Acesso em 27 de novembro de 2022.

ISENBERG, J. S.; JIA, Y.; FIELD, L.; RIDNOUR, L. A.; SPARATORE, A.; DEL SOLDATO, P.; SOWERS, A. L.; MOODY, T. W.; WINK, D. A.; RAMCHANDRAN, R.; ROBERTS, D. D. Modulation of angiogenesis by dithiolethione-modified NSAIDs and valproic acid. **British Journal of Pharmacology**. v. 151, n. 1, p. 63-72, 2007.

JIA, J.; XIAO, Y.; WANG, W.; QING, L.; XU, Y.; SONG, H.; ZHEN, X.; AO, G.; ALKAYED, N. J.; CHENG, J. Differential mechanisms underlying neuroprotection of hydrogen sulfide donors against oxidative stress. **Neurochemistry International**. v. 62, n. 8, p. 1072-1078, 2013.

JIANG, B.; TANG, G.; CAO, K.; WU, L.; WANG, R. Molecular mechanism for H₂S-induced activation of K_{ATP} channels. **Antioxidants & Redox Signaling**. v. 12, n. 10, p. 1167-1178, 2010.

JIANG, L.; JIANG, Q.; YANG, S.; HUANG, S.; HAN, X.; DUAN, J.; PAN, S. ZHAO, M. GUA, S. GYY4137 attenuates LPS-induced acute lung injury via heme oxygenase-1 modulation. **Pulmonary Pharmacology and Therapeutics**. v. 54, p. 77-86, 2019.

JU, Y.; FU, M.; STOKES, E.; WU, L.; YANG, G. H₂S-mediated protein S-sulfhydration: a prediction for its formation and regulation. **Molecules**. v. 22, n. 8, 1334, 2017.

KASHFI, K.; OLSON, K. R. Biology and therapeutic potential of hydrogen sulfide and hydrogen sulfide-releasing chimeras. **Biochemical Pharmacology**. v. 85, n. 5, p. 689-703, 2013.

KAUR, G.; SILAKARI, O. Benzimidazole scaffold based hybrid molecules for various inflammatory targets: synthesis and evaluation. **Bioorganic Chemistry**. v. 80, p. 24-35, 2018.

KAWALEC, P.; HOLKO, P.; MOĆKO, P.; PILC, A. Comparative effectiveness of abatacept, apremilast, secukinumab and ustekinumab treatment of psoriatic arthritis: a systematic review and network meta-analysis. **Rheumatology International**. v. 38, n. 2, p. 189-201, 2018.

KAYA-YASAR, Y.; KARAMAN, Y.; BOZKURT, T. E.; ONDER, S. C.; SAHIN-ERDEMLI, I. Effects of intranasal treatment with slow (GYY4137) and rapid (NaHS) donors of hydrogen sulfide in lipopolysaccharide-induced airway inflammation in mice. **Pulmonary Pharmacology and Therapeutics**. v. 45, p. 170-180, 2017.

KEIFER, J. A.; GUTTRIDGE, D. C.; ASHBURNER, B. P.; BALDWIN, A. S. Jr. Inhibition of NF-kappa B activity by thalidomide through suppression of IkappaB kinase activity. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 275, n. 25, p. 22382-22387, 2001.

KIDA, K.; MARUTANI, E.; NGUYEN, R. K.; ICHINOSE, F. Inhaled hydrogen sulfide prevents neuropathic pain after peripheral nerve injury in mice. **Nitric Oxide: Biology and Chemistry**. v. 46, p. 87-92, 2015.

KIMURA, H. Signalling by hydrogen sulfide and polysulfides via protein S-sulfuration. **British Journal of Pharmacology**. v. 177, n. 4, p. 720-733, 2019.

KODELA, R.; CHATTOPADHYAY, M.; KASHFI, K. NOSH-aspirin: a novel nitric oxide-hydrogen sulfide-releasing hybrid: a new class of anti-inflammatory pharmaceuticals. **ACS Medicinal Chemistry Letters**. v. 3, n. 3, p. 257-262, 2012.

KOTAS, M. E.; MEDZHITOV, R. Homeostasis, inflammation and disease susceptibility. **Cell**. v. 160, n. 5, p. 816-827, 2015.

KUMAR, M.; ARORA, P.; SANDHIR, J. Hydrogen sulfide reverses LPS-induced behavioral deficits by suppressing microglial activation and promoting m2 polarization. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**. v. 17, n. 2, p. 483-499, 2020.

KWIATKOSKI, M.; SORIANO, R.; ARAUJO, R.; AZEVEDO, L.; BATALHAO, M.; FRANCESCATO, H.; COIMBRA, T.; CARNIO, E.; BRANCO, L. Hydrogen sulfide inhibits preoptic prostaglandin E2 production during endotoxemia. **Experimental Neurology**. v. 240, p. 88-95, 2013.

LAMIE, P. F.; PHILLOPES, J. N.; EL-GENDY, A. O.; RAROVA, L.; GRUZ, J. Design, synthesis and evaluation of novel phthalimide derivatives as in vitro anti-microbial, anti-oxidant and anti-inflammatory agents. **Molecules**. v. 20, n. 9, p. 16620-16642, 2015.

LEE, M.; TAZZARI, V.; GIUSTARINI, D.; ROSSI, R.; SPARATORE, A.; DEL-SOLDATO, P.; MCGEER, E.; MCGEER, P. L. Effects of hydrogen sulfide-releasing L-DOPA derivatives on glial activation: potential for treating Parkinson disease. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 285, n. 23, p. 17318-17328, 2010.

LEY, K.; LAUDANNA, C.; CYBULSKY, M. I.; NOURSHARGH, S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. **Nature Reviews Immunology**. v. 7, p. 678-689, 2007.

LI, H.; LIU, S.; WANG, Z.; ZHANG, Y.; WANG, K. Hydrogen sulfide attenuates diabetic neuropathic pain through NO/cGMP/PKG pathway and μ -opioid receptor. **Experimental Biology and Medicine**. v. 245, n. 9, p. 823-834, 2020.

LI, J.; LI, M.; LI, L.; MA, J.; YAO, C.; YAO, S. Hydrogen sulfide attenuates ferroptosis and stimulates autophagy by blocking mTOR signaling in sepsis-induced acute lung injury. **Molecular Immunology**. v. 141, p. 318-327, 2022a.

LI, L.; ROSSONI, G.; SPARATORE, A.; LEE, L. C.; DEL SOLDATO, P.; MOORE, P. K. Anti-inflammatory and gastrointestinal effects of a novel diclofenac derivative. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 42, n.5, p. 706-719, 2007.

LI, L.; WHITEMAN, M.; GUAN, Y. Y.; NEO, K. L.; CHENG, Y.; LEE, S. W.; ZHAO, Y.; BASKAR, R.; TAN, C. H.; MOORE, P. K. Characterization of a novel, water-soluble hydrogen sulfide-releasing molecule (GY4137): new insights into the biology of hydrogen sulfide. **Circulation**. v. 117, n. 18, p. 2351-2350, 2008a.

LI, L.; SALTO-TELLEZ, M.; TAN, C.; WHITEAN, M.; MOORE, P. K. GY4137, a novel hydrogen sulfide-releasing molecule, protects against endotoxic shock in the rat. **Free Radical Biology and Medicine**. v. 47, n. 1, p. 103-113, 2009.

LI, L.; FOX, B.; KEEBLE, J.; SALTO-TELLEZ, M.; WINYARD, P. G.; WOOD, M. E.; MOORE, P. K.; WHITEMAN, M. The complex effects of the slow-releasing hydrogen sulfide donor GY4137 in a model of acute joint inflammation and in human cartilage cells. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**. v. 17, n. 3, p. 365-376, 2013.

LI, M.; HU, W.; WANG, R.; LI, Z.; YU, Y.; ZHUO, Y.; ZHANG, Y.; WANG, Z.; QIU, Z.; CHEN, K.; DING, Q.; QI, W.; ZHU, M.; ZHU, Y. Sp1 S-Sulphydration Induced by Hydrogen Sulfide Inhibits Inflammation via HDAC6/MyD88/NF- κ B Signaling Pathway in Adjuvant-Induced Arthritis. **Antioxidants**. v. 11, n. 4, 732, 2022b.

LI, T.; ZHAO, B.; WANG, C.; WANG, H.; LIU, Z.; LI, W.; JIN, H.; TANG, C.; DU, J. Regulatory effects of hydrogen sulfide on IL-6, IL-8 and IL-10 levels in the plasma and pulmonary tissue of rats with acute lung injury. **Experimental Biology and Medicine**. v. 233, n. 9, p. 1081-1087, 2008b.

LI, T.; ZHAO, J.; MIAO, S.; CHEN, Y.; XU, Y.; LIU, Y. Protective effect of H₂S on LPS-induced AKI by promoting autophagy. **Molecular Medicine Reports**. v. 25, n. 3, 96, 2022c.

LI, X.; YU, P.; YU, Y.; XU, T.; LIU, J.; CHENG, Y.; YANG, X.; CUI, X.; YIN, C.; LIU, Y. Hydrogen sulfide ameliorates high glucose-induced pro-inflammation factors in HT-22

cells: Involvement of SIRT1-mTOR/NF- κ B signaling pathway. **International Immunopharmacology**. v. 95, 107545, 2021.

LIMA, L. M.; CASTRO, P.; MACHADO, A. L.; FRAGA, C. A.; LUGNIER, C.; DE MORAES, V. L.; BARREIRO, E. J. Synthesis and anti-inflammatory activity of phthalimide derivatives, designed as new thalidomide analogues. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 10, n. 9, p. 3067-3073, 2002.

LIN, T.; BAI, X.; GAO, Y.; ZHANG, B.; SHI, J.; YUAN, B.; CHEN, W.; LI, J.; ZHANG, Y.; ZHANG, Q.; ZHAO, X. CTH/H₂S regulates LPS-induced inflammation through IL-8 signaling in MAC-T cells. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 23, n. 19, 11822, 2022.

LIU, S.; WANG, X.; PAN, L.; WU, W.; YANG, D.; QIN, M.; JIA, W.; XIAO, C.; LONG, F.; GE, J.; LIU, X.; ZHU, Y. Endogenous hydrogen sulfide regulates histone demethylase JMJD3-mediated inflammatory response in LPS-stimulated macrophages and in a mouse model of LPS-induced septic shock. **Biochemical Pharmacology**. v. 149, p. 153-162, 2017.

LIU, Y.; SPARATORE, A.; DEL-SOLDATO, P.; BIAN, J. ACS84, a novel hydrogen sulfide-releasing compound, protects against amyloid β -induced cell cytotoxicity. **Neurochemistry International**. v. 58, n. 5, p. 591-598, 2011.

LIU, Y.; LIAO, R.; QIANG, Z.; YANG, W.; CAO, J. Exogenous H₂S promotes ion channel reconstruction to regulate colonic motility in rats with dinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. **Annals of Translational Medicine**. v. 10, n. 12, 681, 2022.

LIU, Z.; ZHU, Z.; HE, Y.; KANG, Q.; LI, F.; ZHANG, W.; HE, Y.; LIN, Y.; HUANG, B.; MO, M.; XU, P.; ZHU, X. A novel hydrogen sulfide donor reduces pilocarpine-induced status epilepticus and regulates microglial inflammatory profile. **Frontiers in Cellular Neuroscience**. v. 15, 780447, 2021.

LOESER, J. D.; MELZACK, R. Pain: an overview. **Pain**. v. 353, n. 9164, p. 1607-1609, 1999.

LUCARINI, E.; MICHELI, L.; MARTELLI, A.; TESTAI, L.; CALDERONE, V.; GHELARDINI, C.; DI CESARE MANNELLI, L. Efficacy of isothiocyanate-based compounds on different forms of persistent pain. **Journal of Pain Research**. v. 353, n. 9164, p. 1607-1609, 2018.

MACHADO, A. L.; LIMA, L. M.; ARAÚJO, J. X. JR.; FRAGA, C. A.; KOATZ, V. L.; BARREIRO, E. J. Design, synthesis and antiinflammatory activity of novel phthalimide derivatives, structurally related to thalidomide. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v. 15, n. 4, p. 1169-1172, 2005.

MAGIEROWSKI, M.; MAGIEROWSKA, K.; SURMIAK, M. P.; HUBALEWSKA-MAZGAJ, M.; KWIECIEN, S.; WALLACE, J. L.; BRZozowski, T. The effect of hydrogen sulfide-releasing naproxen (ATB-346) versus naproxen on formation of stress-induced gastric lesions, the regulation of systemic inflammation, hypoxia and alterations in gastric microcirculation. **Journal of Physiology and Pharmacology**. v. 68, n. 5, p. 749-756, 2017.

MAN, H.; SCHAFER, P.; WONG, L. M.; PATTEROSN, R. T.; CORRAL, L. G.; RAYMON, H.; BLEASE, K.; LEISTEN, J.; SHIRLEY, M. A.; TANG, Y.; BABUSIS, D. M.; CHEN, R.; STIRLING, D.; MULLER, G. W. Discovery of (S)-N-[2-[1-(3-ethoxy-4-methoxyphenyl)-2-methanesulfonylethyl]-1,3-dioxo-2,3-dihydro-1H-isindol-4-yl] acetamide (apremilast), a potent and orally active phosphodiesterase 4 and tumor necrosis factor- α inhibitor. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 52, n. 6, p. 1522-1524, 2009.

MARRIOTT, J. B.; WESTBY, M.; COOKSON, S.; GUCKIAN, M.; GOODBOURN, S.; MULLER, G.; SHIRE, M. G.; STIRLING, D.; DALGLEISH, A. G. CC-3052: a water-soluble analog of thalidomide and potent inhibitor of activation-induced TNF- α production. **Journal of Immunology**. v. 161, n. 8, p. 4236-4243, 1998.

MARTELLI, A.; TESTAI, L.; BRESCHI, M. C.; BLANDIZZI, C.; VIRDIS, A.; TADDEI, S.; CALDERONE, V. Hydrogen sulphide: novel opportunity for drug discovery. **Medicinal Research Reviews**. v. 32, n. 6, p. 1093-1130, 2010.

MARTELLI, A.; TESTAI, L.; CITI, V.; MARINO, A.; PUGLIESI, I.; BARRESI, E.; NESI, G.; RAPPOSELLI, S.; TALIANI, S.; DA SETTIMO, F.; BRESCHI, M. C.; CALDERONE, V. Arylthioamides as H₂S donors: L-cysteine-activated releasing properties and vascular effects *in vitro* and *in vivo*. **ACS Medicinal Chemistry Letters**. v. 4, n. 10, p. 904-908, 2013.

MARTELLI, A.; TESTAI, L.; CITI, V.; MARINO, A.; BELLAGAMBI, F. G.; GHIMENTI, S.; BRESCHI, M. C.; CALDERONE, V. Pharmacological characterization of the vascular effects of aryl isothiocyanates: is hydrogen sulfide the real player? **Vascular Pharmacology**. v. 60, n. 1, p. 32-41, 2014.

MARTELLI, A.; CITI, V.; TESTAI, L.; BROGI, S.; CALDERONE, V. Organic isothiocyanates as hydrogen sulfide donors. **Antioxidants & Redox Signaling**. v. 32, n. 2, p. 110-144, 2020.

MATTHEWS, S. J.; McCOY, C. Thalidomide: a review of approved and investigational uses. **Clinical Therapeutics**. v. 25, n. 2, p. 342-395, 2003.

MAYADAS, T. N.; CULLLERE, X.; LOWELL, C. A. The multifaceted functions of neutrophils. **Annual Review of Pathology**. v. 9, p. 181-218, 2014.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**. v. 454, n. 24, p. 428-435, 2008.

MELO, I. S. F.; RODRIGUES, F. F.; COSTA, S. O. A. M.; BRAGA, A. V.; MORAIS, M. I.; VAZ, J. A.; SILVA NETO, L.; GALVÃO, I.; MODOLO, L. V.; AMARAL, F. A.; OLIVEIRA, R. B.; DE FÁTIMA, A.; MACHADO, R. R.; COELHO, M. M. 4-Methylbenzenecarbothioamide, a hydrogen sulfide donor, inhibits tumor necrosis factor- α and cxcl1 production and exhibits activity in models of pain and inflammation. **European Journal of Pharmacology**. v. 856, n. 172404, 2019.

MELO, I. S. F.; ZIVIANI, V. P.; BARBOSA, B. C. M.; RODRIGUES, F. F.; SILVA, R. R. L.; SILVA NETO, L.; DE FÁTIMA, A.; CÉSAR, I. C.; MACHADO, R. R.; COELHO, M.

M. Synthesis of 2-(2-(4-thioxo-3H-1,2-dithiole-5-yl) phenoxy)ethyl) isoindole-1,3-thione, a novel hydrogen sulfide-releasing phthalimide hybrid, and evaluation of its activity in models of inflammatory pain. **European Journal of Pharmacology**. v. 938, 175409, 2023.

MENG, X.; HAN, D.; ZHANG, S.; GUO, W.; CUI, J.; LI, Z. Synthesis and anti-inflammatory activity of N-phthalimidomethyl 2,3-dideoxy- and 2,3-unsaturated glycosides. **Carbohydrate Research**. v. 342, n. 9, p. 1169-1174, 2007.

MERIGHI, S.; GESSI, S.; VARANI, K.; FAZZI, D.; BOREA, P. A. Hydrogen sulfide modulates the release of nitric oxide and VEGF in human keratinocytes. **Pharmacological Research**. v. 66, n. 5, p. 428-436, 2012.

MESEGUER, V.; ALPIZAR, Y. A.; LUIS, E.; TAJADA, S.; DENLINGER, B.; FAJARDO, O.; MANENSCHIJN, J.; FERNÁNDEZ-PEÑA, C.; TALAVERA, A.; KICHKO, A.; NAVIA, B.; SÁNCHEZ, A.; SEÑARÍS, R.; REEH, P.; PÉREZ-GARCÍA, M. T.; LÓPEZ-LÓPEZ, J. R.; VOETS, T.; BELMONTE, C.; TALAVERA, K.; VIANA, F. TRPA1 channels mediate acute neurogenic inflammation and pain produced by bacterial endotoxins. **Nature Communications**. v. 5, 3125, 2014.

MIYACHI, H.; AZUMA, A.; HIOKI, E.; IWASAKI, S.; KOBAYASHI, Y.; HASHIMOTO, Y. Inducer-specific bidirectional regulation by thalidomide and phenylphthalimides of tumor necrosis factor-alpha production. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 224, n. 2, p. 426-430, 1996.

MIYACHI, H.; OGASAWARA, A.; AZUMA, A.; HASHIMOTO, Y. Tumor necrosis factor-alpha production-inhibiting activity of phthalimide analogues on human leukemia THP-1 cells and a structure-activity relationship study. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 5, n. 11, p. 2095-2102, 1997.

MONTANA, G. J.; BUCKLEY, G. M.; COOPER, N.; DYKE, H. J.; GOWERS, L.; GREGORY, J. P.; HELLEWELL, P. G.; KENDALL, H. J.; LOWE, C.; MAXEY, R.; MIOTLA, J.; NAYLOR, R. J.; RUNCIE, K. A.; TULADHAR, B.; WARNECK, J. B. Aryl

sulfonamides as selective PDE4 inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 8, n. 18, p. 2635-2640, 1998.

MORAIS, M. I.; RODRIGUES, F. F.; COSTA, S. O. A. M.; GOULART, F. A.; COSTA, F. C.; MELO, I. S. F.; AUGUSTO, P. S. A.; DUTRA, M. M. G. B.; DE FÁTIMA, Â.; COELHO, M. M.; MACHADO, R. R. Nicorandil inhibits mechanical allodynia induced by paclitaxel by activating opioidergic and serotonergic mechanisms. **European Journal of Pharmacology**. v. 824, p. 108-114, 2018.

MOSTAFA, D. K.; EL, AZHARY, N. M.; NASRA, R. A. The hydrogen sulfide releasing compounds ATB-346 and diallyl trisulfide attenuate streptozotocin-induced cognitive impairment, neuroinflammation, and oxidative stress in rats: involvement of asymmetric dimethylarginine. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**. v. 94, n. 7, p. 699-708, 2016.

MULLER G, W.; CORRAL, L. G.; SHIRE, M. G.; HUANG, W.; MOREIRA, A.; KAPLAN, G.; STIRLING, D. I. Structural modifications of thalidomide produce analogs with enhanced tumor necrosis factor inhibitory activity. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 39, n. 17, p. 3238-3240, 1996.

MULLER, G. W.; SHIRE, M. G.; WONG, L. M.; CORRAL, L. G.; PATTERSON, R. T.; CHEN, Y.; STIRLING, D, I. Thalidomide analogs and PDE₄ inhibition. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v. 8, n. 19, p. 2669-2674, 1998.

MURPHY S. W. Inflammation. In: RUBIN, E.; REISNER, H. M. **Essentials of Rubin's Pathology**. 6th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2013. p. 25-48.

MUSTAFA, A. K.; GADALLA, M. M.; SYNDER, S. H. Signaling by gasotransmitters. **Science Signaling**. v. 2, n. 68, 2009.

MUSTAFA, A. K.; SIKKA, G.; GAZI, S. K.; STEPPAN, J.; JUNG, S. M.; BHUNIA, A. K.; BARODKA, V. M.; GAZI, F. K.; BARROW, R. K.; WANG, R.; AMZEL, L. M.; BERKOWITZ, D. E.; SYNDER, S. H. Hydrogen sulfide as endothelium-derived

hyperpolarizing factor sulfhydrates potassium channels. **Circulation Research**. v. 109, n. 11, p. 1259-1268, 2011.

MUZAFFAR, S.; JEREMY, J. Y.; SPARATORE, A.; DEL SOLDATO, P.; ANGELINI, G. D.; SHUKLA, N. H₂S-donating sildenafil (ACS6) inhibits superoxide formation and gp91phox expression in arterial endothelial cells: role of protein kinases A and G. **British Journal of Pharmacology**. v. 155, n. 7, 2008.

NASCIMENTO, F. P.; MACEDO-JÚNIOR, S. J.; BORGES, F. R. M.; CREMONESE, R. P.; DA SILVA, M. D.; LUIZ-CERUTTI, M.; MARTINS, D. F.; RODRIGUES, A. L. S.; SANTOS, A. R. S. Thalidomide reduces mechanical hyperalgesia and depressive-like behavior induced by peripheral nerve crush in mice. **Neuroscience**. v. 303, p. 51-58, 2015.

NIA, K. V.; KODELA, R.; CHATTOPADHYAY, M.; KASHFI, K. The dual nitric oxide and hydrogen sulfide-releasing nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NOSH-aspirin, NOSH-naproxen, and NOSH-sulindac are safe to the stomach and have strong anti-inflammatory, analgesic, antipyretic, anti-platelet, and anti-cancer properties. **Gastroenterology**. v. 144, S-596, Mo1164, 2013.

NIN, D. S.; IDRES, S. B.; SONG, Z. J.; MOORE, P. K.; DENG, L. Biological effects of morpholin-4-ium 4 methoxyphenyl (morpholino) phosphinodithioate and other phosphorothioate-based hydrogen sulfide donors. **Antioxidants & Redox Signaling**. v. 32, n. 2, p. 145-158, 2020.

NIWAYAMA, S; TURK, B. E.; LIU, J. O. Potent inhibition of tumor necrosis factor- α production by tetrafluorothalidomide and tetrafluorophthalimides. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 39, n. 16, p. 3044-3045, 1996.

OCAÑA, M.; DEL POZO, E.; BARRIOS, M.; ROBLES, L. I.; BAEYENS, J. M. An ATP-dependent potassium channel blocker antagonizes morphine analgesia. **European Journal of Pharmacology**. v. 186, p. 377-378, 1990.

OH, G.; PAE, H.; LEE, B.; KIM, B.; KIM, J.; KIM, H.; JEON, S. B.; JEON, W. K.; CHAE, H.; CHUNG, H. Hydrogen sulfide inhibits nitric oxide production and nuclear factor-kappaB via heme oxygenase-1 expression in RAW264.7 macrophages stimulated with lipopolysaccharide. **Free Radical Biology and Medicine**. v. 41, n. 1, p. 106-119, 2006.

OLIVER, S. J.; FREEMAN, S. L.; CORRAL, L. G.; OCAMPO, C. J.; KAPLAN, G. Thalidomide analogue CC1069 inhibits development of rat adjuvant arthritis. **Clinical and Experimental Immunology**. v. 118, n. 2, p. 315-321, 1999.

OLSON, K. R. A practical look at the chemistry and biology of hydrogen sulfide. **Antioxidants & Redox Signaling**. v. 17, n. 1, p. 32-44, 2012.

ORTIZ, C. J. C.; SILVA, M. F.; PRUCCOLI, L.; NADUR, N. F.; AZEVEDO, L. L.; KUMMERLE, A. E.; GUEDES, I. A.; DARDENNE, L. E.; COELHO, L. F. L.; GUIMARÃES, M. J.; SILVA, F. M. R.; CASTRO, N.; GONTIJO, V. S.; ROJAS, V. C. T.; OLIVEIRA, M. K.; VILELA, F. C.; GIUSTI-PAIVA, A.; BARBOSA, G.; LIMA, L. M.; PINHEIRO, G. B.; VERAS, L. G.; MORTARI, M. R.; TAROZZI, A.; VIEGAS, C. Design, synthesis, and biological evaluation of new thalidomide-donepezil hybrids as neuroprotective agents targeting cholinesterases and neuroinflammation. **RSC Medicinal Chemistry**. v. 13, n. 5, p. 568-584, 2022.

OTTO, M.; BORN, B.; GRASMIK, T.; DOLL, M.; MEISSNER, M.; JAKOB, T.; HRGOVIC, I. Apremilast effectively inhibits TNF α -induced vascular inflammation in human endothelial cells. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**. v. 36, n. 2, p. 237-246, 2021.

PAN, L.; LIU, X.; GONG, Q.; WU, D.; ZHU, Y. Hydrogen sulfide attenuated tumor necrosis factor- α -induced inflammatory signaling and dysfunction in vascular endothelial cells. **PLoS One**. v. 6, n. 5, e19766, 2011.

PAPAPETROPOULOS A.; WHITEMAN, M.; CIRINO, G. Pharmacological tools for hydrogen sulphide research: a brief, introductory guide for beginners. **British Journal of Pharmacology**. v. 172, n. 6, p. 1633-1637, 2015.

PARAMESWARAN, N.; PATIAL, S. Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. **Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression**. v. 20, n. 2, p. 87-103, 2010.

PAUL, B. D.; SNYDER, S. H. H₂S signalling through protein sulfhydration and beyond. **Nature Reviews. Molecular Cell Biology**. v. 13, n. 8, p. 499-507, 2012.

PEREIRA, P. J. S.; DORNELLES, F. N.; SANTOS, D. S.; CALIXTO, J. B.; MORRONE, F. B.; CAMPOS, M. M. Nociceptive and inflammatory responses induced by formalin in the orofacial region of rats: effect of anti-TNF α strategies. **International Immunopharmacology**. v. 9, n. 1, p. 80-85, 2009.

PERNA, A. F.; SEPE, I.; LANZA, D.; CAPASSO, R.; ZAPPAVIGNA, S.; CAPASSO, G.; CARAGLIA, M.; INGROSSO, D. Hydrogen sulfide reduces cell adhesion and relevant inflammatory triggering by preventing ADAM17-dependent TNF- α activation. **Journal of Cellular Biochemistry**. v. 114, n. 7, p. 1536-1548, 2013.

PITCHFORD S.; LEVINE J. D. Prostaglandins sensitize nociceptors in cell culture. **Neuroscience Letters**. v. 132, n. 1, p. 105-108, 1991.

POOLE, S.; LORENZETTI, B. B.; CUNHA, J. M.; CUNHA, F. Q.; FERREIRA, S. H. Bradykinin B1 and B2 Receptors, tumour necrosis factor alpha and inflammatory hyperalgesia. **British Journal of Pharmacology**. v. 126, n. 3, p. 649-656, 1999.

POPHALE, R. A.; DEODHAR, M. N. Synthesis and evaluation of novel phthalimide derivatives as analgesic and anti-inflammatory agents. **Der Pharma Chemica**. v. 2, n. 1, p. 185-193, 2010.

PORTA, A.; RODRÍGUEZ, L.; BAI, X.; BATALLÉ, G.; ROCH, G.; POUISO-VÁZQUEZ, E.; BALBONI, G.; POL, O. Hydrogen sulfide inhibits inflammatory pain and enhances the analgesic properties of delta opioid receptors. **Antioxidants**. v. 10, n. 12, 1977, 2021.

POSADAS, I.; BUCCI, M.; ROVIEZZO, F.; ROSSI, A.; PARENTE, L.; SAUTEBIN, L.; CIRINO, G. Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. **British Journal of Pharmacology**. v. 142, n. 2, p. 331-338, 2004.

QABAZARD, B.; MASOCHA, W.; KHAJAH, M.; PHILLIPS, O. A. H₂S donor GYY4137 ameliorates paclitaxel-induced neuropathic pain in mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. v. 127, 110210, 2020.

QIN, M.; LONG, F.; WU, W.; YANG, D.; HUANG, M.; XIAO, C.; CHEN, X.; LIU, X.; ZHU, Y. Z. Hydrogen sulfide protects against DSS-induced colitis by inhibiting NLRP3 inflammasome. **Free Radical Biology and Medicine**. v. 137, p. 99-109, 2019.

QIU, H.; CHEN, X.; LUO, Z.; ZHAO, L.; ZHANG, T.; YANG, N.; LONG, X.; XIE, H.; LIU, J.; XU, W. Inhibition of endogenous hydrogen sulfide production exacerbates the inflammatory response during urine-derived sepsis-induced kidney injury. **Experimental and Therapeutic Medicine**. v. 16, n. 4, p. 2851-2858, 2018.

RAJA, S. N.; CARR, D. B.; COHEN, M.; FINNERUP, N. B.; FLOR, H. ; GIBSON, S.; KEEFE, F.; MOGIL, J. S.; RINGKAMP, M.; SLUKA, K. A.; SONG, X.; STEVENS, B.; SULLIVAN, M.; TUTELMAN, P.; USHIDA, T.; VADER, K. The Revised IASP definition of pain: concepts, challenges, and compromises. **Pain**. v. 161, n. 9, p. 1976-1982, 2020.

RAKER, V. K.; BECKER, C.; STEINBRINK, K. The cAMP pathway as therapeutic target in autoimmune and inflammatory diseases. **Frontiers in Immunology**. v. 7, 123, 2016.

REDONDO, A.; CHAMORRO, P. A. F.; RIEGO, G.; LEÁNEZ, S.; POL, O. Treatment with sulforaphane produces antinociception and improves morphine effects during inflammatory pain in mice. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 363, n. 3, p. 293-302, 2017.

RIBEIRO, R. A.; VALE, M. L.; FERREIRA, S. H.; CUNHA, F. Q. Analgesic effect of thalidomide on inflammatory pain. **European Journal of Pharmacology**. v. 391, n. 1-2, p. 97-103, 2000.

RIOS, E. C. S.; SZCZESNY, B.; SORIANO, F. G.; OLAH, G.; SZABÓ, C. Hydrogen sulfide attenuates cytokine production through the modulation of chromatin remodeling. **International Journal of Molecular Medicine**. v. 35, n. 6, p. 1741-1746, 2015.

ROCH, G.; BATALLÉ, G.; BAI, X.; POUISO-VÁZQUEZ, E.; RODRÍGUEZ, L.; POL, O. The beneficial effects of heme oxygenase 1 and hydrogen sulfide activation in the management of neuropathic pain, anxiety- and depressive-like effects of paclitaxel in mice. **Antioxidants**. v. 11, n. 1, 122, 2022.

ROCHA, A. A. C.; FERNANDES, E. S.; QUINTÃO, N. L.; CAMPOS, M. M.; CALIXTO, J. B. Relevance of tumour necrosis factor-alpha for the inflammatory and nociceptive responses evoked by carrageenan in the mouse paw. **British Journal of Pharmacology**. v. 148, n. 5, p. 688-695, 2006.

RODRIGUES, A. R. A.; DUARTE, I. D. G. The peripheral antinociceptive effect induced by morphine is associated with ATP-sensitive K⁺ channels. **British Journal of Pharmacology**. v. 129, n. 1, p. 110-114, 2000.

RODRIGUES, L.; EKUNDI-VALENTIM, E.; FLORENZANO, J.; CERQUEIRA, A. R.; SOARES, A. G.; SCHMIDT, T. P.; SANTOS, K. T.; TEIXEIRA, S. A.; RIBELA, M. T.; RODRIGUES, S. F.; DE CARVALHO, M. H.; DE NUCCI, G.; WOOD, M.; WHITEMAN, M.; MUSCARÁ, M. N.; COSTA, S. K. Protective effects of exogenous and endogenous hydrogen sulfide in mast cell-mediated pruritus and cutaneous acute inflammation in mice. **Pharmacological Research**. v. 115, p. 255-266, 2017.

SALVEMINI, D.; WANG, Z. Q.; WYATT, P. S.; BOURDON, D. M.; MARINO, M. H.; MANNING, P. T.; CURRIE, M. G. Nitric oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. **British Journal of Pharmacology**. v. 118, n. 4, p. 829-838, 1996.

SAMPAIO, E. P.; SARNO, E. N.; GALILLY, R.; COHN, Z. A.; KAPLAN, G. Thalidomide selectively inhibits tumor necrosis factor ac production by stimulated human monocytes. **Journal of Experimental Medicine**. v. 173, n. 3, p. 699-703, 1991.

SAMPAIO, E. P.; SARNO, E. N.; GALILLY, R.; COHN, Z. A.; KAPLAN, G. Prolonged treatment with recombinant interferon γ induces erythema nodosum leprosum in lepromatous leprosy patients. **Journal of Experimental Medicine**. v. 175, n. 6, p. 1729-1737, 1992.

SANTIN, J. R.; SILVA, G. F.; PASTOR, M. V. D.; BROERING, M. F.; NUNES, R.; BRAGA, R. C.; SOUSA, I. T. S.; STIZ, D. S.; SILVA, K. A. B. S.; STOEBERL, L. C.; CORRÊA, R.; FILHO, V. C.; SANTOS, C. E. M.; QUINTÃO, N. L. M. Biological and toxicological evaluation of N-(4methyl-phenyl)-4-methylphthalimide on bone cancer in mice. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**. v. 19, n. 5, p. 667-676, 2019.

SCHECHTER, N. L. Functional pain: time for a new name. **JAMA Pediatrics**. v. 168, n. 8, p. 694-694, 2014.

SESTITO, S.; NESI, G.; PI, R.; MACCHIA M.; RAPPOSELLI, S. Hydrogen sulfide: a worthwhile tool in the design of new multitarget drugs. **Frontiers in Chemistry**. v. 5, n. 72, 2017.

SHANNON, E. J.; MORALES, M. J.; SANDOVAL, F. Immunomodulatory assays to study structure-activity relationships of thalidomide. **Immunopharmacology**. v. 35, n. 3, p. 203-212, 1997.

SHAYEA, A. M. F.; MOUSA, A. M. A.; RENNO, W. M.; NADAR, M. S.; QABAZARD, B.; YOUSIF, M. H. M. Chronic treatment with hydrogen sulfide donor GYY4137 mitigates microglial and astrocyte activation in the spinal cord of streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**. v. 79, n. 12, p. 1320-1343, 2020.

SHEN, X.; PATILLO, C. B.; PARDUE, S.; BIR, S. C.; WANG, R. KEVIL, C. G. Measurement of plasma hydrogen sulfide in vivo and in vitro. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 50, n. 9, p. 1021-1031, 2011.

SHERWOOD, E. R.; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best Practice and Research Clinical Anaesthesiology**. v. 18, n. 3, p. 385-405, 2004.

SIDHAPURIWALA, J.; LI, L.; SPARATORE, A.; BHATIA, M.; MOORE, P. K. Effect of S-diclofenac, a novel hydrogen sulfide releasing derivative, on carrageenan-induced hindpaw oedema formation in the rat. **European Journal of Pharmacology**. v. 569, n. 1-2, p. 149-154, 2007.

SIEGHART, D.; LISZT, M.; WAVINEHAUS, A.; BROLL, H.; KIENER, H.; KLOSCH, B.; STEINER, G. Hydrogen sulphide decreases IL-1 β -induced activation of fibroblast-like synoviocytes from patients with osteoarthritis. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**. v. 19, n. 1, p. 187-197, 2015.

SINGH, V. P.; DOWARAH, J.; MARAK, B. N.; SRAN, B. S.; TEWARI, A. K. Study of the structure-bioactivity of fleximers: synthesis, crystal structure, Hirshfeld surface analysis, and anti-inflammatory assays. **Journal of Molecular Structure**. v. 1239, 130513, 2021.

SOMMER, C.; MARZINIAK, M.; MYERS, R. R. The effect of thalidomide treatment on vascular pathology and hyperalgesia caused by chronic constriction injury of rat nerve. **Pain**. v. 74, n. 1, p. 83-91, 1998.

SPARATORE, A.; PERRINO, E.; TAZZARI, V.; GIUSTARINI, D.; ROSSI, R.; ROSSONI, G.; ERDMANN, K.; SCHRÖDER, H. DEL SOLDATO, P. Pharmacological profile of a novel H₂S-releasing aspirin. **Free Radical Biology and Medicine**. v. 46, n. 5, p. 586-592, 2009.

SPASSOV, S. G.; FALLER, S.; GOEFT, A.; VON ITTER, M. A.; BIRKIGT, A.; MEYERHOEFER, P.; IHLE, A.; SEILER, R.; SCHUMANN, S.; HOETZEL, A. Profiling

distinctive inflammatory and redox responses to hydrogen sulfide in stretched and stimulated lung cells. **Antioxidants**. v. 11, n. 5, 1001, 2022.

SONG, H.; SUN, Y.; XU, G.; HOU, B.; AO, G. Synthesis and biological evaluation of novel hydrogen sulfide releasing glycyrrhetic acid derivatives. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**. v. 31, n. 6, p. 1457-1463, 2016.

SONG, Z. J.; NG, M. Y.; LEE, Z.; DAI, W.; HAGEN, T.; MOORE, P. K.; HUANG, D.; DENG, L.; TAN, C. Hydrogen sulfide donors in research and drug development. **Medicinal Chemistry Communications**. v. 5, p. 557-570, 2014.

STEIN, A.; BAILEY, S. M. Redox biology of hydrogen sulfide: implications for physiology, pathophysiology, and pharmacology. **Redox Biology**. v. 1, n. 1, p. 32-39, 2013.

SU, M.; CAO, J.; HUANG, J.; LIU, S.; IM, D. S.; YOO, J. W.; JUNG, J. H. The *in vitro* and *in vivo* anti-inflammatory effects of a phthalimide PPAR- γ agonist. **Marine Drugs**. v. 15, n. 1, 7, 2017.

SUN, L.; CHEN, L.; WANG, F.; ZHANG, X.; YUAN, C.; NIU, Q.; LI, Z.; DENG, L.; ZHENG, B.; LI, C.; ZHOU, X. Exogenous hydrogen sulfide prevents lipopolysaccharide-induced inflammation by blocking the TLR4/NF- κ B pathway in MAC-T cells. **Gene**. v. 710, p. 114-121, 2019.

SZABÓ, C.; PAPAPETROPOULOS, A. International union of basic and clinical pharmacology. CII: pharmacological modulation of H₂S levels: H₂S donors and H₂S biosynthesis inhibitors. **Pharmacological Reviews**. v. 69, n. 4, p. 497-564, 2017.

SZABÓ, C. A timeline of hydrogen sulfide (H₂S) research: From environmental toxin to biological mediator. **Biochemical Pharmacology**. v. 149, p. 5-19, 2018.

TALAEI, F. Pathophysiological concepts in multiple sclerosis and the therapeutic effects of hydrogen sulfide. **Basic and Clinical Neuroscience**. v. 7, n. 2, p. 121-136, 2016.

TANG, B.; MA, L.; YAO, X.; TAN, G.; HAN, P.; YU, T.; LIU, B.; SUN, X. Hydrogen sulfide ameliorates acute lung injury induced by infrarenal aortic cross-clamping by inhibiting inflammation and angiopoietin 2 release. **Journal of Vascular Surgery**. v. 65, n. 2, p. 501-508, 2017.

TOKUDA, K.; KIDA, K.; MARUTANI, E.; CRIMI, E.; BOUGAKI, M.; HATRI, A.; KIMURA, H.; ICHINOSE, F. Inhaled hydrogen sulfide prevents endotoxin-induced systemic inflammation and improves survival by altering sulfide metabolism in mice. **Antioxidants & Redox Signaling**. v. 17, n. 1, p. 11-21, 2012.

TOMINAGA, M. The Role of TRP Channels in Thermosensation. In: LIEDTKE, W. B.; HELLER, S. **TRP Ion Channel Function in Sensory Transduction and Cellular Signaling Cascades**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2007, Cap. 20.

TÖRÖK, S.; ALMÁSI, N.; VALKUSZ, Z.; PÓSA, A.; VARGA, C.; KUPAI, K. Investigation of H₂S donor treatment on neutrophil extracellular traps in experimental colitis. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 22, n. 23, 12729, 2021.

TRUONG, D. H.; MIHAJLOVIC, A.; GUNNESS, P.; HINDMARSH, W.; O'BRIEN, P. J. Prevention of hydrogen sulfide (H₂S)-induced mouse lethality and cytotoxicity by hydroxocobalamin (vitamin B_{12a}). **Toxicology**. v. 242, n. 1-3, p. 16-22, 2007.

TWEEDIE, D.; FRANKOLA, K. A.; LUO, W.; LI, Y.; GREIG, N. H. Thalidomide Analogues Suppress Lipopolysaccharide-Induced Synthesis of TNF- α and Nitrite, an Intermediate of Nitric Oxide, in a Cellular Model of Inflammation. **The Open Biochemistry Journal**. v. 5, p. 37-44, 2011.

UNUMA, K.; YOSHIKAWA, A.; AKI, T.; UEMURA, K. Increased circulating peroxiredoxin-4 in sepsis model rats involves secretion from hepatocytes and is mitigated by GYY4137. **Journal of Toxicologic Pathology**. v. 32, n. 4, p. 305-310, 2019.

VAAMONDE-GARCÍA, C.; BURGUERA, E. F. VELA-ANERO, A.; HERMIDA-GOMEZ, T.; FILGUEIRA-FERNANDEZ, P.; FERNANDEZ-RODRIGUEZ, J. A.; MEILJIDE-FAILDE, R.; BLANO, F. J. Intraarticular administration effect of hydrogen sulfide on an in vivo rat model of osteoarthritis. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 21, n. 19, 7421, 2020.

VAN DINGENEN, J.; PIETERS, L.; VRAL, A.; LEFEBVRE, R. A. The H₂S-releasing naproxen derivative ATB-346 and the slow-release H₂S donor GYY4137 reduce intestinal inflammation and restore transit in postoperative ileus. **Frontiers in Pharmacology**. v. 10, 116, 2019.

VELMURUGAN, G. V.; HUANG, H.; SUN, H.; CANDELA, J.; JAISWAL, M. K.; BEAMAN, K. D.; YAMASHITA, M.; PRAKRYIA, M.; WHITE, C. Depletion of H₂S during obesity enhances store-operated Ca²⁺ entry in adipose tissue macrophages to increase cytokine production. **Science Signaling**. v. 8, n. 407, ra128, 2015.

VERRI, W. A.; CUNHA, T. M.; PARADA, C. A.; POOLE, S.; CUNHA, F. Q.; FERREIRA, S. H. Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: targets for analgesic drug development? **Pharmacology & Therapeutics**. v. 112, n. 1, p. 116-138, 2006.

VOGEL, H. G. Analgesic, anti-inflammatory, and anti-pyretic activity. In: VOGEL, H. G. **Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays**. 2^a ed. Springer-Verlag, 2002. p. 696-697.

WALLACE, J. L.; REUTER, B.; CICALA, C.; MCKNIGHT, W.; GRISHAM, M. B.; CIRINO, G. Novel nonsteroidal anti-inflammatory drug derivatives with markedly reduced ulcerogenic properties in the rat. **Gastroenterology**. v. 107, n. 1, p. 173-179, 1994.

WALLACE, J. L. Hydrogen sulfide-releasing anti-inflammatory drugs. **Trends in Pharmacological Sciences**. v. 22, n. 10, p. 501-505, 2007.

WALLACE, J. L.; CALIENDO, G.; SANTAGADA, V.; CIRINO, G.; FIORUCCI, S. Gastrointestinal safety and anti-inflammatory effects of a hydrogen sulfide-releasing diclofenac derivative in the rat. **Gastroenterology**. v. 132, n. 1, p. 261-271, 2007a.

WALLACE, J. L.; DICAY, M.; MCKNIGHT, W.; MARTIN, G. R. Hydrogen sulfide enhances ulcer healing in rats. **FASEB Journal**. v. 21, n. 14, p. 4070-4076, 2007b.

WALLACE, J. L.; VONG, L.; MCKNIGHT, W.; DICAY, M.; MARTIN, G. R. Endogenous and exogenous hydrogen sulfide promotes resolution of colitis in rats. **Gastroenterology**. v. 137, n. 2, p. 569-578, 2009.

WALLACE, J. L.; CALIENDO, G.; SANTAGADA, V.; CIRINO, G. Markedly reduced toxicity of a hydrogen sulphide-releasing derivative of naproxen (ATB-346). **British Journal of Pharmacology**. v. 159, n. 6, p. 1236-1246, 2010.

WALLACE, J. L.; VAUGHAN, D. J.; DICAY, M.; MACNAUGHTON, W. K.; DE NUCCI, G. Hydrogen sulfide-releasing therapeutics: translation to the clinic. **Antioxidants and Redox Signaling**. v. 28, n. 16, p. 1533-1540, 2018.

WALLACE, J. L.; NAGY, P.; FEENER, T. D.; ALLAIN, T.; DITRÓI, T.; VAUGHAN, D. J.; DICAY, M.; MUSCARA, M. N.; DE NUCCI, G.; BURET, A. G. A proof-of-concept, phase 2 clinical trial of the gastrointestinal safety of a hydrogen sulfide-releasing anti-inflammatory drug. **British Journal of Pharmacology**. v. 177, n. 4, p. 769-777, 2020.

WANG, C.; WANG, C. Anti-nociceptive and anti-inflammatory actions of sulforaphane in chronic constriction injury-induced neuropathic pain mice. **Inflammopharmacology**. v. 25, n. 1, p. 99-106, 2017.

WANG, R. Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? **FASEB Journal**. v. 16, n. 13, p. 1792-1798, 2002.

WANG, R. The gasotransmitter role of hydrogen sulfide. **Antioxidants and Redox Signaling**. v. 5, n. 4, p. 493-501, 2003.

WANG, R. Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed. **Physiological Reviews**. v. 92, n. 2, p. 791-896, 2012.

WANG, X.; TIAN, B.; HUANG, Y.; PENG, X. Y.; CHEN, L. H.; LI, J. C.; LIU, T. Hydrogen sulfide-induced itch requires activation of Cav3.2 T-type calcium channel in mice. **Scientific Reports**. v. 5, n. 16768, 2015.

WANG, Y.; ZHAO, X.; JIN, H.; WEI, H.; LI, W.; BU, D.; TANG, X.; REN, Y.; TANG, C.; DU, J. Role of hydrogen sulfide in the development of atherosclerotic lesions in apolipoprotein E knockout mice. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**. v. 29, n. 2, p. 173-179, 2009.

WHITEMAN, M.; LI, L.; ROSE, P.; TAN, C. H.; PARKINSON, D. B.; MOORE, P. K. The effect of hydrogen sulfide donors on lipopolysaccharide-induced formation of inflammatory mediators in macrophages. **Antioxidants & Redox Signaling**. v. 12, n. 10, p. 1147-1154, 2010.

WHITEMAN, M.; WINYARD, P. G. Hydrogen sulfide and inflammation: the good, the bad, the ugly and the promising. **Expert Review of Clinical Pharmacology**. v. 4, n. 1, p. 13-32, 2011.

WOOLF, C. J. Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. **Annals of Internal Medicine**. v. 140, n. 6, p. 441-451, 2004.

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

XU, X.; HAO, J.; ANDELL-JONSSON, S.; POLI, V.; BARTFAI, T.; WISENFELD-HALLIN, Z. Nociceptive responses in interleukin-6-deficient mice to peripheral inflammation and peripheral nerve section. **Cytokine**. v. 9, n. 12, p. 1028-1033, 1997.

YAN, Y. Y.; LI, C. Y.; ZHOU, L.; AO, L. Y.; FANG, W. R.; LI, Y. M. Research progress of mechanisms and drug therapy for neuropathic pain. **Life Sciences**. v. 190, p. 68-77, 2017.

YANG, C.; YANG, Z.; ZHANG, M.; DONG, Q.; WANG, X.; LAN, A.; ZENG, F.; CHEN, P.; WANG, C.; FENG, J. Hydrogen sulfide protects against chemical hypoxia-induced cytotoxicity and inflammation in HaCaT cells through inhibition of ROS/NF- κ B/COX-2 pathway. **PLoS One**. v. 7, n. 7, e21971, 2011.

YANG, H.; WU, Z. Y.; BIAN, J. S. Hydrogen sulfide inhibits opioid withdrawal-induced pain sensitization in rats by down-regulation of spinal calcitonin gene-related peptide expression in the spine. **International Journal of Neuropsychopharmacology**. v. 17, n. 9, p. 1387-1395, 2014.

YEKKIRALA, A. S.; ROBERSON, D. P.; BEAN, B. P.; WOOLF, C. J. Breaking barriers to novel analgesic drug development. **Nature Reviews. Drug Discovery**. v. 16, n. 8, p. 545-564, 2017.

YIN, L., GAO, S.; LI, C. Exogenous hydrogen sulfide alleviates surgery-induced neuroinflammatory cognitive impairment in adult mice by inhibiting NO signaling. **BMC Anesthesiology**. v. 20, n. 1, 12, 2020.

YOGEE SWARI, P.; RAGAVENDRAN, J. V.; SRIRAM, D.; KAVYA, R.; VANITHA, K.; NEELAKANTAN, H. Newer N-phthaloyl GABA derivatives with antiallodynic and antihyperalgesic activities in both sciatic nerve and spinal nerve ligation models of neuropathic pain. **Pharmacology**. v. 81, n. 1, p. 21-31, 2008.

YURINSKAYA, M. M.; KRASNOV, G. S.; KULIKOVA, D. A.; ZATSEPINA, O. G.; VINOKUROV, M. G.; CHUVAKOVA, L. N.; REZVYKH, A. P.; FUNIKOV, S. Y.; MOROZOV, A. V.; EVGEN'EV, M. B. H₂S counteracts proinflammatory effects of LPS through modulation of multiple pathways in human cells. **Inflammation Research**. v. 69, n. 5, p. 481-495, 2020.

ZANARDO, R. C. O.; BRANCALEONE, V.; DISTRUTTI, E.; FIORUCCI, S.; CIRINO, G.; WALLACE, J. L. Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. **FASEB Journal**. v. 20, n. 12, p. 2118-2120, 2006.

ZAYACHKIVSKA, O.; HAVRYLUK, O.; HRYCEVYCH, N.; BULA, N.; GRUSHKA, O.; WALLACE, J. L. Cytoprotective effects of hydrogen sulfide in novel rat models of non-erosive esophagitis. **PLoS One**. v. 9, n. 10, e110688, 2014.

ZHANG, D.; DU, J.; TANG, C.; HUANG, Y.; JIN, H. H₂S-induced sulfhydration: biological function and detection methodology. **Frontiers in Pharmacology**. v. 8, 608, 2017.

ZHANG, G.; WANG, P.; YANG, G.; WANG, R. The inhibitory role of hydrogen sulfide in airway hyperresponsiveness and inflammation in a mouse model of asthma. **American Journal of Pathology**. 182, n. 4, p. 1188-1195, 2013.

ZHANG, G.; LU, D.; DUAN, S.; GAO, Y.; LIU, S.; HONG, Y.; DONG, P.; CHEN, Y.; LI, T.; WANG, D.; CHENG, X.; HE, F.; WEI, J.; LI, G.; ZHANG, Q.; WU, D.; JI, X. Hydrogen sulfide alleviates lipopolysaccharide-induced diaphragm dysfunction in rats by reducing apoptosis and inflammation through ROS/MAPK and TLR4/NF- κ B signaling pathways. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. v. 2018, 9647809, 2018.

ZHANG, H.; GUO, C.; WU, D.; ZHANG, A.; GU, T.; WANG, L.; WANG, C. Hydrogen sulfide inhibits the development of atherosclerosis with suppressing CX3CR1 and CX3CL1 expression. **PLoS One**. v. 7, n. 7, e41147, 2012.

ZHANG, H.; LIU, S.; TANG, X.; DUAN, G.; NI, X.; ZHU, X.; LIU, Y.; WANG, C. H₂S Attenuates LPS-induced acute lung injury by reducing oxidative/nitrative stress and inflammation. **Cellular Physiology and Biochemistry**. v. 40, n. 6, p. 1603-1612, 2016.

ZHANG, H.; SHANG, C.; TIAN, Z.; AMIN, H. K.; KASSAB, R. B.; MONEIM, A. E. A.; ZHANG, Y. Diallyl Disulfide suppresses inflammatory and oxidative machineries

following carrageenan injection-induced paw edema in mice. **Mediators of Inflammation**. v. 2020, 8508906, 2020.

ZHANG, J.; AN, J. Cytokines, inflammation and pain. **International Anesthesiology Clinics**. v. 45, n. 2, p. 27-37, 2007.

ZHANG, P.; LI, F.; WIEGMAN, C. H.; ZHANG, M.; HONG, Y.; GONG, J.; CHANG, Y.; ZHANG, J.; ADCOCK, I.; CHUNG, K. F.; ZHOU, X. Inhibitory effect of hydrogen sulfide on ozone-induced airway inflammation, oxidative stress, and bronchial hyperresponsiveness. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**. v. 52, n. 1, p. 129-137, 2015.

ZHAO, A.; ZOU, D.; WANG, H.; HAN, X.; YANG, P.; HUANG, N. Hydrogen sulphide-releasing aspirin enhances cell capabilities of anti-oxidative lesions and anti-inflammation. **Medical Gas Research**. v. 9, n. 3, p. 145-152, 2019.

ZHAO, H.; PAN, P.; YANG, Y.; GE, H.; CHEN, W.; QU, J.; SHI, J.; CUI, G.; LIU, X.; FENG, H.; CHEN, Y. Endogenous hydrogen sulphide attenuates NLRP3 inflammasome-mediated neuroinflammation by suppressing the P2X7 receptor after intracerebral haemorrhage in rats. **Journal of Neuroinflammation**. v. 14, n. 163, 2017.

ZHAO, S.; SONG, T.; GU, Y.; ZHANG, Y.; CAO, S.; MIAO, Q.; ZHANG, X.; CHEN, H.; GAO, Y.; ZHANG, L.; HAN, Y.; WANG, H.; PU, J.; XIE, L.; JI, Y. Hydrogen sulfide alleviates liver injury through the S-sulfhydrated-Kelch-like ECH-associated protein 1/nuclear erythroid 2-related factor 2/low-density lipoprotein receptor-related protein 1 pathway. **Hepatology**. v. 73, n. 1, p. 282-302, 2021.

ZHAO, W.; ZHANG, J.; LU, Y.; WANG, R. The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous K_{ATP} channel opener. **EMBO Journal**. v. 20, n. 21, p. 6008-6016, 2001.

ZHAO, Y.; BIGGS, T. D.; XIAN, M. Hydrogen sulfide (H₂S) releasing agents: chemistry and biological applications. **Chemical Communications**. v. 50, n. 80, p. 11788-11805, 2014.

ZHENG, Q.; PAN, L.; JI, Y. H₂S protects against diabetes-accelerated atherosclerosis by preventing the activation of NLRP3 inflammasome. **Journal of Biomedical Research**. v. 34, n. 2, p. 94-102, 2020.

ZHENG, Y.; JI, X.; JI, K.; WANG, B. Hydrogen sulfide prodrugs - a review. **Acta Pharmaceutica Sinica B**. v. 5, n. 52, p. 367-377, 2015.

ZHONG, X.; ZHAO, X.; ZHANG, L.; LIU, N.; SHI, S.; WANG, Y. Sodium hydrosulfide inhibiting endothelial cells injury and neutrophils activation via IL-8/CXCR2/ROS/NF- κ B axis in type 1 diabetes mellitus rat. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 606, p. 1-9, 2022.

ZHOU, T.; QIAN, H.; ZHENG, N.; LU, Q.; HAN, Y. GYY4137 ameliorates sepsis-induced cardiomyopathy via NLRP3 pathway. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**. v. 1868, n. 12, 166497, 2022.

ZHOU, X.; CAO, Y.; AO, G.; HU, L.; LIU, H.; WU, J.; WANG, X.; JIN, M.; ZHENG, S.; ZHEN, X.; ALKAYED, N. J.; JIA, J.; CHENG, J. CaMKK β -dependent activation of AMP-activated protein kinase is critical to suppressive effects of hydrogen sulfide on neuroinflammation. **Antioxidants & Redox Signaling**. v. 21, n. 12, p. 1741-1758, 2014a.

ZHOU, X.; FENG, Y.; ZHAN, Z.; CHEN, J. Hydrogen sulfide alleviates diabetic nephropathy in a streptozotocin-induced diabetic rat model. **Journal of Biological Chemistry**. v. 289, n. 42, p. 28827-28834, 2014b.

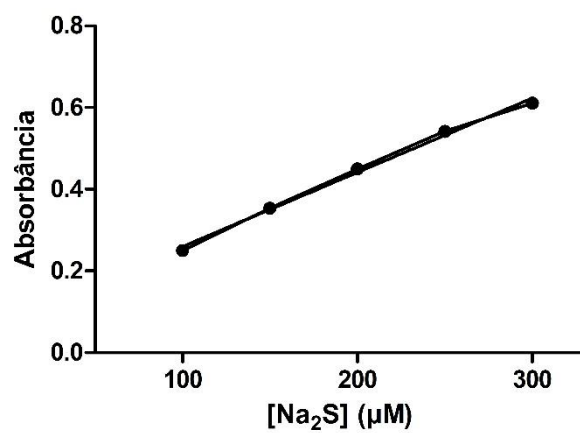
ZHU, X.; GIORDANO, T.; YU, Q. S.; HOLLOWAY, H. W.; PERRY, T. A.; LAHIRI, D. K.; BROSSI, A.; GREIG, N. H. Thiothalidomides: novel isosteric analogues of thalidomide with enhanced TNF- α inhibitory activity. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 46, n. 24, p. 5222-5229, 2003.

ZHUANG, L.; LI, K.; WANG, G.; SHOU, T.; GAO, C.; MAO, Y.; BAO, M.; ZHAO, M. Preconditioning with hydrogen sulfide prevents bone cancer pain in rats through a proliferator-activated receptor gamma/p38/Jun N-terminal kinase pathway. **Experimental Biology and Medicine**. v. 243, n. 1, p. 57-65, 2017.

ZIMMERMANN, K. K.; SPASSOV, S. G.; STROSING, K. M.; IHLE, P. M.; ENGELSTAEDTER, H.; HOETZEL, A.; FALLER, S. Hydrogen sulfide exerts anti-oxidative and anti-inflammatory effects in acute lung injury. **Inflammation**. 2017.

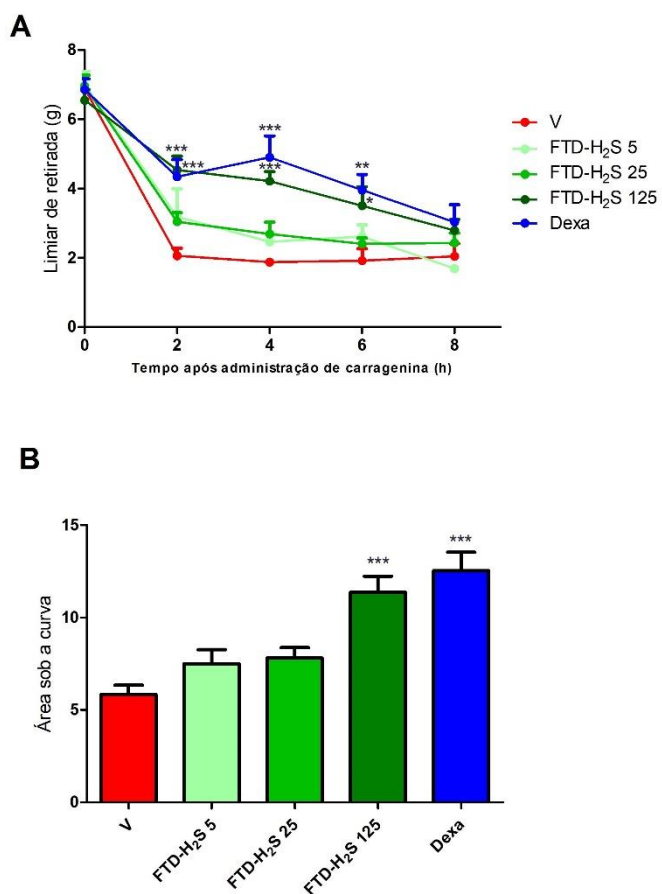
ZIMMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**. v. 16, n. 2, p. 109-110, 1983.

APÊNDICES

APÊNDICE A: Curva-padrão do ensaio de quantificação de H₂S pelo ensaio de azul de metileno

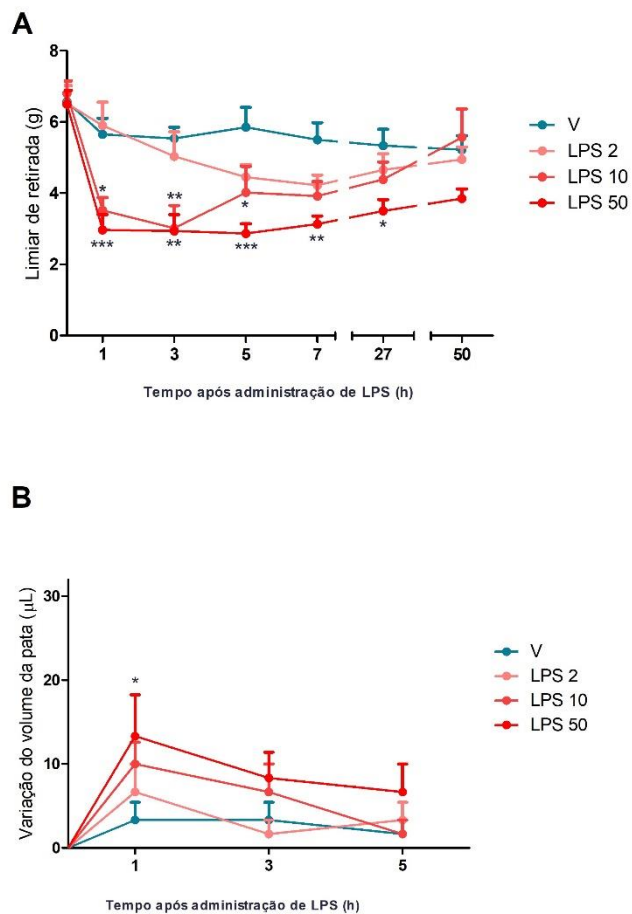
Fonte: elaborado pelo autor.

APÊNDICE B: Avaliação inicial dos efeitos induzidos pelo FTD-H₂S *p.o.* sobre a alodínia mecânica induzida por carragenina



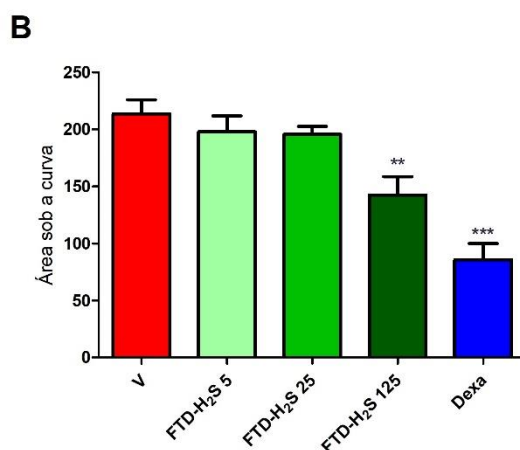
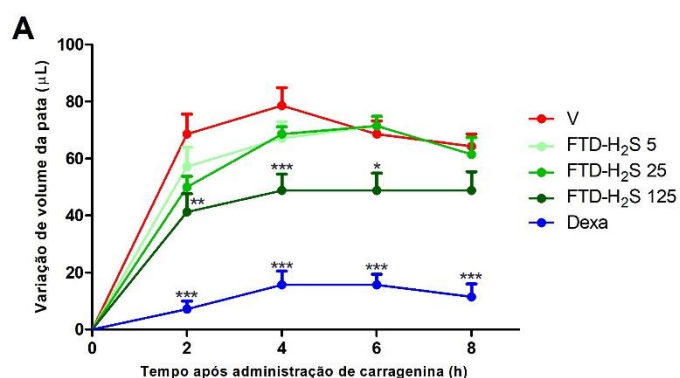
FTD-H₂S: 5, 25 ou 25 mg/kg; *p.o.*; - 1 h. Dexametasona (Dexa): 10 mg/kg; *p.o.*; - 1 h.
 Carragenina: 600 µg, 30 µL, *i.pl.* V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. *, ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle (V) ($p < 0,05$; $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n=6$. Fonte: elaborado pelo autor.

APÊNDICE C – Alodínia mecânica e edema de pata induzidos por LPS



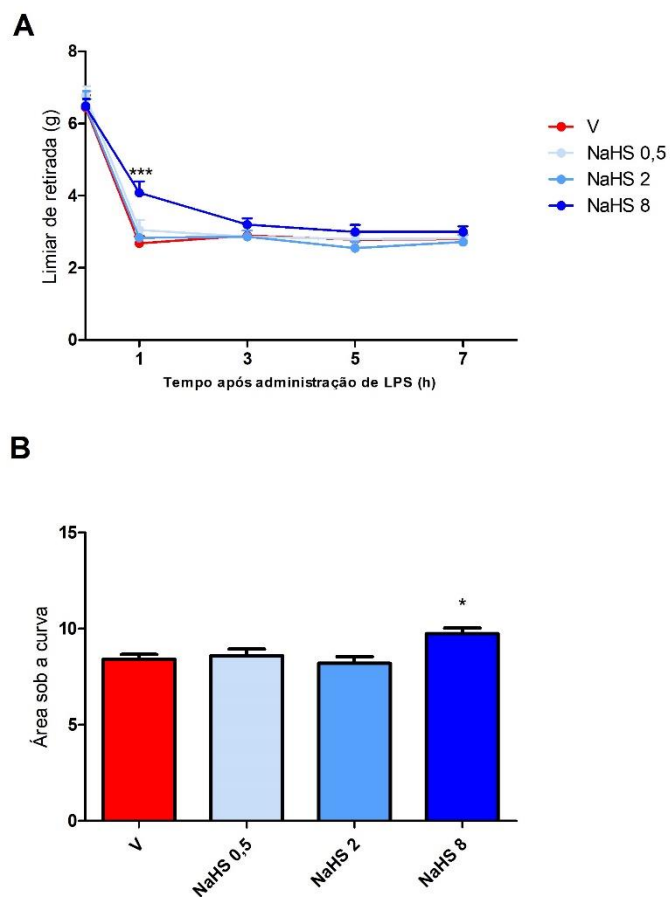
LPS: 2, 10 ou 50 µg; 30 µL, i.pl. (A) limiar para retirada de pata e (B) volume de pata. V = veículo. *, ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle (V) ($p < 0,05$; $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n = 6$. Fonte: elaborado pelo autor.

APÊNDICE D: Avaliação inicial dos efeitos induzidos pelo FTD-H₂S *p.o.* sobre o edema de pata induzido por carragenina



FTD-H₂S: 5, 25 ou 25 mg/kg; *p.o.*; - 1 h. Dexametasona (Dexa): 10 mg/kg; *p.o.*; -1 h.
 Carragenina: 600 µg, 30 µL, i.pl. V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. *, ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle (V) ($p < 0,05$; $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n=6$. Fonte: elaborado pelo autor.

APÊNDICE E: Efeito induzido pelo NaHS sobre a alodínia mecânica induzida por LPS



NaHS: 0,5, 2 ou 8 mg/kg; i.p.; - 1 h. LPS: 50 μ g, 30 μ L, i.pl. V = veículo. (A) Curso temporal e (B) área sob a curva. * e *** indica diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle (V) ($p < 0,05$ e $p < 0,001$). $n = 6$. Fonte: elaborado pelo autor.