



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

JERSON MARQUES CAVALCANTE

**PERFIL FARMACOCINÉTICO DOS METABOLITOS
4- METILAMINOANTIPIRINA (MAA) E 4-AMINOANTIPIRINA (AA) APÓS
ADMINISTRAÇÃO DO METAMIZOL INTRAVENOSO EM OVINOS**

MOSSORÓ

2022

JERSON MARQUES CAVALCANTE

**PERFIL FARMACOCINÉTICO DOS METABOLITOS
4- METILAMINOANTIPIRINA (MAA) E 4-AMINOANTIPIRINA (AA) APÓS
ADMINISTRAÇÃO DO METAMIZOL INTRAVENOSO EM OVINOS**

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Ciência Animal do Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal da
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade animal.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Alves Barrêto
Júnior

Co-Orientador: Talyta Lins Nunes

MOSSORÓ

2022

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

CCava Cavalcante, Jerson.
lcant Perfil farmacocinético dos metabolitos 4-
e metilaminoantipirina (maa) e 4-aminoantipirina
376p (aa) após administração do metamizol intravenoso em
ovinos. / Jerson Cavalcante. - 2022.
39 f. : il.

Orientador: Raimundo Alves Barreto Junior .
Coorientadora: Talyta Lins Nunes .
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Ciência Animal, 2022.

1. Dipirona. 2. Ruminantes. 3. Analgesia. I.
Alves Barreto Junior , Raimundo, orient. II. Lins
Nunes , Talyta, co-orient. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

JERSON MARQUES CAVALCANTE

**PERFIL FARMACOCINÉTICO DOS METABOLITOS
4- METILAMINOANTIPIRINA (MAA) E 4-AMINOANTIPIRINA (AA) APÓS
ADMINISTRAÇÃO DO METAMIZOL INTRAVENOSO EM OVINOS**

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Ciência Animal do Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal da
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade Animal

Defendida em: 15 /09/ 2022.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Raimundo Alves Barreto Junior (UFERSA)
Presidente

Profa. Dra. Valeria Veras de Paula (UFERSA)
Membro Examinador



Profa. Dra. Talyta Lins Nunes (UFERSA)
Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelas bênçãos diárias, assim como, durante minha trajetória no mestrado. Obrigado por mais essa vitória!

Agradeço aos meus pais (Janiere e Nonato), irmãos (Jeicy e Jessé) e todos os meus familiares que torceram por mim. Em especial a minha mãe que sempre me apoiou e com muita garra batalhou para ver seus três filhos formados. Espero sempre ser motivo de orgulho pra você.

Agradeço ao meu ilustre orientador, Raimundo Alves Barrêto Júnior, por desde o segundo semestre da graduação ter me recebido junto a sua equipe. Onde por todo esse tempo tive a oportunidade de engrandecer meu currículo, participar de procedimentos veterinários ímpares e outras incontáveis experiências boas que tive como seu orientado. Muito obrigado, Professor!

Agradeço às Prof^{as} Talyta Lins e Valéria Veras, pela imensa colaboração durante todos esses anos. Vocês foram essências por mais essa conquista. Sou infinitamente grato.

Agradeço aos meus colegas de laboratório Victor Pedrosa, Larissa Alves, Jocelho de Souza, Kathryn Arcoverde, Paulo Ricardo, Ruan Paulino e a todos que fazem parte do LABMIV.

Agradeço aos Profs Moacir Franco e Gabriel A. Silva que muito contribuíram para o êxito da minha dissertação.

Agradeço a todos os professores que compõem o corpo docente da Universidade Federal Rural do Semiárido.

Agradeço A CAPES e CNPq pelo apoio financeiro e concessão de bolsas.

Basta entender que todos nós estamos aqui por uma razão, e basta comprometer-se com ela. Assim podemos rir de nossos grandes ou pequenos sofrimentos e caminhar sem medo, conscientes de que cada passo tem um sentido.

Paulo Coelho

RESUMO

Objetivou-se estabelecer o perfil farmacocinético dos metabólitos 4-metilaminoantipirina (MAA) e 4-aminoantipirina (AA), após administração única do metamizol por via intravenosa em ovinos, usando espectrometria de massa por cromatografia líquida de alta eficiência nas determinações. Para tanto, foram utilizados 10 ovinos machos, saudáveis, adultos, não castrados, pesando em média 35kg. Os animais foram submetidos a administração intravenosa, em dose única, de 25mg/kg de dipirona. As amostras de sangue foram coletadas ao longo de 36 horas, acondicionadas em tubos contendo EDTA foram centrifugadas para obtenção do plasma sanguíneo para posterior determinação dos parâmetros farmacocinéticos. O método foi validado seguindo critério nacionais e internacional. Os parâmetros farmacocinéticos foram calculados usando modelos não compartimentais com o software WinNonlin. O método utilizado foi eficiente e permitiu identificar e quantificar 4-MAA e 4-AA em plasma ovino, após aplicação do fármaco por via intravenosa. Os animais foram capazes de metabolizar e eliminar rapidamente a dipirona. Com base nos dados, a dipirona na dose de 25 mg/kg, mantém concentrações de MAA acima das mínimas eficazes durante 8 horas, supondo-se, portanto, que a medicação deva ser aplicada em intervalos de 8 horas. Estudos adicionais são necessários para avaliar a segurança e eficácia clínica do metamizol em ovinos.

Palavras-chave: Dipirona. Ruminantes. Analgesia.

ABSTRACT

Objective was to establish the pharmacokinetic profile of 4-methylaminoantipyrine (MAA) and 4-aminoantipyrine (AA) metabolites after a single intravenous administration of metamizole in sheep, using high performance liquid chromatography mass spectrometry in determinations. 10 male sheep were used, healthy, adults, not castrated, weighing on average 35kg, coming from private property. The animals were submitted to intravenous administration, in a single dose, of 25mg/kg of dipyrone. After application, blood samples will be collected over 36 hours, placed in tubes containing EDTA and centrifuged to obtain blood plasma for later determination of the pharmacokinetic parameters of metamizole metabolites. The method for identifying the metabolites was validated following national and international criteria. Pharmacokinetic parameters were calculated using non-compartmental models with WinNonlin software. The method was efficient and allowed the identification and quantification of 4-MAA and 4-AA in sheep plasma, after intravenous application of the drug. The animals were able to rapidly metabolize and eliminate dipyrone. Based on the data, dipyrone at a dose of 25 mg/kg maintains MAA concentrations above the minimum effective levels for 8 hours, assuming, therefore, that the medication should be applied at 8-hour intervals. Additional studies are needed to assess the safety and clinical efficacy of metamizole in sheep.

Keywords: Dipyrone. Ruminants. Analgesia.

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Concentração plasmática (log) ao longo do tempo para 4-metilaminoantipirina (4-MAA) em ovino (*Ovis aries*), após administração intravenosa de dipirona na doses de 25 mg/kg..... 33
- Gráfico 2 – Concentração plasmática de Log versus tempo para 4- aminoantipirina (4-AA) em ovino (*Ovis aries*), após administração intravenosa de dipirona na doses de 25 mg/kg.....33

LISTA DE TABELA

Tabela 1	–	Parâmetros farmacocinéticos do 4-MAA (média e erro padrão) em ovinos (<i>Ovis aries</i>) após administração intravenosa de 25 mg/kg de metamizol.....	32
Tabela 2	–	Parâmetros farmacocinéticos do 4-AA (média e erro padrão) em ovinos (<i>Ovis aires</i>) após administração intravenosa de 25 mg/kg de metamizol.....	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	4-aminoantipirina
AAA	4-acetilaminoantipirina
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
ADH	Hormônio antidiurético
ANVISA	Agência nacional de vigilância sanitária
AINE	Anti-inflamatório não esteróidal
AUC $0 \rightarrow \infty$	Área sob a curva do tempo 0 até o infinito
AUC $0 \rightarrow t$	Área sob a curva do tempo 0 até a última avaliação experimental
AUC $0-t/0-\infty$	Relação da área sob a curva do tempo 0 até a última avaliação e a área sob a curva do tempo 0 até o infinito
AUMC $0 \rightarrow \infty$	Área sob a curva média do tempo 0 até o infinito
CEUA	Comissão de ética no uso de animais
Cl	Clearence
CL/F	Depuração aparente
C _{max}	Concentração plasmática máxima
COX	Ciclooxigenase
LD	Dose letal
DIP	Dipirona
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ESI	Ionização por electropulverização positivo
FAA	4-formilaminoantipirina
g	Grama
h	Horas
HPLC	Espectrometria de massa por cromatografia líquida de alta eficiência
ICH	International Conference on Harmonisation
IC	Concentração inibitória média
IV	Intravenoso
Kg	Quilogramas
LABMIV	Laboratório de Medicina Interna Veterinária
L	Litros
LLOQ	Limite inferior de quantificação

MAA	4-metilaminoantipirina
MRM	Monitoramento de reações múltiplas
MRT $0 \rightarrow t$	Tempo médio residual até o momento da última mensuração
MRT $0 \rightarrow \infty$	tempo residual médio do momento 0 até o infinito
MT	Metamizol
ml	Mililitro
mg	Miligrama
μg	Micrograma
μl	Microlitro
OMS	Organização mundial da saúde
PGE2	Prostaglandina E2
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
T $_{1/2}$	Tempo de meia-vida
T $_{\text{max}}$	Tempo para atingir a C $_{\text{max}}$
UFERSA	Universidade Federal Rural do Semi-Árido
UPLC	Cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrômetro de massas
V	Volts
V $_{\text{ss}}$	Volume de distribuição no estado de equilíbrio
V $_{\text{z}}/F$	Volume de distribuição aparente

LISTA DE SÍMBOLOS

λ	Lambda
%	Porcentagem
®	Marca registrada
°C	Graus Centígrados

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo geral	17
2.2	Objetivo específico	17
3	REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1	Dor em ovinos	18
3.2	Metamizol	19
	REFERÊNCIAS	22
4	ARTIGO	28
	ABSTRACT	28
	RESUMO	28
	INTRODUÇÃO	29
	MATERIAS E MÉTODOS	29
	RESULTADOS	31
	DISCUSSÃO	34
	CONCLUSÃO	35
	REFERÊNCIAS	36

1. INTRODUÇÃO

A criação de ovinos é uma das primeiras atividades agrícolas em todo o mundo (CHESSA et al., 2009; FAYE et al., 2012). O rebanho ovino brasileiro no ano de 2020 segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) era de 20,6 milhões de animais, com um aumento de 3,1% em comparação com o ano de 2019.

Os ovinos são utilizados em diversas finalidades, como para a produção de carne, leite, pele e lã. Mas devem ter suas necessidades supridas para que produzam de forma eficiente, proporcionem lucro para seus produtores, tenham uma boa qualidade de vida e se transformem em produtos de qualidade para os consumidores (OIE, 2014).

Esses animais, assim como qualquer outra espécie, estão sujeitos a traumas e lesões que venham a causar dor. Neste contexto, é uma responsabilidade ética primária dos veterinários e produtores de animais, evitar a dor e, quando a dor for inevitável, tentar controlá-la. Apesar dos avanços ligados a implementação de medidas que garantam o bem-estar animal nos sistemas de produção, alguns procedimentos rotineiramente utilizados como marcação de orelhas, castração, corte de cauda (MELLOR et al., 2000; LEE et al., 2007; MCLENNAN et al., 2018.) cursam invariavelmente com dor.

Há deficiência nos estudos que determinam a dose eficaz, os efeitos clínicos e a farmacocinética dos analgésicos na espécie, o que contribui com a instituição de terapias analgésicas ineficientes em ovinos.

O metamizol, também conhecido como dipirona, é um analgésico não opioide, antipirético e antiespasmódico conhecido há quase 100 anos (KLIN et al, 2021). É um inibidor fraco de COX-1 e COX-2 (BOTTING, 2000), mas um forte inibidor de COX-3 (CHANDRASEKHARAN et al., 2002). É uma alternativa para outro antiinflamatório não esteróidal (AINEs) no pós-operatório tratamento da dor em humanos devido ao seu potente efeito analgésico com boa tolerabilidade gástrica (KONIJNENBELT-PETERS et al., 2017). O grau de efeito analgésico coloca o metamizol na primeira etapa da classificação de analgésicos da OMS (HOFFMANN., 2020).

Na veterinária, o metamizol foi aprovado em espécies como suínos, bovinos, equinos, além de ser usado como analgésico no pós-operatório de cães (GUERRERO et al., 2015).

O metamizol é um pró-fármaco, rapidamente hidrolisado após a administração e metabolizado a quatro metabólitos principais, incluindo 4-metilaminoantipirina (MAA), 4-aminoantipirina (AA), 4-formilaminoantipirina (FAA), e 4-acetilaminoantipirina (AAA). A

maioria dos efeitos farmacológicos do metamizol são atribuíveis aos dois primeiros metabólitos, MAA e AA (LEVY et al., 1995). As características farmacocinéticas da dipirona e seus metabólitos foram descritas em equinos (O'BANION et al., 2021), asininos (MACÊDO et al., 2021), bovinos (FUX et al., 2022), suínos (LEVIONNOIS et al., 2017), cães (GIORGI et al., 2018), gatos (LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA et al., 2018), caprinos (KIM et al., 2018), e ovinos (GIORGI et al., 2015).

Apesar do potencial uso da dipirona como analgésico em ovinos, até o momento, somente um trabalho descreveu a farmacocinética do metabólito MAA na espécie, após administração do metamizol. Os autores destacaram a detecção do metabólito por até 8 horas nos animais e um perfil farmacocinético semelhante ao descrito em humanos (GIORGI et al., 2015). Entretanto, dados sobre a farmacocinética do AA não foram descritos na espécie, apesar da importância que este metabólito possui no contexto da analgesia promovida pelo fármaco.

Com base nessas descobertas, foi proposto que os efeitos analgésicos e antipiréticos de metamizol dependem, pelo menos em parte, da inibição de COX e, portanto, na síntese diminuída de PGE2 (WARNER., et al 2002). Porém, sabe-se que não há relação entre o efeito analgésico do metamizol e sua capacidade de inibir as prostaglandinas (BRUNE 1997; CAMPOS., 1999; PIERRE., 2007).

Após a administração do fármaco original, a dipirona é rapidamente hidrolisada em 4-MAA, a molécula principalmente associada à eficácia clínica. Em seguida, o 4-MAA é metabolizado pelo fígado em 4-formilaminoantipirona (4-FAA) e 4-aminoantipirina (4-AA) (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2003; HINZ et al., 2007).

Os metabólitos farmacologicamente ativos do metamizol, MAA e AA, não inibiram a atividade COX *in vitro* como os inibidores clássicos de COX, mas em vez disso redirecionou a síntese de prostaglandinas, descartando a inibição de COX por meio ligação ao seu sítio ativo (HINZ., 2007).

A excreção ocorre cerca de 90% através dos rins na forma de metabólitos AAA (aproximadamente 50%), FAA (aproximadamente 25%), AA (aproximadamente 15%) e MAA (aproximadamente 10%) (KRAMER., 1978; VLAHOV., et al 1990; VOLZ., et al 1980; ZYLBER-KATZ., et al 1992).

Metamizol é oferecido como uma alternativa adequada do ponto de vista da eficiência (GAERTNER., 2017), mas a sua utilização é limitada para tratamentos curtos devido à sua toxicidade.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estabelecer o perfil farmacocinético dos dois metabólitos ativos 4-metilaminoantipirina (MAA) e 4-aminoantipirina (AA) do metamizol, após administração de 25 mg/kg por via intravenosa em ovinos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Validar metodologia analítica para determinação dos metabolitos ativos do metamizol: 4-Metilaminaantipirina (MAA) e o 4-aminoantipirina (AA), em plasma sanguíneo ovino;

Determinar o perfil farmacocinético dos metabólitos ativos do metamizol após administração do analgésico por via intravenosa na dose de 25 mg.kg⁻¹ em ovinos;

Verificar, durante 36 horas, a ocorrência de efeitos adversos após aplicação intravenosa de metamizol em ovinos.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Dor em ovinos

A dor é definida como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada ou semelhante a uma lesão tecidual real ou potencial (RAJA et al., 2020.). A dor não tratada aumenta a secreção de catecolaminas, como noradrenalina, corticoides, glucagon, hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e hormônio antidiurético (ADH), e diminui a secreção de insulina e testosterona em muitas espécies (HENKE et al., 2001; CARSTENS et al., 2000), além de poder afetar o sistema imunológico (PAGE, 2003).

Algumas situações clínicas e certas práticas de manejo podem levar os ovinos a apresentarem quadros de dor, são elas: claudicação, castração, corte da cauda, mastite, assim como a utilização desses animais na área da pesquisa biomédica, que pode envolver procedimentos cirúrgicos importantes (LIZARRAGA et al., 2012).

A doença podal em ovinos é frequente e constitui um problema de saúde para os rebanhos, mesmo em fazendas que possuem estratégias de prevenção (QUEIROZ et al., 2022). A ocorrência de doença de casco foi de 23,3% (140/600) (CARVALHO et al., 2018). Essas lesões podais são responsáveis por grandes perdas econômicas, pois a dor durante a locomoção interfere na alimentação e no comportamento, levando à perda de produtividade (QUEIROZ et al., 2022).

A castração de ovinos é realizada rotineiramente para controlar a reprodução indesejada em rebanhos extensivamente manejados, bem como para melhorar o manejo. (HARRIS et al., 2021). A caudectomia é uma prática usada pelos criadores de ovinos, pois caudas longas e lanosas, facilitam o acúmulo de fezes, vindo a atrair moscas, e por consequência poderá facilitar a ocorrência de infestação de larvas (SCHOENIAN, 2012), outra característica do uso da caudectomia pela facilidade do macho na hora da monta. Embora ela apresente esses benefícios apresentados acima, é um procedimento ocasiona dor aguda e podendo levar ao estresse crônico (DWYER, 2008).

Ovinos são amplamente utilizados como modelos na área biomédica para pesquisas em função do seu tamanho, que facilita e simplifica a cirurgia, são animais fáceis de manusear, e são fisiologicamente semelhantes aos humanos (SCHEERLINCK, 2008).

De maneira geral, a dor causada pelos processos clínicos ou procedimentos de manejo, altera os padrões de comportamento. Entretanto, convém considerar que as espécies animais

diferem significativamente em suas reações frente ao dano tecidual: algumas exibem sinais claros (por exemplo, porcos), enquanto outros (por exemplo, ovelhas) demonstram pouco, ou nenhum, comportamento evidente MOLONY et al., 1997, mesmo após procedimentos cirúrgicos que cursam com dor (PREMKUMAR et al., 2010). Particularmente em ovinos, devido ao seu comportamento estoicos, a avaliação das alterações comportamentais frente a dor, pode ser ainda mais desafiadora (SANDERCOCK et al., 2019; KENT et al., 1999). Apesar do emprego dos analgésicos nessas situações ser indispensável, muitas vezes os ovinos não recebem terapia adequada. Isto decorre de fatores como a observação de somente sinais comportamentais sutis frente ao estímulo doloroso, fazendo com que erroneamente acredita-se que eles sentem menos dor do que outros mamíferos (RAEKALLIO et al., 2003); que as restrições financeiras não permitir o uso de analgésicos nessas espécies (ANIL et al., 2005; HEWSON et al., 2007), falta de analgésicos licenciados para uso em ovelhas, risco de resíduos de medicamentos nos tecidos ou leite, além de dados científicos limitados avaliando as respostas à dor antes e após o tratamento (SCOTT et al., 2005; LIZARRAGA et al., 2012).

Um outro fator a ser considerado no contexto das falhas nos protocolos de analgesia é a realização rotineira na Medicina Veterinária de extrapolações empíricas de protocolos, doses e fármacos. Este fato resulta em falhas importantes na terapêutica, ao não considerar as particularidades de cada espécie, contribuindo para a possibilidade de utilizar subdose ou dose excessiva naquele animal (FREITAS E CARREGARO, 2013).

3.2 Metamizol

O metamizol (MT), também chamado de dipirona, é um analgésico não opioide, antipirético e antiespasmódico descoberto há 100 anos na Alemanha por Hoechst. É um pó cristalino branco ou quase branco, muito solúvel em água e solúvel em álcool. Em meio aquoso, sofre hidrólise espontânea a numerosos produtos (VLAHOV et al., 1990; LEVY et al., 1995).

Seu nome químico é sódio N- (2,3-dimetil-5-oxo-1-fenil-3-pirazolin-4-il) -N-metilaminometanossulfonato; mol. C. 334,38; fórmula molecular: C₁₃H₁₆N₃NaO₄S.Na. (NIKOLOVA et al., 2012). Rapidamente teve seu uso difundido, entretanto, cerca de 40 anos após sua descoberta, foi retirado do mercado devido a alterações hematológicas importantes observadas após uso em humanos, em países como a Austrália, Canadá, Estados Unidos e Suécia (ANDRADE et al., 2016; LEONE et al., 2005).

Apesar disto, o metamizol ainda está disponível em muitos países em todo o mundo por prescrição (Bélgica, Alemanha, Itália, Portugal, Espanha e Suíça) ou de balcão (Brasil, China, Israel, México, Polônia, Turquia e Rússia) (WITHDRAWN, 2015; NIKOLOVA et al., 2013).

Metamizol exerce seus efeitos analgésicos através de diversos mecanismos de ação, dentre os quais os melhores descritos são inibição de COX, ativação retardada de a via do canal L-arginina/NO/cGMP/K⁺ na periferia e na medula espinhal, ativação do sistema inibitório descendente de controle da dor, interação com o sistema glutamatérgico, e liberação de peptídeos opioides (BURIAN et al., 2005; DOGRUL et al., 2007).

Os metabólitos farmacologicamente ativos da dipirona, 4-metilaminoantipirina (MAA), 4-aminoantipirina (AA), não inibiram a atividade da COX em in vitro como inibidores clássicos da COX, mas em vez disso redirecionou a síntese de prostaglandinas, descartando a inibição da COX através ligando-se ao seu sítio ativo (HINZ et al., 2007). Existe a suposição de que metamizol pode ser um inibidor da isoenzima COX-3, reduzindo assim a síntese de prostaglandinas no corno dorsal da medula espinhal (LEVY et al., 1984).

Metamizol é um pró-fármaco rápido clivado não enzimaticamente (hidrolisado) para o metabólito ativo 4-N-metilaminoantipirina (MAA), que ainda sofre conversão enzimática pelo sistema do citocromo P450 no fígado (e hipoteticamente por mieloperoxidases em granulócitos e seus precursores) (BACHMANN et al., 2018).

O produto primário da hidrólise, MAA, é metabolizado, possivelmente no fígado, por desmetilação para AA e diretamente ou via AA para FAA. O citocromo específico P450 isoenzimas envolvidas neste metabolismo não ainda identificado. A acetilação de AA a AAA demonstrou ser resultado da atividade da N-acetil-transferase polimórfica hepática system (LEVY et al., 1984).

É válido considerar que o efeito analgésico do metamizol se correlaciona com a concentração de MAA e AA, que diferem em relação a seu tempo de ação (MAA > AA) e meia-vida terminal (MAA: 2,2–3–7 h, AA: 5–8 h). MAA é cerca de 50 vezes mais ativo do que metamizol como um inibidor de COX, enquanto AA é menos ativo do que metamizol. Foi observado que ambos os metabólitos contribuem para as características clinicamente relevantes de início de efeito rápido e demorado, permitindo intervalos de dosagem de 6 a 8 horas. A meia-vida de MAA, no entanto, é dose-dependente (MAIER., 1999).

As principais vias de excreção do metamizol são rins. Até 90% da dose administrada ocorre na urina na forma dos metabólitos mencionados, respectivamente seus conjugados de

glucuronídeo, aproximadamente nesta porcentagem: 50% excluídos como AAA, 25% como FAA, 15% como AA e 8-10% como MAA. MAA é o primeiro metabólito a ser excretado na urina (ZYLBER-KATZ et al., 1985; ZYLBER-KATZ et al., 1992). Na literatura, os efeitos colaterais e / ou eventos adversos associados à dipirona são principalmente os distúrbios do sangue, incluindo choque e agranulocitose, leucopenia e trombocitopenia. (MERIDA RODRIGO et al., 2009; HEDENMALM E SPIGSET, 2002; GARCIA-MARTINEZ et al., 2003).

Além das alterações no sistema cardiovascular (hipotensão e arritmia), respiratório (broncoespasmo, especialmente em pacientes asmáticos), e a pele (erupção maculopapular), entre outros. (ARIZA et al., 2016; KOTTER et al., 2015).

Apesar disto, os relatórios veterinários de farmacovigilância indicam que a incidência de reações adversas nas espécies-alvo é insignificante (COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, 2003).

O eficaz efeito analgésico do metamizol pode ser usado em uma variedade de condições de dor, incluindo também na terapia aguda da dor pós-operatória. Além disso, o metamizol tem um bom efeito antipirético, independentemente da causa da febre (MILJKOVIC et al., 2018; ACHILLES et al., 2017; BLASER et al., 2017; PRADO et al., 2016). Em contraste com outros AINEs, o metamizol também tem um efeito espasmolítico (BELLEGRANDI et al., 1999).

Em medicina veterinária, MET é um AINE frequentemente utilizado na rotina. Em cães, a dipirona promove analgesia pós-cirúrgica para dor leve a moderada, mas quando utilizada em associação, seu efeito pode ser ainda mais significativo (GIORGI et al., 2018).

As características farmacocinéticas do analgésico e seus metabólitos foram descritas em várias espécies incluindo equinos (O'BANION et al., 2021), asininos (MACÊDO et al., 2021), bovinos (FUX et al., 2022), suínos (LEVIONNOIS et al., 2017), cães (GIORGI et al., 2018), gatos (LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA et al., 2018), caprinos (KIM et al., 2018) e ovinos (GIORGI et al., 2015).

Somente um trabalho descreveu a farmacocinética do MAA em ovinos, após administração da dipirona intravenosa e intramuscular na dose de 20mg/kg. O metabólito foi detectado por até 8 horas nos animais e um perfil farmacocinético semelhante ao descrito em humanos (GIORGI et al., 2015). Entretanto, dados sobre a farmacocinética do AA não foram descritos na espécie, apesar da importância que este metabólito possui no contexto da analgesia promovida pelo fármaco.

REFERÊNCIAS

- ACHILLES A, MOHRING A, DANNENBERG L, et al. Analgesic medication with dipyron in patients with coronary artery disease: Relation to MACCE. *Int J Cardiol.* 2017;236:76-81.
- ANDRADE S, BARTELS DB, LANGE R, SANDFORD L, GURWITZ J. Safety of metamizole: a systematic review of the literature. *J Clin Pharm Ther.* 2016;41(5):459–77.
- ANIL, L.; ANIL, S.S.; DEEN, J. Pain Detection and Amelioration in Animals on the Farm: Issues and Options. *J. Appl. Anim. Welf. Sci.* 2005, 8, 261–278.
- ARIZA A, GARCIA-MARTIN E, SALAS M, et al. Pyrazolones metabolites are relevant for identifying selective anaphylaxis to metamizole. *Sci Rep.* 2016;6:23845.
- BACHMANN F, DUTHALER U, RUDIN D, KRÄHENBÜHL S, HASCHKE M. N-demethylation of N-methyl-4-aminoantipyrine, the main metabolite of metamizole. *Eur J Pharm Sci.* 2018; 120: 172–180.
- BELLEGRANDI S, ROSSO R, MATTIACCI G, et al. Combined immediate- and delayed-type hypersensitivity to metamizole. *Allergy.* 1999;54(1):88-90.
- BLASER L, HASSNA H, HOFMANN S, et al. Leucopenia associated with metamizole: a case-control study. *Swiss Med Wkly.* 2017;147:w14438.
- BOTTING, R.M. Mechanism of action of acetaminophen: is there a cyclooxygenase 3? *Clinical Infectious Diseases*, v. 31, p. S202–S210, 2000.
- BRUNE K. (1997) *Acute Pain.*, 1, 33-40.
- BURIAN M, GEISLINGER G. COX-dependent mechanisms involved in the antinociceptive action of NSAIDs at central and peripheral sites. *Pharmacol Ther* 2005; 107: 139-154.
- CAMPOS C., de Gregorio R., Garcia-Nieto R., Gago F., Ortiz P., Alemany S. (1999) *Eur. J. Pharmacol.*, 378, 339-347.
- CARSTENS, E e. & Moberg, G.P. Recognizing pain and distress in laboratory animals. *ILAR J.* 41, 62–71 (2000).
- CARVALHO V.S. et al., 2018 *Pesq. Vet. Bras.* 38(7):1250-1258, julho 2018 DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-5504.
- CHANDRASEKHARAN, N.V.; DAI, H.; ROOS, K.L.; EVANSON, N.K.; TOMSIK, J.; ELTON, T.S.; SIMMONS, D.L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 99, p. 13926–13931, 2002.

CHESSA, B.; PEREIRA, F.; ARNAUD, F.; AMORIM, A.; GOYACHE, F.; MAINLAND, I.; KAO, R.R.; PEMBERTON, J.M.; BERALDI, D.; STEAR, M.J. Revealing the History of Sheep Domestication Using Retrovirus Integrations. *Science*, v. 324, p. 532–536, 2009.

DOGRUL A, GÜLMEZ SE, DEVECI MS, GUL H, OSSIPOV MH, PORRECA F, TULUNAY FC. The Local Antinociceptive Actions of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs in the Mouse Radiant Heat Tail-Flick Test. *Anesth Analg* 2007; 104: 927-935

DWYER, C. The welfare of sheep. Reino Unido: Springer, 2008.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. (2003). Committee for veterinary medicinal products summary report metamizole. European Medicines Agency.

FAYE, B.; KONUSPAYEVA, G. The sustainability challenge to the dairy sector-The growing importance of non-cattle milk production worldwide. *International Dairy Journal*, v. 24, p. 50–56, 2012.

FITZPATRICK, J.; SCOTT, M.; NOLAN, A. Assessment of pain and welfare in sheep. *Small Ruminant Research*, v. 62, p. 55–61, 2006.

FREITAS, G. C.; CARREGARO, A. B.. Aplicabilidade da extrapolação alométrica em protocolos terapêuticos para animais selvagens. *Ciência Rural*, v. 43, n. 2, p. 297-304, 2013.

FUX, D.; METZNER, M.; BRANDL, J.; FEIST, M.; BEHRENDT-WIPPERMANN, M.; VON THADEN, A.; BAUMGARTNER, C. Pharmacokinetics of metamizole (dipyrone) as an add-on in calves undergoing umbilical surgery, *PLOS ONE*, v. 17, n. 3, p. e0265305, 2022.

GAERTNER J, Stamer UM, Remi C et al. Metamizole/dipyrone for the relief of cancer pain: A systematic review and evidence-based recommendations for clinical practice. *Palliat Med*. 2017; 31(1): 26–34.

GARCIA-MARTINEZ, J.M., FRESNO VARA, J.A., LASTRES, P., BERNABEU, C., BETES, P.O. & MARTIN-PEREZ, J. (2003) Effect of metamizol on promyelocytic and terminally differentiated granulocytic cells. Comparative analysis with acetylsalicylic acid and diclofenac. *Biochemical Pharmacology*, 65, 209–217.

GIORGI, M.; DE VITO, V.; LEE, H.K.; LAUS, F.; KOWALSKI, C.; FAILLACE, V.; BURMANCZUK, A.; VULLO, C. Pharmacokinetic investigations of the marker active metabolite-4-methylamino-antipyrin after intravenous and intramuscular injection of metamizole in healthy sheep. *Small Ruminant Research*, v. 132, p. 143–146, 2015.

GIORGI, M.; ŁEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA, B.; LISOWSKI, A.; OWEN, H.; POAPOLATHEP, A.; KIM, T.W.; DE VITO, V. Pharmacokinetic profiles of the active metamizole metabolites after four different routes of administration in healthy dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 41, p. 428–436, 2018.

GUERRERO, K.K.; SCHWARZ, A.; WUHRMANN, R.; FELDMANN, S.; HARTNACK, S.; BETTSCHART-WOLFENSBERGER, R. Comparison of a new metamizole formulation

and carprofen for extended post-operative analgesia in dogs undergoing ovariohysterectomy. *The Veterinary Journal*, v. 204, p. 99–104, 2015.

HARRIS, C.; WHITE, P.J.; HALL, E.; VAN DER SAAG, D.; LOMAX, S. Evaluation of Electroencephalography, Behaviour and Eye Temperature in Response to Surgical Castration in Sheep. *Animals* 2021, 11, 637.

HEDENMALM, K. & SPIGSET, O. (2002) Agranulocytosis and other blood dyscrasias associated with dipyrrone (metamizole). *European Journal of Clinical Pharmacology*, 58, 265–274.

HENKE, J. & E ERHARDT, W. Schmerzmanagement beim Klein- und Heimtier (ENKE, Stuttgart, 2001).

HEWSON, C.J.; DOHOO, I.R.; LEMKE, K.A.; BARKEMA, H.W. Canadian veterinarians' use of analgesics in cattle, pigs, and horses in 2004 and 2005. *Can. Vet. J. Rev. Vet. Can.* 2007, 48, 155–164.

HINZ, B., CHEREMINA, O., BACHMAKOV, J., RENNER, B., ZOLK, O., FROMM, M. F., & BRUNE, K. (2007). Dipyrrone elicits substantial inhibition of peripheral cyclooxygenases in humans: new insights into the pharmacology of an old analgesic. *The FASEB Journal*, 21(10), 2343–2351.

HOFFMANN F, Bantel C, von Rosen FT, Jobski K. Regional Differences in Prescribing Patterns of Metamizole in Germany Based on Data from 70 Million Persons. *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 17(11): 3892. Published 2020 May 30.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção agropecuária, rebanho de ovinos, 2020. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/ovino/br> . Acesso em 05/05/2022.

KENT, J.E.; MOLONY, V.; JACKSON, R.E.; HOSIE, B.D. Chronic inflammatory responses of lambs to rubber ring castration: Are there any effects of age or size of lamb at treatment? *BSAP Occas. Publ.* 1999, 23, 160–162.

KIM, T.W.; ŁEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA, B.; SITOVS, A.; POAPOLATHEP, A.; OWEN, H.; LISOWSKI, A.; ABILOVA, Z.; GIORGI, M. Pharmacokinetic profiles of metamizole (dipyrrone) active metabolites in goats and its residues in milk. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 41, n. 5, p. 699–705, 2018.

KONIJNENBELT-PETERS, J.; HEIJDEN, C.; EKHART, C.; BOS, J.; BRUHN, J.; KRAMERS, C. Metamizole (Dipyrrone) as an alternative agente in postoperative analgesia in patients with contraindications for nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Pain Practice*, v. 17, p. 402–408, 2017.

KOTTER T, DA COSTA BR, FASSLER M, et al. Metamizole-associated adverse events: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2015;10(4):e0122918.

KRAMER M. (1978) MBI., 6, 14-15.

LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA, B., KIM, T. W., CHEA, B., OWEN, H., POAPOLATHEP, A., & GIORGI, M. (2018). Pharmacokinetic profiles of the two major active metabolites of metamizole (dipyrone) in cats following three different routes of administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 41(2), 334–339.

LEE, C.; FISHER, A.D. Welfare consequences of mulesing of sheep. *Australian Veterinary Journal*, v. 85, p. 89–93, 2007.

LEONE R, Conforti A, Venegoni M, Motola D, Moretti U, Meneghelli I, et al. Drug-induced anaphylaxis: case/non-case study based on an Italian pharmacovigilance database. *Drug Saf.* 2005;28(6):547–56.

LEVIONNOIS, O.L.; FOSSE, T.K.; RANHEIM, B. PK/PD modeling of flunixin meglumine in a kaolin-induced inflammation model in piglets, *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 41, n. 2, p. 314-323, 2017.

LEVY M. FLUSSER O, ZYLBER-KATZ E, et al. Plasma kinetics of dipyrone metabolites in rapid and slow acetylators. *Eur J Clin Pharmacol* 1984; 27: 453-8

LEVY, M., ZYLBER-KATZ, E., & ROSENKRANZ, B. (1995). Clinical pharmacokinetics of dipyrone and its metabolites. *Clinical Pharmacokinetics*, 28(3), 216–234.

LIZARRAGA, I.; CHAMBERS, J.P. Use of analgesic drugs for pain management in sheep. *N.Z. Vet. J.* 2012, 60, 87–94.

MACÊDO, L.B.; MOUTA, A.N.; ARAÚJO-SILVA, G.; URIZAR, J.T.P.; PAULA, V.V. Pharmacokinetic properties of metamizole active metabolites in Northeastern Brazilian donkeys (*Equus asinus*), *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 44, n. 5, p. 842-849, 2021.

MAIER C. (1999) *Acute Pain*, 2, 165-166

MCLENNAN, K.M. Why Pain Is Still a Welfare Issue for Farm Animals, and How Facial Expression Could Be the Answer. *Agriculture*, v. 8, p. 127, 2018.

MELLOR, D.J.; STAFFORD, K. J. Acute castration and/or tailing distress and its alleviation in lambs. *New Zealand Veterinary Journal*, v. 48, p. 33–43, 2000.

MERIDA RODRIGO L., FAUS FELIPE V., POVEDA GOMEZ F., GARCIA ALEGRIA J. (2009) *Rev. Clin. espan.*, 209, 176-179.

MILJKOVIC M, Dragojevic-Simic V, Rancic N, et al. Metamizole utilization and expenditure during 6-year period: Serbia vs. Croatia. *Front Public Health*. 2018;6:213.

MOLONY, V.; KENT, J.E. Assessment of acute pain in farm animals using behavioral and physiological measurements. *J. Anim. Sci.* 1997, 75, 266–272.

NIKOLOVA, I et al. Metamizole: a review profile of a well-known “forgotten” drug. part I: pharmaceutical and nonclinical profile. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, v. 26, n. 6, p. 3329-3337, 2012.

NIKOLOVA, I Petkova V, Tencheva J, Benbasat N, Voinikov J, Danchev N. Metamizole: a review profile of a well-known “forgotten” drug. Part II: Clinical profile. *Biotechnol Biotechnol Eq*. 2013;27(2):3605-3619.

O'BANION, M.P.; SUNDMAN, E.; EDMONDS, M.; DAVIS, J. Pharmacokinetics of dipyrone in horses: A multi-dose, dose escalation study, *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 44, n. 6, p. 919-926, 2021.

OIE. 2014. World Organization for Animal Health. World Health Organization. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/boletins/sut.ct.ppm2019.22out2020.vf.pdf> Acesso em 05/05/2022.

PAGE, G.G. The immune-suppressive effects of pain. *Adv. Exp. Med. Biol.* 521, 117–125 (2003).

PIERRE S.C., Schmidt R., Brenneis C., Michaelis M., Geisslinger G., Scholich K. (2007) *Br. J. Pharmacol.*, 151, 494-503.

PRADO MA, FRANCISCO PM, BASTOS TF, BARROS MB. Use of prescription drugs and self-medication among men. *Rev Bras Epidemiol*. 2016;19(3):594-608.

PREMKUMAR, L.S. Targeting TRPV1 as an Alternative Approach to Narcotic Analgesics to Treat Chronic Pain Conditions. *AAPS J*. 2010, 12, 361–370.

QUEIROZ A.T.Z. et al. 2022 *Pesq. Vet. Bras.* 42:e07012, 2022 DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-7012 Characterization and frequency of foot injuries and foot-related lameness in a sheep herd with prophylactic measures for foot-related diseases

RAEKALLIO, M.; HEINONEN, K.; KUUSSAARI, J.; VAINIO, O. Pain Alleviation in Animals: Attitudes and Practices of Finnish Veterinarians. *Vet. J.* 2003, 165, 131–135.

RAJA, S.N.; CARR, D.B.; COHEN, M.; FINNERUP, N.B.; FLOR, H.; GIBSON, S. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: Concepts, challenges, and compromises. *Pain* 2020, 161, 1976–1982.

SANDERCOCK, D.A.; BARNETT, M.W.; COE, J.E.; DOWNING, A.C.; NIRMAL, A.J.; DIGIMINIANI, P.; EDWARDS, S.A.; FREEMAN, T.C. Transcriptomics Analysis of Porcine Caudal Dorsal Root Ganglia in Tail Amputated Pigs Shows Long-Term Effects on Many Pain-Associated Genes. *Front. Vet. Sci.* 2019, 6, 314.

SCHEERLINCK JPY, SNIBSON KJ, BOWLES VM, SUTTON P. 2008. Biomedical applications of sheep models: from asthma to vaccines. *Trends Biotechnol* 26:259–266.

SCHOENIAN, S. The welfare of docking and castrating lambs. 2012. Disponível em: <<http://www.sheepandgoat.com/articles/welfaredockcast.html>>. Acesso em: 08 de abr. 2021.

SCOTT, P.R. The management and welfare of some common ovine obstetrical problems in the United Kingdom. *Vet. J.* 2005, 170, 33–40.

VLAHOV, V., BADIAN, M., VERHO, M., & BACRACHEVA, N. (1990). Pharmacokinetics of metamizol metabolites in healthy subjects after a single oral dose of metamizol sodium. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 38(1), 61–65.

VOLZ M., Kellner H.M. (1980) *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 10(Suppl. 2), 299S-308S.

WARNER T.D., Mitchell J.A., Vane J.R. (2002) *Lancet*, 360, 1700-1701.

WITHDRAWN: a resource for withdrawn and discontinued drugs. Metamizole—legal status. <http://cheminfo.charite.de/withdrawn/metamizole.html>. Published September 2015. Accessed April 15, 2021.

ZYLBER-KATZ E., GRANIT L., LEVY M. (1992) *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 42, 187-191.

4. ARTIGO - PERFIL FARMACOCINÉTICO DOS METABÓLITOS DO METAMIZOL EM OVINOS

Pharmacokinetic profile of metamizole metabolites in sheep

(Submetido a Revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia)

ABSTRACT.- Objective was to establish the pharmacokinetic profile of 4-methylaminoantipyrine (MAA) and 4-aminoantipyrine (AA) metabolites after a single intravenous administration of metamizole in sheep, using high performance liquid chromatography mass spectrometry in determinations. 10 male sheep were used, healthy, adults, not castrated, weighing on average $34,6 \pm 7,5$ kg, coming from private property. The animals were submitted to intravenous administration, in a single dose, of 25mg/kg of dipyrone. After application, blood samples will be collected over 36 hours, placed in tubes containing EDTA and centrifuged to obtain blood plasma for later determination of the pharmacokinetic parameters of metamizole metabolites. The method for identifying the metabolites was validated following national and international criteria. Pharmacokinetic parameters were calculated using non-compartmental models with WinNonlin software. The method was efficient and allowed the identification and quantification of MAA and AA in sheep plasma, after intravenous application of the drug. The animals were able to rapidly metabolize and eliminate dipyrone. Based on the data, dipyrone at a dose of 25 mg/kg maintains MAA concentrations above the minimum effective levels for 8 hours, assuming, therefore, that the medication should be applied at 8-hour intervals. Additional studies are needed to assess the safety and clinical efficacy of metamizole in sheep.

INDEX TERMS: Dipyrone. Ruminants. Analgesia.

RESUMO- Objetivou-se estabelecer o perfil farmacocinético dos metabólitos 4-metilaminoantipirina (MAA) e 4-aminoantipirina (AA), após administração única do metamizol por via intravenosa em ovinos, usando espectrometria de massa por cromatografia líquida de alta eficiência nas determinações. Para tanto, foram utilizados 10 ovinos machos, saudáveis, adultos, não castrados, pesando em média $34,6 \pm 7,5$ kg. Os animais foram submetidos a administração intravenosa, em dose única, de 25mg/kg de dipirona. As amostras de sangue foram coletadas ao longo de 36 horas, acondicionadas em tubos contendo EDTA foram centrifugadas para obtenção do plasma sanguíneo e posterior determinação dos parâmetros farmacocinéticos. O método foi validado seguindo critérios nacionais e internacionais. Os parâmetros farmacocinéticos foram calculados usando modelos não compartimentais com o software WinNonlin. O método utilizado foi eficiente e permitiu identificar e quantificar MAA e AA em plasma ovino, após aplicação do fármaco por via intravenosa. Os animais foram capazes de metabolizar e eliminar rapidamente a dipirona. Com base nos dados, a dipirona na dose de 25 mg/kg, mantém concentrações de MAA acima das mínimas eficazes durante 8 horas, supondo-se, portanto, que a medicação deva ser aplicada em intervalos de 8 horas. Estudos adicionais são necessários para avaliar a segurança e eficácia clínica do metamizol em ovinos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Dipirona. Ruminantes. Analgesia. MAA. AA.

INTRODUÇÃO

Os ovinos são utilizados em diversas finalidades, como para a produção de carne, leite, pele e lã. Assim como qualquer espécie devem ter suas necessidades supridas para que produzam de forma eficiente, gerem lucro e tenham uma boa qualidade de vida (OIE, 2014).

Apesar dos avanços ligados a implementação de medidas que garantam o bem-estar animal nos sistemas de produção, alguns procedimentos rotineiramente utilizados como marcação de orelhas, castração, corte de cauda (MELLOR et al., 2000; LEE et al., 2007; MCLENNAN et al., 2018.) cursam invariavelmente com dor. Além destes, convém destacar situações imprevisíveis, mas que são de ocorrência comum na rotina do atendimento clínico como os problemas de casco, mastite ou trauma de diversas origens, que necessitam de intervenção imediata e instituição de terapia antiálgica (FITZPATRICK et al., 2006). Apesar da necessidade há deficiência nos estudos que determinam a dose eficaz, os efeitos clínicos e a farmacocinética dos analgésicos na espécie, o que contribui com a instituição de terapias analgésicas ineficientes em ovinos.

O metamizol, também conhecido como dipirona, é um analgésico não opioide, antipirético e antiespasmódico conhecido há quase 100 anos (KLIN F, 2021). É um inibidor fraco de COX-1 e COX-2 (BOTTING, 2000), mas um forte inibidor de COX-3 (CHANDRASEKHARAN et al., 2002). O metamizol foi aprovado em espécies como suínos, bovinos, equinos, além de ser usado como analgésico no pós-operatório de cães (GUERRERO et al., 2015). Esse fármaco é rapidamente hidrolisado após a administração e metabolizado a quatro metabólitos principais, incluindo 4-metilaminoantipirina (MAA), 4-aminoantipirina (AA), 4-formilaminoantipirina (FAA), e 4-acetilaminoantipirina (AAA). A maioria dos efeitos farmacológicos do metamizol são atribuíveis aos dois primeiros metabólitos, MAA e AA (LEVY M et al., 1995).

Apesar do potencial uso da dipirona como analgésico em ovinos, até o momento, somente um trabalho descreveu a farmacocinética do metabólito MAA na espécie, após administração do metamizol. Entretanto, dados da farmacocinética do AA não foram descritos nesse trabalho. Considerando todos estes aspectos, objetiva-se estabelecer o perfil farmacocinético dos metabólitos 4-metilaminoantipirina (MAA) e 4-aminoantipirina (AA), após administração única do metamizol por via intravenosa em ovinos, usando espectrometria de massa por cromatografia líquida de ultra eficiência nas determinações (LC-MS/MS).

MATERIAIS E MÉTODO

O estudo foi realizado no Laboratório de Medicina Interna Veterinária (LABMIV) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). As condições desse estudo foram submetidas e aprovadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) com o parecer 29/2022. Para tanto, foram utilizados 10 ovinos (*Ovis aries*) machos, adultos não castrados, e pesando em média $34,6 \pm 7,5$ kg, oriundos de propriedade privada. Todos os ovinos usados no experimento eram considerados saudáveis, confirmado por meio de exame físico, hemograma, e análise bioquímica sérica. Os animais foram desverminados e vacinados.

Para permitir tanto a administração intravenosa dos fármacos quanto a coleta de sangue, foi fixado um cateter de calibre 16G na veia jugular.

Após a coleta de sangue controle, os ovinos foram submetidos a administração única de dipirona 25mg.kg^{-1} . A administração ocorreu por via intravenosa com duração de 2 minutos. Amostras de 6 ml sangue foram coletadas, a primeira coleta se deu no momento 0, antes da administração do fármaco, após o término da administração do fármaco as coletas seguiram em horários 0,25; 0,5; 0,75; 1; 2; 3; 4; 6; 7; 8; 10; 12; 24; 36h. O sangue foi acondicionado em tubos de vidro contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). Em

seguida, foram centrifugados por 10 minutos a 1750g para retirada do plasma sanguíneo os quais foram realocados em criotubos de 2 ml e armazenados em freezer a -80°C até o momento da análise. Quanto ao processamento da amostra, a 250 µl de plasma enriquecido com solução estoque (amostras de curvas, controle de qualidade e amostra do sujeito), foram adicionados 10 µl de metoprolol 0,1 mg/mL (padrão interno) e 800 µl de acetonitrila (JT Baker / Fisher Scientific® Phillipsburg, Novo Jersey, EUA). Em seguida, as amostras foram homogeneizadas por vórtex por 60 segundos, e em seguida centrifugadas por 5 minutos a 13350g. Posteriormente, uma alíquota de 5,0 µL da solução foi injetada no sistema LC-MS / MS para análise.

A análise cromatográfica foi realizada no sistema de cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a um espectrômetro de massas (UPLC-MS/MS), constituído por um aparelho Nexera-x2 UPLC acoplado a um detector de espectrometria de massa LCMS-8040 (Shimadzu, Japan), usando uma coluna Shimadzu UPLC BEH C18 (dimensões 1,7 µm, 2,1 × 75 mm) (Shimadzu, Japan). A fase móvel utilizada foi por meio de uma solução composta de acetonitrila e uma solução de ácido fórmico 0,1% na proporção de 75:25, com fluxo de 0,3 mL/min. O tempo de corrida foi estabelecido de dois minutos e o volume de amostra injetado de 5,0 µL. A temperatura da coluna ajustada para 40 °C e o refrigerador do amostrador automático regulado para 5 °C. Para identificar o MAA e AA, o espectrômetro de massa foi ajustado no modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM) no modo de Ionização por electropulverização positivo (ESI). A energia de colisão e a tensão do cone foram 12 e 19 V, respectivamente. A taxa de fluxo do gás cone e dessolvatação foi ajustada para 150 e 600 L/min, respectivamente, usando argônio como gás de colisão na vazão de 0,15 ml/min. O espectrômetro de massa foi ajustado para captar a transição da faixa do íon principal para o íon filho, utilizando a seguinte relação massa e carga (m/z): 4-metilaminoantipirina (218,20/159,10), 4-aminoantipirina (204,20/76,90) e padrão interno metoprolol (268,10/131/1). Dados de MRM foram obtidos, analisados e otimizados por meio do software Labsolution (Shimadzu, Japan).

O método analítico foi validado de acordo com os critérios estabelecidos pelo International Conference on Harmonisation (ICH E6 (R2) - 2016) e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 166-2017. Plasmas brancos (livre de medicamentos) foram enriquecidos com solução de padrões para obter uma curva de calibração (Linearidade). Da mesma forma, amostras de controle de qualidade foram preparadas em concentrações baixas, médias e altas e estas foram utilizadas para determinar a recuperação absoluta e precisão de precisão intra e inter-dia. A seletividade foi avaliada preparando o limite inferior de quantificação (LLOQ) no plasma livre de drogas. Estabilidade (matriz biológica a -70 °C), temperatura de bancada à temperatura ambiente (20 °C), 3 ciclos de congelamento e descongelamento e amostras processadas no amostrador automático também foram avaliadas.

Os parâmetros farmacocinéticos foram calculados usando modelo não compartimentais com o software WinNonlin 6.2.1 (Pharsight, Mountain View CA, EUA, 2011). As variáveis calculadas foram: taxa constante de eliminação (λ_z), concentração plasmática inicial (C0), tempo de meia-vida (T1/2), a concentração plasmática máxima (Cmax), o tempo para atingir a concentração plasmática máxima (Tmax), relação entre concentração plasmática no último momento experimental e a concentração plasmática máxima (Clast/Cmax), a área sob a curva de concentração plasmática do tempo zero até ao momento da última concentração mensurável (AUC0→t), extrapolação da AUC até ao infinito (AUC0→∞), relação da área sob a curva do tempo 0 até a última avaliação e a área sob a curva do tempo 0 até o infinito (AUC 0-t/0-∞), área sob a curva média do tempo 0 até o infinito (AUMC 0→∞), volume de distribuição aparente (Vz/F), depuração aparente (CL/F), tempo médio residual até o momento da última mensuração (MRT0→t), tempo médio

residual do momento zero até o infinito ($MRT_0 \rightarrow \infty$), clearance (Cl), volume de distribuição no estado de equilíbrio (V_{ss}) e o coeficiente de correlação (R^2). A análise estatística foi realizada com BioEstat 5.0. A normalidade de todos os parâmetros foi analisada pelo teste de Shapiro Wilk. Com exceção do $T_{máx}$ que foi avaliado pelo teste de Mann Whitney e expresso em mediana, todos os demais parâmetros foram comparados pelo teste T e expressos em média e desvio padrão.

RESULTADOS

O método foi validado considerando as normas da legislação nacional e internacional (ICH E6 [R2] e ANVISA, BRASIL. [RDC] 166–2017). A metodologia empregada demonstrou seletividade, sensibilidade, precisão e exatidão. Descartou-se efeitos da matriz biológica ao obter variação inferior a 15% quando se comparou as áreas obtidas em solução e no plasma. O plasma branco enriquecido com os metabólitos MAA e AA nas diferentes concentrações (80-10000 ng/ml) mostrou curva linear ($R^2 > 0,99$). Quando as amostras ultrapassaram o limite superior da faixa, elas foram diluídas em plasma branco e em seguida, reinjetadas para avaliação. Na avaliação da repetibilidade e reprodutibilidade, obteve-se coeficientes de variação relativos inferiores a 5%. A acurácia, que mede a porcentagem de desvio, foi inferior a $\pm 10\%$ para ambas as medidas MAA e AA.

A avaliação da estabilidade a curto prazo apontou que o MAA e o AA foram estáveis no plasma à temperatura ambiente (20°C) durante 2 h e após 3 ciclos de congelamento-descongelamento, bem como após o processamento das amostras à temperatura do amostrador automático (4°C) durante 24 h. A avaliação de estabilidade a longo prazo mostrou que MAA e AA no plasma são estáveis por um período de 28 semanas. O LLOQ foi determinado em todas as curvas analíticas com variação inferior a 20% o que é recomendado nas regulamentações (ICH E6 [R2] e ANVISA, BRASIL. [RDC] 166–2017).

O perfil farmacocinético dos metabólitos do metamizol foi melhor descrito por um modelo não compartimental, utilizado o software WinNonlin 6.2.1 (Pharsight, Mountain View CA, EUA, 2011). Os valores de média e erro padrão dos parâmetros farmacocinéticos do MAA e AA são apresentados na tabela 01 e 02, respectivamente, e as concentrações plasmáticas dos metabólitos ao longo do tempo são apresentadas nos gráficos 01 e 02, respectivamente.

Tabela 01 - Parâmetros farmacocinéticos do 4-MAA (média e erro padrão) em ovinos (*Ovis aries*) após administração intravenosa do metamizol de 25 mg/kg de metamizol.

Parâmetro	Unidade	Média	Erro padrão
λ_z	1/h	0,51	0,04
T1/2	h	1,95	0,40
C0	µg/ml	1163,45	137,85
AUC 0-t	ng/ml*h	227813,97	20578,64
AUC 0→∞	ng/ml*h	231921,97	20477,76
AUC 0-t/0-∞		0,97	0,005
AUMC 0→∞	ng/ml*h ²	238423,33	27631,62
MRT 0→∞	h	1,5	0,19
Cl_obs	(mg)/(ng/ml)/h	0,0002	1,7837
Vss	(mg)/(ng/ml)	0,0003	5,0792
R ²		0,95	0,0045

λ_z : taxa constante de eliminação; T1/2, tempo de meia-vida; C0: Concentração plasmática inicial; AUC 0→t: área sob a curva do tempo 0 até a última avaliação experimental; AUC 0→∞: área sob a curva do tempo 0 até o infinito; AUC 0-t/0-∞: relação da área sob a curva do tempo 0 até a última avaliação e a área sob a curva do tempo 0 até o infinito; AUMC 0→∞: Área sob a curva média do tempo 0 até o infinito; MRT 0→∞: tempo residual médio do momento 0 até o infinito; Cl: clearance; Vss: volume de distribuição no estado de equilíbrio; R²: coeficiente de correlação.

Tabela 02 - Parâmetros farmacocinéticos do 4-AA (média e erro padrão) em ovinos (*Ovis aries*) após administração intravenosa do metamizol de 25 mg/kg de metamizol.

Parâmetro	Unidade	Média	Erro padrão
λ_z	1/h	0,20	0,005431969
T1/2	h	3,63	0,09141179
Tmax	h	4,1	0,218800822
Cmax	ng/ml	1945,57	27,39677768
Clast/Cmax		0,07	0,005536699
AUC 0-t	ng/ml*h	19791,72	567,2521368
AUC 0→∞	ng/ml*h	20501,89	538,9493301
AUC 0-t/0-∞		0,96	0,003610632
AUMC 0→∞	ng/ml*h ²	170444,9	8412,262307
MRT 0→∞	h	7,94	0,2145788
Vz/F_obs	(mg)/(ng/ml)	0,006592	0,000186
Cl/F_obs	(mg)/(ng/ml)/h	0,001292	3,9606
R ²		0,99	0,001

λ_z : taxa constante de eliminação; T1/2, tempo de meia-vida; C_{máx}: Concentração plasmática máxima; T_{máx}: tempo para atingir concentração plasmática máxima; Clast/Cmax: relação entre concentração plasmática no ultimo momento experimental e a concentração plasmática máxima; AUC 0→t: área sob a curva do tempo 0 até a última avaliação experimental; AUC 0→∞: área sob a curva do tempo 0 até o infinito; AUC 0-t/0-∞: relação da área sob a curva do tempo 0 até a última avaliação e a área sob a curva do tempo 0 até o infinito; AUMC 0→∞: Área sob a curva média do tempo 0 até o infinito; MRT 0→∞: tempo residual médio do momento 0 até o infinito; Cl/F: depuração corporal total; Vz/F: volume de distribuição estimado com base na AUC total; R²: coeficiente de correlação.

Gráfico 01. Concentração plasmática (log) ao longo do tempo para 4-metilaminoantipirina (4-MAA) em ovino (*Ovis aries*), após administração intravenosa do metamizol em doses de 25 mg/kg.

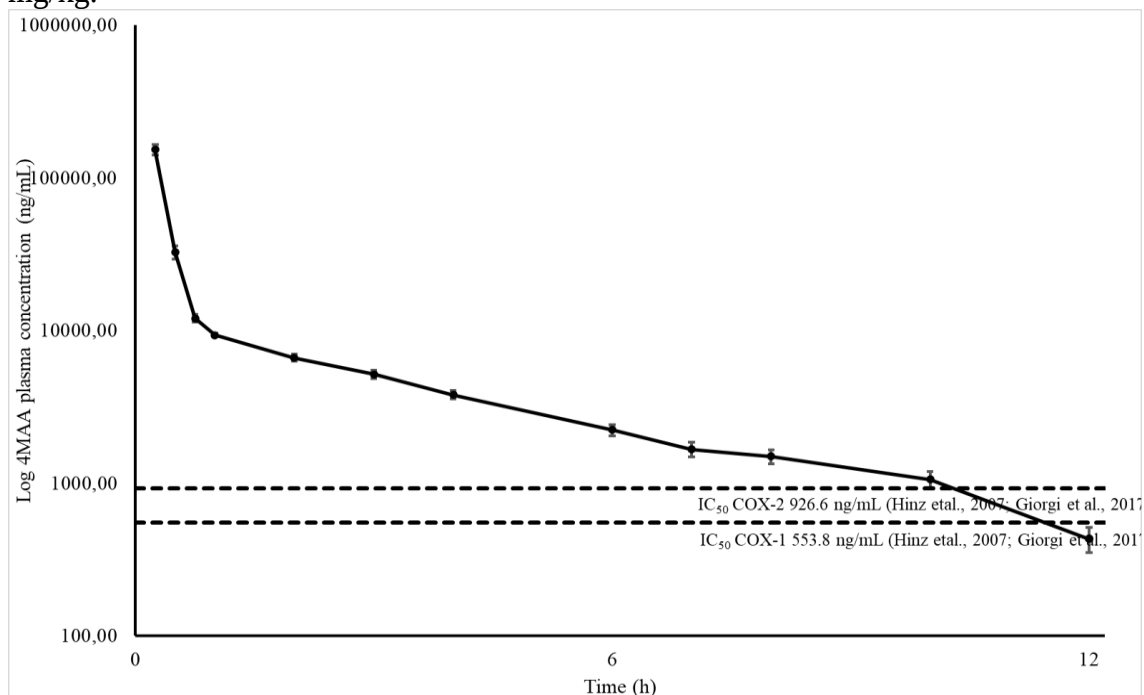
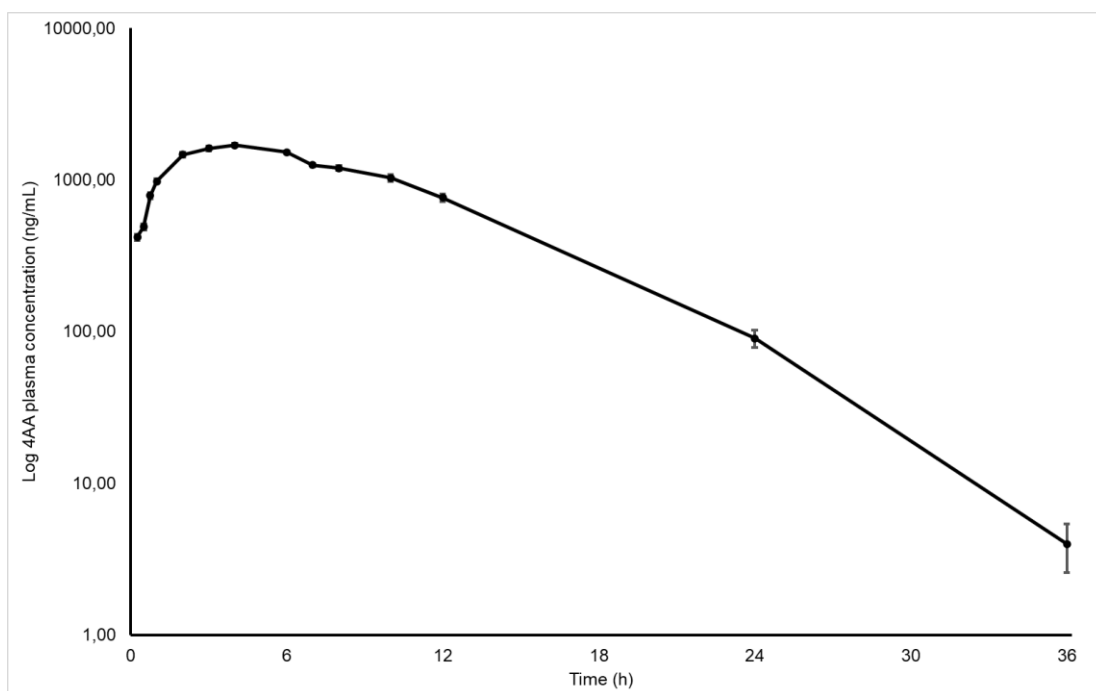


Gráfico 02. Concentração plasmática de Log versus tempo para 4- aminoantipirina (4-AA) em ovino (*Ovis aries*), após administração intravenosa do metamizol em doses de 25 mg/kg.



DISCUSSÃO

Este estudo é o primeiro a descrever a farmacocinética dos dois metabólitos ativo do metamizol em ovinos utilizando a técnica de UHPLC com espectrometria de massas. A técnica permitiu de maneira precisa, rápida e eficaz, identificar tanto o metabólito 4-MAA como o 4-AA no plasma dos animais.

Na rotina do atendimento clínico, especialmente dos animais de produção, a ausência dos estudos que estabeleçam farmacocinética, farmacodinâmica e comprovam o efeito clínico das drogas, leva o médico veterinário a utilizar regimes de doses extrapoladas de outras espécies, o que não é seguro. Existem entre as espécies variações consideráveis de metabolização, massa corporal, atividade enzimática, dentre outros fatores que interferem consideravelmente nos parâmetros farmacocinéticos (ABDEL-RAHMAN e KAUFFMAN, 2004).

Apesar da dipirona ser um fármaco frequentemente utilizado na rotina do atendimento clínicos dos ovinos, devido seus efeitos analgésicos ou antitérmicos, os estudos farmacocinéticos são escassos. Até o momento, somente um trabalho descreveu a cinética do 4-MAA após aplicação intravenosa e intramuscular de 20 mg/kg metamizol na espécie. Os autores destacaram a detecção do metabólito por até 8 horas nos animais e um perfil farmacocinético semelhante ao descrito em humanos (GIORGI et al., 2015). Entretanto, dados sobre a farmacocinética do AA não foram descritos na espécie, apesar da importância que este metabólito possui no contexto da farmacodinâmica do metamizol.

Optou-se pela aplicação do metamizol na dose de 25 mg/kg por ser a dose usualmente empregada para tratamento da dor e da hipertermia. Durante a fase experimental nenhum efeito adverso foi observado nos animais, como piloereção, hipersalivação, excitação ou tremores musculares, o que evidencia a segurança do fármaco na dose e via empregadas.

A dipirona é um pró-fármaco que rapidamente é convertido aos seus metabólitos. Os metabólitos MAA e AA, são determinados nos estudos farmacocinéticos pois são apontados como os principais responsáveis pelos efeitos analgésicos e potencial anti-inflamatório da droga (NIKOLOVA et al., 2012) Eles inibem as ciclooxigenases (efeitos anti-inflamatórios) (KIM et al., 2018), ativam receptores canabinóides e inibe canais iônicos potenciais do receptor transitório TRPA1 e TRPV1 (efeitos analgésicos) (ROGOSCH et al., 2012; SCHENK et al., 2019).

No presente estudo, o MAA foi rapidamente identificado no plasma ovino e suas concentrações foram detectáveis por até 12 horas. Dois ovinos tiveram o metabólito quantificado por menos tempo (4 e 6 horas) e nos demais, o MAA permaneceu por 10 e 12 horas.

A concentração plasmática do MAA ao longo do tempo se apresentou com o padrão de curva intravenosa, com C0 alto e duas fases de lambda, a primeira representando uma fase de metabolismo e a segunda, de metabolismo e eliminação (Gráfico 01). As características farmacocinéticas do MAA evidenciaram a expressiva capacidade de metabolização do metamizol pelos ovinos. A elevada concentração plasmática inicial rapidamente decai, tendo tempo de meia vida de aproximadamente 2 horas. Além do tempo de meia-vida, os dados de lambda, MRT, AUC e Vss reforçam a tese da rápida metabolização e eliminação do MAA pelos ovinos.

Em outras espécies, o perfil de metabolização e eliminação é mais lento. Estudos anteriores em cavalos (GIORGI et al., 2017), asininos (MACEDO et al., 2021) descreveram processo de metabolização mais lento quando comparado aos obtidos na presente pesquisa, apesar da utilização da mesma dose e por via intravenosa. O tempo de meia-vida obtido foi de 3,34h (GIORGI et al., 2017) e 3,6h (MACÊDO et al., 2021), $t_{1/2} \lambda_z$ 1,8h (AUPANUN et al., 2016) horas, respectivamente para os equinos e asininos.

Um tempo de meia vida terminal de 3 horas foi obtido por Giorgi et al. (2015) para o MAA, quando os ovinos receberam a dose de 20mg/kg do metamizol IV. Considerando as diferenças no delineamento do estudo e nos materiais e métodos empregados para determinação das concentrações do metabólito, as diferenças entre os resultados podem ser explicadas.

A dipirona na dose de 25 mg/kg nos ovinos, mantém concentrações de 4-MAA acima das mínimas eficazes durante 8 horas. Essa afirmação é baseada nos dados apresentados por Hinz et al. (2007), que estabeleceram concentração plasmática mínima do metabólito necessária para promover a queda da COX1 (IC50 – COX1) e COX 2 (IC50 – COX2) humana in vitro. A partir disto, supõe-se que, nos ovinos, na dose e via empregada, a medicação deva ser administrada em intervalos de 8 horas (Gráfico 01).

No caso do AA, o metabólito foi quantificado por até 12 horas em três animais e os demais, por 24 horas. Em humanos, o AA é formado a partir do metabólito primário MAA, via citocromo P450 (LEVY et al., 1995; GIORGI et al., 2015). Em decorrência deste processo, a concentração plasmática do AA apresenta um padrão extravascular, com uma curva inicialmente ascendente e posteriormente duas fases de lambda. A concentração inicial do metabólito elevou e o C_{máx} identificado foi aproximadamente três vezes maior do descrito anteriormente para caprinos (KIM et al., 2018). Para este metabólito, os valores de T_{máx} e T_{1/2} foram próximos, evidenciando a capacidade dos ovinos em metabolizar rapidamente os derivados do metamizol. Esta é a primeira descrição do perfil farmacocinético do 4-AA após administração intravenosa do metamizol em ovinos.

CONCLUSÃO

O método utilizado para determinação dos metabólitos do metamizol foi eficiente e permitiu identificar e quantificar MAA e AA em plasma ovino, após aplicação do fármaco por via intravenosa. Os animais foram capazes de metabolizar e eliminar rapidamente a dipirona. Com base nos dados, a dipirona na dose de 25 mg/kg, mantém concentrações de MAA acima das mínimas eficazes durante 8 horas, supondo-se, portanto, que a medicação deva ser aplicada em intervalos de 8 horas. Estudos adicionais são necessários para avaliar a segurança e eficácia clínica do metamizol em ovinos.

Agradecimentos. - A CAPES e CNPq pelo apoio financeiro e concessão de bolsas.

Declaração de conflito de interesse. – Declaramos não haver conflito de interesse.

REFERENCIAS

- ACHILLES A, MOHRING A, DANNENBERG L, et al. Analgesic medication with dipyrone in patients with coronary artery disease: Relation to MACCE. *Int J Cardiol.* 2017;236:76-81.
- ANDRADE S, BARTELS DB, LANGE R, SANDFORD L, GURWITZ J. Safety of metamizole: a systematic review of the literature. *J Clin Pharm Ther.* 2016;41(5):459–77.
- ANIL, L.; ANIL, S.S.; DEEN, J. Pain Detection and Amelioration in Animals on the Farm: Issues and Options. *J. Appl. Anim. Welf. Sci.* 2005, 8, 261–278.
- AUPANUN, S. et al. pharmacokinetic Assessment of the Marker Active Metabolites 4-methyl-amino-antipyrine and 4-acetyl-amino-antipyrine After Intravenous and Intramuscular Injection of Metamizole (dipyrone) in Healthy Donkeys. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 47, p. 55-61, 2016.
- ARIZA A, GARCIA-MARTIN E, SALAS M, et al. Pyrazolones metabolites are relevant for identifying selective anaphylaxis to metamizole. *Sci Rep.* 2016;6:23845.
- BACHMANN F, DUTHALER U, RUDIN D, KRÄHENBÜHL S, HASCHKE M. N-demethylation of N-methyl-4-aminoantipyrine, the main metabolite of metamizole. *Eur J Pharm Sci.* 2018; 120: 172–180.
- BELLEGRANDI S, ROSSO R, MATTIACCI G, et al. Combined immediate- and delayed-type hypersensitivity to metamizole. *Allergy.* 1999;54(1):88-90.
- BLASER L, HASSNA H, HOFMANN S, et al. Leucopenia associated with metamizole: a case-control study. *Swiss Med Wkly.* 2017;147:w14438.
- BOTTING, R.M. Mechanism of action of acetaminophen: is there a cyclooxygenase 3? *Clinical Infectious Diseases*, v. 31, p. S202–S210, 2000.
- BURIAN M, GEISLINGER G. COX-dependent mechanisms involved in the antinociceptive action of NSAIDs at central and peripheral sites. *Pharmacol Ther* 2005; 107: 139-154.
- Carvalho V.S. et al., 2018 *Pesq. Vet. Bras.* 38(7):1250-1258, julho 2018 DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-5504
- CHANDRASEKHARAN, N.V.; DAI, H.; ROOS, K.L.; EVANSON, N.K.; TOMSIK, J.; ELTON, T.S.; SIMMONS, D.L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 99, p. 13926–13931, 2002.
- CHESSA, B.; PEREIRA, F.; ARNAUD, F.; AMORIM, A.; GOYACHE, F.; MAINLAND, I.; KAO, R.R.; PEMBERTON, J.M.; BERALDI, D.; STEAR, M.J. Revealing the History of Sheep Domestication Using Retrovirus Integrations. *Science*, v. 324, p. 532–536, 2009.
- DOGRUL A, GÜLMEZ SE, DEVECI MS, GUL H, OSSIPOV MH, PORRECA F, TULUNAY FC. The Local Antinociceptive Actions of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs in the Mouse Radiant Heat Tail-Flick Test. *Anesth Analg* 2007; 104: 927-935
- DWYER, C. The welfare of sheep. Reino Unido: Springer, 2008.
- FAYE, B.; KONUSPAYEVA, G. The sustainability challenge to the dairy sector-The growing importance of non-cattle milk production worldwide. *International Dairy Journal*, v. 24, p. 50–56, 2012.
- FITZPATRICK, J.; SCOTT, M.; NOLAN, A. Assessment of pain and welfare in sheep. *Small Ruminant Research*, v. 62, p. 55–61, 2006.
- FREITAS, G. C.; CARREGARO, A. B.. Aplicabilidade da extrapolação alométrica em protocolos terapêuticos para animais selvagens. *Ciência Rural*, v. 43, n. 2, p. 297-304, 2013.
- FUX, D.; METZNER, M.; BRANDL, J.; FEIST, M.; BEHRENDT-WIPPERMANN, M.; VON THADEN, A.; BAUMGARTNER, C. Pharmacokinetics of metamizole (dipyrone) as an add-on in calves undergoing umbilical surgery, *PLOS ONE*, v. 17, n. 3, p. e0265305, 2022.

GARCIA-MARTINEZ, J.M., FRESNO VARA, J.A., LASTRES, P., BERNABEU, C., BETES, P.O. & MARTIN-PEREZ, J. (2003) Effect of metamizol on promyelocytic and terminally differentiated granulocytic cells. Comparative analysis with acetylsalicylic acid and diclofenac. *Biochemical Pharmacology*, 65, 209–217.

GIORGI, M.; DE VITO, V.; LEE, H.K.; LAUS, F.; KOWALSKI, C.; FAILLACE, V.; BURMANCZUK, A.; VULLO, C. Pharmacokinetic investigations of the marker active metabolite-4-methylamino-antipyrin after intravenous and intramuscular injection of metamizole in healthy sheep. *Small Ruminant Research*, v. 132, p. 143–146, 2015.

GIORGI, M.; ŁEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA, B.; LISOWSKI, A.; OWEN, H.; POAPOLATHEP, A.; KIM, T.W.; DE VITO, V. Pharmacokinetic profiles of the active metamizole metabolites after four different routes of administration in healthy dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 41, p. 428–436, 2018.

GUERRERO, K.K.; SCHWARZ, A.; WUHRMANN, R.; FELDMANN, S.; HARTNACK, S.; BETTSCHART-WOLFENBERGER, R. Comparison of a new metamizole formulation and carprofen for extended post-operative analgesia in dogs undergoing ovariohysterectomy. *The Veterinary Journal*, v. 204, p. 99–104, 2015.

HARRIS, C.; WHITE, P.J.; HALL, E.; VAN DER SAAG, D.; LOMAX, S. Evaluation of Electroencephalography, Behaviour and Eye Temperature in Response to Surgical Castration in Sheep. *Animals* 2021, 11, 637.

HEDENMALM, K. & SPIGSET, O. (2002) Agranulocytosis and other blood dyscrasias associated with dipyron (metamizole). *European Journal of Clinical Pharmacology*, 58, 265–274.

HENKE, J. & E ERHARDT, W. Schmerzmanagement beim Klein- und Heimtier (ENKE, Stuttgart, 2001).

HEWSON, C.J.; DOHOO, I.R.; LEMKE, K.A.; BARKEMA, H.W. Canadian veterinarians' use of analgesics in cattle, pigs, and horses in 2004 and 2005. *Can. Vet. J. Rev. Vet. Can.* 2007, 48, 155–164.

HINZ, B., CHEREMINA, O., BACHMAKOV, J., RENNER, B., ZOLK, O., FROMM, M. F., & BRUNE, K. (2007). Dipyron elicits substantial inhibition of peripheral cyclooxygenases in humans: new insights into the pharmacology of an old analgesic. *The FASEB Journal*, 21(10), 2343–2351.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção agropecuária, rebanho de ovinos, 2020. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/ovino/br>. Acesso em 05/05/2022.

KENT, J.E.; MOLONY, V.; JACKSON, R.E.; HOSIE, B.D. Chronic inflammatory responses of lambs to rubber ring castration: Are there any effects of age or size of lamb at treatment? *BSAP Occas. Publ.* 1999, 23, 160–162.

KIM, T.W.; ŁEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA, B.; SITOVS, A.; POAPOLATHEP, A.; OWEN, H.; LISOWSKI, A.; ABILOVA, Z.; GIORGI, M. Pharmacokinetic profiles of metamizole (dipyron) active metabolites in goats and its residues in milk. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 41, n. 5, p. 699–705, 2018.

KONIJNENBELT-PETERS, J.; HEIJDEN, C.; EKHART, C.; BOS, J.; BRUHN, J.; KRAMERS, C. Metamizole (Dipyron) as an alternative agente in postoperative analgesia in patients with contraindications for nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Pain Practice*, v. 17, p. 402–408, 2017.

KOTTER T, DA COSTA BR, FASSLER M, et al. Metamizole-associated adverse events: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2015;10(4):e0122918.

ŁEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA, B., KIM, T. W., CHEA, B., OWEN, H., POAPOLATHEP, A., & GIORGI, M. (2018). Pharmacokinetic profiles of the two major

active metabolites of metamizole (dipyrone) in cats following three different routes of administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 41(2), 334–339.

LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA, B.; KIM, T.W.; CHEA, B.; OWEN, H.; POAPOLATHEP, A.; GIORGI, M. Pharmacokinetic profiles of the two major active metabolites of metamizole (dipyrone) in cats following three different routes of administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 41, n. 2, p. 334–339, 2018.

LEE, C.; FISHER, A.D. Welfare consequences of mulesing of sheep. *Australian Veterinary Journal*, v. 85, p. 89–93, 2007.

Leone R, Conforti A, Venegoni M, Motola D, Moretti U, Meneghelli I, et al. Drug-induced anaphylaxis: case/non-case study based on an Italian pharmacovigilance database. *Drug Saf.* 2005;28(6):547–56.

LEVIONNOIS, O.L.; FOSSE, T.K.; RANHEIM, B. PK/PD modeling of flunixin meglumine in a kaolin-induced inflammation model in piglets, *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 41, n. 2, p. 314–323, 2017.

LEVY M. FLUSSER O, ZYLBER-KATZ E, et al. Plasma kinetics of dipyrone metabolites in rapid and slow acetylators. *Eur J Clin Pharmacol* 1984; 27: 453–8

LEVY, M., ZYLBER-KATZ, E., & ROSENKRANZ, B. (1995). Clinical pharmacokinetics of dipyrone and its metabolites. *Clinical Pharmacokinetics*, 28(3), 216–234.

LEVY, M.; ZYLBER-KATZ, E.; ROSENKRANZ, B. Clinical pharmacokinetics of dipyrone and its metabolites. *Clinical Pharmacokinetics*, v. 28, p. 216–234, 1995.

Lizarraga, I.; Chambers, J.P. Use of analgesic drugs for pain management in sheep. *N.Z. Vet. J.* 2012, 60, 87–94.

LIZARRAGA, I.; CHAMBERS, J.P. Use of analgesic drugs for pain management in sheep. *N.Z. Vet. J.* 2012, 60, 87–94.

MACÊDO, L.B.; MOUTA, A.N.; ARAÚJO-SILVA, G.; URIZAR, J.T.P.; PAULA, V.V. Pharmacokinetic properties of metamizole active metabolites in Northeastern Brazilian donkeys (*Equus asinus*), *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 44, n. 5, p. 842–849, 2021.

MCLENNAN, K.M. Why Pain Is Still a Welfare Issue for Farm Animals, and How Facial Expression Could Be the Answer. *Agriculture*, v. 8, p. 127, 2018.

Melinda Poole O'Banion, Emily Sundman, Matt Edmonds, Jennifer Davis, Pharmacokinetics of dipyrone in horses: A multi-dose, dose escalation study, *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 10.1111/jvp.12996, 44, 6, (919–926), (2021).

MELLOR, D.J.; STAFFORD, K. J. Acute castration and/or tailing distress and its alleviation in lambs. *New Zealand Veterinary Journal*, v. 48, p. 33–43, 2000.

MERIDA RODRIGO L., FAUS FELIPE V., POVEDA GOMEZ F., GARCIA ALEGRIA J. (2009) *Rev. Clin. espan.*, 209, 176–179.

Miljkovic M, Dragojevic-Simic V, Rancic N, et al. Metamizole utilization and expenditure during 6-year period: Serbia vs. Croatia. *Front Public Health*. 2018;6:213.

MOLONY, V.; KENT, J.E. Assessment of acute pain in farm animals using behavioral and physiological measurements. *J. Anim. Sci.* 1997, 75, 266–272.

NIKOLOVA, I et al. Metamizole: a review profile of a well-known “forgotten” drug. part I: pharmaceutical and nonclinical profile. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, v. 26, n. 6, p. 3329–3337, 2012.

O. L. LEVIONNOIS, T. K. FOSSE, B. Ranheim, PK/PD modeling of flunixin meglumine in a kaolin-induced inflammation model in piglets, *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 10.1111/jvp.12468, 41, 2, (314–323), (2017). Wiley Online Library

O'BANION, M.P.; SUNDMAN, E.; EDMONDS, M.; DAVIS, J. Pharmacokinetics of dipyrone in horses: A multi-dose, dose escalation study, *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 44, n. 6, p. 919-926, 2021.

OIE. 2014. World Organization for Animal Health. World Health Organization. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/boletins/sut.ct.ppm2019.22out2020.vf.pdf> Acesso em 05/05/2022.

PAGE, G.G. The immune-suppressive effects of pain. *Adv. Exp. Med. Biol.* 521, 117–125 (2003).

PRADO MA, FRANCISCO PM, BASTOS TF, BARROS MB. Use of prescription drugs and self-medication among men. *Rev Bras Epidemiol.* 2016;19(3):594-608.

PREMKUMAR, L.S. Targeting TRPV1 as an Alternative Approach to Narcotic Analgesics to Treat Chronic Pain Conditions. *AAPS J.* 2010, 12, 361–370.

QUEIROZ A.T.Z. et al. 2022 *Pesq. Vet. Bras.* 42:e07012, 2022 DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-7012 Characterization and frequency of foot injuries and foot-related lameness in a sheep herd with prophylactic measures for foot-related diseases

RAEKALLIO, M.; HEINONEN, K.; KUUSSAARI, J.; VAINIO, O. Pain Alleviation in Animals: Attitudes and Practices of Finnish Veterinarians. *Vet. J.* 2003, 165, 131–135.

RAJA, S.N.; CARR, D.B.; COHEN, M.; FINNERUP, N.B.; FLOR, H.; GIBSON, S. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: Concepts, challenges, and compromises. *Pain* 2020, 161, 1976–1982.

RYCHLÍČKOVÁ, J.; JUREČKOVÁ, H. Metamizol (dipyrone). *Klinická farmakologie a farmacie*, v. 35, n. 1, p. 94–98, 2021.

SANDERCOCK, D.A.; BARNETT, M.W.; COE, J.E.; DOWNING, A.C.; NIRMAL, A.J.; DIGIMINIANI, P.; EDWARDS, S.A.; FREEMAN, T.C. Transcriptomics Analysis of Porcine Caudal Dorsal Root Ganglia in Tail Amputated Pigs Shows Long-Term Effects on Many Pain-Associated Genes. *Front. Vet. Sci.* 2019, 6, 314.

SCHEERLINCK JPY, SNIBSON KJ, BOWLES VM, SUTTON P. 2008. Biomedical applications of sheep models: from asthma to vaccines. *Trends Biotechnol* 26:259–266.

SCHOENIAN, S. The welfare of docking and castrating lambs. 2012. Disponível em: <<http://www.sheepandgoat.com/articles/welfaredockcast.html>>. Acesso em: 08 de abr. 2021.

SCOTT, P.R. The management and welfare of some common ovine obstetrical problems in the United Kingdom. *Vet. J.* 2005, 170, 33–40.

VLAHOV, V., BADIAN, M., VERHO, M., & BACRACHEVA, N. (1990). Pharmacokinetics of metamizol metabolites in healthy subjects after a single oral dose of metamizol sodium. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 38(1), 61–65.

WITHDRAWN: a resource for withdrawn and discontinued drugs. Metamizole–legal status. <http://cheminfo.charite.de/withdrawn/metamizole.html>. Published September 2015. Accessed April 15, 2021.

ZYLBER-KATZ E., GRANIT L., LEVY M. (1992) *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 42, 187-191.

KLIN Farmakol Farm 2021; 35(1): 94–98.

