

## EFEITO DO 6-((4-(FLUORFENIL)SELANIL)-9H-PURINA NA MELHORA DA MEMÓRIA EM UM MODELO DE ALZHEIMER EM CAMUNDONGOS: ENVOLVIMENTO DAS ESPÉCIES REATIVAS

MARINA LAURA CHUPEL PIT TORRES<sup>1</sup>; ANE GABRIELA VOGT<sup>2</sup>; GABRIEL PEREIRA DA COSTA<sup>3</sup>; DIEGO ALVES<sup>4</sup>; ETHEL ANTUNES WILHELM<sup>5</sup>; CRISTIANE LUCHESE<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – marinalaura\_@hotmail.com; <sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – aneg.vogt@gmail.com; <sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – gabrielpdacosta@hotmail.com;

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – dsalves@gmail.com; <sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – ethelwilhelm@yahoo.com.br; <sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – cristiane\_luchese@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é considerada uma patologia neurodegenerativa caracterizada por perda progressiva de memória, transtornos de personalidade e linguagem (QUERFURTH et al. 2010) que envolvem mecanismos bioquímicos, tais como o estresse oxidativo e a neuroinflamação (O'BRIEN e WONG, 2011). A DA é uma doença multifatorial que pode envolver aspectos como a formação de placas senis contendo o peptídeo  $\beta$ -amilóide ( $\beta$ ), sendo este o causador de efeitos neurotóxicos (AVRAMOVICH et al. 2002).

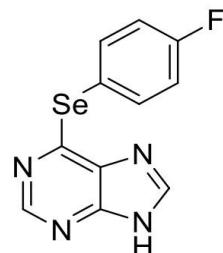
As terapias comumente utilizadas para o tratamento da DA incluem o uso de antagonistas não competitivos de moderada afinidade pelos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) (MARTORANA et al. 2010), anti-inflamatórios não esteroidais (TOWNSEND e PRATICO, 2005) e inibidores das enzimas colinesterases (LLEO et al. 2006). No entanto, o uso destas classes de medicamentos é apenas sintomático, sendo que os mesmos não são capazes de impedir a progressão da doença (ALVES et al. 2012). Por conta disso, a busca de novos compostos que visam o tratamento/prevenção da DA têm aumentado expressivamente nos últimos anos (PINZ et al. 2018).

Neste sentido destacam-se os compostos orgânicos de selênio, pelo fato dos mesmos possuírem importantes atividades biológicas, tais como anti-inflamatórias, antinociceptivas (PINZ et al. 2016), ansiolíticas (REIS et al., 2017), antioxidantes (VOGT et al., 2018), dentre outras. Paralelamente aos compostos orgânicos de selênio estão os compostos derivados de purinas, sendo que os mesmos também apresentam importantes propriedades biológicas, destacando-se o efeito antioxidant (HU et al. 2010).

Desta forma, a combinação entre o elemento selênio com derivados de purinas poderia melhorar o potencial farmacológico destes compostos, podendo vir a ser uma alternativa terapêutica no tratamento da DA. Sendo assim, considerando a necessidade da descoberta de novas alternativas terapêuticas para o tratamento desta doença e as promissoras atividades biológicas de compostos orgânicos de selênio, bem como dos derivados de purinas, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do composto 6-((4-fluorfenil)selanil)-9H-purina (FSP) em um modelo de DA induzida pelo peptídeo  $\beta$  em camundongos.

### 2. METODOLOGIA

O composto FSP (figura 1) foi sintetizado pelo Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da Universidade Federal de Pelotas.



**Figura 1.** Estrutura química do composto 6-((4-fluorfenil)selanil)-9H-purina (FSP)

Para a realização deste experimento, utilizaram-se camundongos machos da raça Swiss (25-35g). Os experimentos foram realizados de acordo com as normas preconizadas pela Comissão de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA 7046/2016). Os animais foram divididos em quatro grupos (6-8 animais/grupo): controle (salina + óleo de canola); FSP (salina + FSP);  $\beta$ a (peptídeo  $\beta$ a + óleo de canola); FSP +  $\beta$ a (peptídeo  $\beta$ a + FSP). Os animais dos grupos  $\beta$ a e FSP +  $\beta$ a receberam, no primeiro dia do protocolo experimental, uma injeção intracerebroventricular (i.c.v.) (3 nmol/3  $\mu$ L/per site) do peptídeo  $\beta$ a, enquanto os animais dos grupos controle e FSP receberam uma injeção i.c.v. de solução salina (3  $\mu$ L, 0,9%). Trinta minutos antes das injeções i.c.v., os animais pertencentes aos grupos controle e  $\beta$ a receberam óleo de canola (veículo do composto, 10 ml/kg, intragástrica (i.g.)), enquanto os animais dos grupos FSP e FSP +  $\beta$ a receberam o composto (1 mg/kg, i.g.). Os tratamentos com óleo de canola ou FSP foram realizados diariamente até o final do protocolo experimental. O protocolo experimental foi conforme IANISKI et al. (2012). No 13º e 14º dias, realizou-se a tarefa da esquiva inibitória.

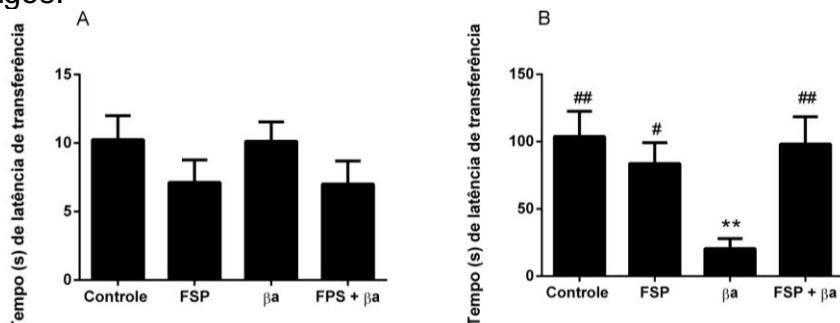
A tarefa da esquiva inibitória foi realizada conforme SAKAGUCHI et al. (2006), para avaliar a memória não espacial de longo prazo dos camundongos. No 13º dia do protocolo experimental, realizou-se a tarefa do treino na esquiva inibitória. Na fase de treino, o animal foi colocado em uma plataforma do aparato e ao descer com as quatro patas para a grade, recebeu um estímulo elétrico não doloroso (0,5 mA) por 2 segundos. Vinte e quatro horas após o treino, realizou-se a fase de teste, onde o animal foi colocado na plataforma e cronometrou-se o tempo de descida desta. Posteriormente no 15º dia do protocolo experimental, os camundongos foram submetidos a eutanásia, por inalação com isoflurano, e o córtex cerebral foi removido para a determinação dos níveis de espécies reativas (ERs). Os níveis de ERs no córtex cerebral dos animais foram determinados por espectrofluorimetria usando 2',7' diacetato de diclorofluoresceína (DCHF-DA). A emissão de intensidade de fluorescência foi feita em 520 nm (com excitação de 480 nm), 15 min após a adição de DCHF-DA ao meio reacional (*Shimadzu RF-5301 PC fluorímetro*). Os níveis das espécies reativas no córtex cerebral foram expressos como unidades arbitrárias de fluorescência.

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.). Os dados foram avaliados através da análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste de Newman-Keuls. Os resultados com  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

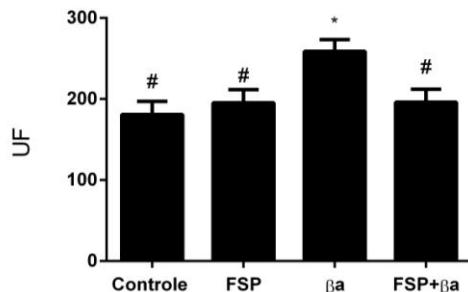
A figura 2A demonstra que não houve diferença significativa entre os grupos no dia do treino na tarefa da esquiva inibitória. Na figura 2B pode-se

observar que o peptídeo  $\beta$  reduziu o tempo de decida da plataforma, quando comparado ao grupo controle. Este resultado indica que o peptídeo  $\beta$  causou um comprometimento na memória dos animais. Além disso, o tratamento com o FSP (1 mg/kg) protegeu contra a redução no tempo de descida da plataforma causada pelo peptídeo  $\beta$ . Estes resultados indicam que o composto foi capaz de proteger contra o prejuízo na memória induzidos pelo peptídeo  $\beta$  nos camundongos.



**Figura 2.** Avaliação da resposta protetora de 6-(4-fluorofenil)selanil-9H-purina (FSP) no (A) treino e (B) teste da esquiva inibitória. Os dados são reportados como média ± erro padrão da média (E.P.M.). (\*\*) indicam  $p < 0,01$ , quando comparado ao grupo controle; (#) e (##) indicam  $p < 0,05$  e  $p < 0,01$  respectivamente, quando comparado com o grupo  $\beta$ -amilóide ( $\beta$ a) (ANOVA de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls).

Na figura 3 estão apresentados os resultados referentes aos níveis de ERs no córtex cerebral dos camundongos. Os resultados demonstram o peptídeo  $\beta$  aumentou os níveis de ERs nesta estrutura, e que o FSP protegeu contra este aumento.



**Figura 3.** Avaliação da resposta protetora de 6-(4-fluorofenil)selanil-9H-purina (FSP) nos níveis de espécies reativas (ERs) no córtex cerebral de camundongos. Os dados são reportados como média ± erro padrão da média (E.P.M.). (\*) indica  $p < 0,05$ , quando comparado ao grupo controle; (#) indica  $p < 0,05$ , quando comparado com o grupo  $\beta$ -amilóide ( $\beta$ a) (ANOVA de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls).

#### 4. CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou que o composto FSP previneu o prejuízo da memória em um modelo de DA induzido pelo peptídeo  $\beta$  em camundongos. Além disso, o composto demonstrou uma ação eficaz em reduzir os níveis de ERs. Porém, são necessários mais estudos para melhor elucidar os mecanismos de ação envolvidos na atividade deste composto na DA.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, L.; CORREIA, A. S. A.; MIGUEL, R.; ALEGRIA, P.; BUGALHO, P. Alzheimer's disease:a clinical practice-oriented review. **Frontiers in Neurology**, v. 3, p.63, 2012.
- AVRAMOVICH, Y.; AMIT, T.; YOUDIM, M.B.H. Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs Stimulate Secretion of Non-amyloidogenic Precursor Protein. **The American Society For Biochemistry and Molecular Biology**, USA, v.277, n.37, p.31466-31473, 2002.
- IANISKI, F. R.; ALVES, C. B.; SOUZA, A. C. G.; PINTON, S.; ROMAN, S. S.; RHODEN, C. R. B.; ALVES, M. P.; LUCHESE, C. Protective effect of meloxicamloaded nanocapsules against amyloid  $\beta$  peptide-induced damage in mice. **Behavioural Brain Research**, v.230, n. 100-107, 2012.
- LLEO A.; GREENBERG, S. M.; GROWDON, J.H. Current pharmacotherapy for Alzheimer's disease. **Annual Review Medicine**, v. 57, p. 513-533, 2006.
- MARTORANA, A.; ESPOSITO, Z.; KOCH, G. Beyond the cholinergic hypothesis: do current drugs work in Alzheimer's disease? **CNS Neuroscience & Therapeutics**, v.16, n4, p.235-245, 2010.
- O'BRIEN R. J.; WONG P. C.; Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. **Annual Review of Neuroscience**, v.34, p.185–204; 2011.
- PINZ, M. P.; DOS REIS, A. S. ; VOGT, A. G. ; KRÜGER, R. ; ALVES, D. ; JESSE, C. R. ; ROMAN, S. S. ; SOARES, M. P. ; WILHELM, E. A. ; LUCHESE, C. Current advances of pharmacological properties of 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline: Prevention of cognitive deficit and anxiety in Alzheimer's disease model. **BIOMEDICINE & PHARMACOTHERAPY**,v. 105, p. 1006-1014, 2018.
- PINZ, M.; REIS, A. S.; DUARTE, V.; ROCHA, M.; GOLDANI, B.; ALVES, D.; SAVEGNAGO, L.; LUCHESE, C.; WILHELM E. A. 4-Phenylselenyl-7-chloroquinoline, a new quinoline derivative containing selenium, has potential antinociceptive and anti-inflammatory actions. **European Journal of Pharmacology**, v.780, p.122-128, 2016.
- QUERFURTH, H. W.; LAFERLA, F. M. Alzheimer's disease. **The New England Journal of Medicine**, v. 362 (2), p. 329-44, 2010.
- REIS, A. S. ; PINZ, M. ; DUARTE, L. F. B. ; ROEHRHS, J. A. ; ALVES, D. ; LUCHESE, C. , ; WILHELM, E. A. 4-phenylselenyl-7-chloroquinoline, a novel multitarget compound with anxiolytic activity: Contribution of the glutamatergic system. **Journal of Psychiatric Research**, v. 84, p. 191-199, 2017.
- SAKAGUCHI, M.; KOSEKI, M.; WAKAMATSU, M.; MATSUMURA, E. Effects of systemic administration of beta-casomorphin-5 on learning and memory in mice. **European Journal of Pharmacology**, v.530, p. 81-87; 2006.
- TOWNSEND, K. P.; PRATICO, D. Novel therapeutic opportunities for Alzheimer's disease: focus on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **The FASEB Journal**, v.19, p.1592-1601, 2005.
- VOGT, A. G.; VOSS, G. T. ; DE OLIVEIRA, R. L. ; PALTIAN, J. J. ; DUARTE, L. F.B. ; ALVES, D. ; JESSE, C. R. ; ROMAN, S. S. ; ROEHRHS, J. A. ; WILHELM, E. A. ; LUCHESE, C. Organoselenium group is critical for antioxidant activity of 7-chloro-4-phenylselenyl-quinoline. **Chemico-biological interactions**, v. 282, p. 7-12, 2018.
- HU, Y. L.; LIU, X.; LU, M.; GE, Q.; LIU, X. B. Synthesis of Some Biologically Active Halogenopurines. **Journal of the Korean Chemical Society**, v. 54, p. 429-436, 2010.