

SAIS DE PIRIDÍNIO CONTENDO SELÊNIO: UMA TRIAGEM DE ATIVIDADE DO TIPO ANTIDEPRESSIVA NO TESTE DE SUSPENSÃO PELA CAUDA EM CAMUNDONGOS

PÂMELLA DA COSTA¹; MARIANA PARRON PAIM²; LARISSA SANDER MAGALHÃES³; CAROLINE SIGNORINI GOMES⁴; EDER JOÃO LENARDÃO⁵; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO⁶

¹ Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – pamelladacosta2002@gmail.com;

² Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – maa_paim@hotmail.com;

³ Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – larissasama@hotmail.com;

⁴ Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – carosigomes@gmail.com.

⁵ Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – elenardao@uol.com.br.

⁶ Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – cbortolatto@gmail.com.

1. INTRODUÇÃO

No corpo humano, a presença de selênio é fundamental para diversas funções biológicas, atuando na forma de selenoproteínas. Entre os órgãos ricos em selenoproteínas, destaca-se o cérebro, onde desempenham um papel crucial. Elas contribuem para a manutenção do balanço oxidativo cerebral, regulam vias de transdução de sinais, além de apresentar funcionalidade para regulação neuroimune, podendo prevenir e tratar transtornos de humor, como a depressão (DING *et al.*, 2022). Paralelamente a isso, as piridinas são uma substância orgânica heterocíclica importantes na química medicinal devido ao papel fundamental que o átomo de nitrogênio desempenha no perfil farmacológico, como ação antibacteriana, anticonvulsivantes e antidepressivos (LIN *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2019).

Além do seu amplo espectro de atividade biológica, compostos derivados de sais favorece a solubilidade em uma possível formulação, contribuindo para diminuição de custos de produção, melhorias nas suas propriedades farmacológicas e redução dos riscos de toxicidade (SKRDLA *et al.*, 2021). Nessa perspectiva, o propósito deste estudo consistiu em conduzir uma triagem *in vivo* para detecção de um potencial candidato à antidepressivo utilizando três sais, sendo eles: brometo de 1-(2-oxo-2-feniletil)-2-((fenilselanil)metil)piridín-1-ilo (3A), brometo de 1-(2-oxo-2-(*p*-tolil)etil)-2-((fenilselanil)metil)piridín-1-ilo (3B) e (brometo de 1-(2-(4-clorofenil)-2-oxoetil)-2-((fenilselanil)metil)piridín-1-ilo (3C) (Figura 1) em camundongos machos. Além disso, buscou-se determinar o perfil tempo-resposta do composto efetivo apresentado na triagem inicial.

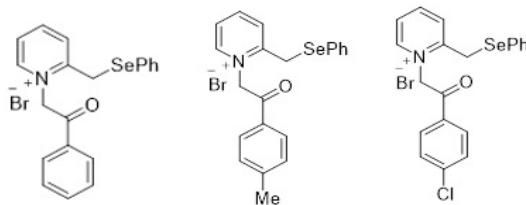


Figura 1. Estrutura química dos compostos 3A, 3B e 3C, respectivamente.

2. METODOLOGIA

2.1 Compostos e animais: Os compostos 3A, 3B e 3C foram desenvolvidos pelo Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) (PENTEADO *et al.*, 2019). Esses compostos foram posteriormente

dissolvidos em água destilada e administrados a camundongos machos da linhagem Swiss, com aproximadamente 60 dias de idade, em uma dose fixa de 10 mg/kg. Foi utilizado como controle positivo a fluoxetina (FLX) na dose de 20mg/kg pela via intraperitoneal (i.p.) (UMATHE *et al.*, 2011). O experimento em questão foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPel e foi conduzido utilizando as condições padrão do biotério central da universidade federal de Pelotas, identificado como número 001363/2022-34.

2.2 Triagem para atividade do tipo antidepressiva: Os animais foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos distintos ($N= 9-10$): O controle (C), composto 3A, 3B ou 3C (5 mg/kg, via intragástrica, i.g.) e a FLX. Os animais foram submetidos ao teste de suspensão pela cauda (TSC) após 30 minutos da administração das substâncias. Anterior ao TSC, os animais foram submetidos ao teste de campo aberto (TCA), com uma duração de 4 minutos, a fim de avaliar a atividade locomotora e exploratória dos animais. Os experimentos de comportamento foram conduzidos durante a manhã (das 9h às 12h) em uma sala com iluminação e temperatura controladas. Todos os procedimentos foram registrados em vídeo para análise posterior, e antes de cada teste, foi feita a desinfecção com álcool a 20%. O TSC é um procedimento no qual um camundongo é suspenso, com sua cauda fixada a uma caixa ou haste por meio de fita adesiva ou substância análoga. Cada animal fica no teste por 6 minutos e a avaliação do comportamento depressivo é realizada mediante a análise do tempo de imobilidade durante o período de suspensão (tempo total de imobilidade e latência para o primeiro episódio de imobilidade) (STERU *et al.*, 1985). O TCA é uma técnica utilizada para avaliar o comportamento espontâneo dos animais, no qual são observados parâmetros como a atividade locomotora e a exploração (WALSH e CUMMINS, 1976).

2.3 Análise da curva de tempo resposta do composto selecionado: A curva de tempo-resposta é usada para entender como uma característica específica evolui ao longo do tempo em uma população de entidades (FOCKE *et al.*, 2017). Com base nisso, após identificar o composto que exibiu a atividade antidepressiva por meio do TSC (3B) foi explorado o curso temporal de resposta do tipo antidepressiva significativa. Para isso, os animais foram divididos em cinco grupos: um grupo controle e quatro grupos tratados com o composto B (5 mg/kg, i.g.) em intervalos de pré-administração de 15, 30, 60 e 120 minutos antes do TSC. Anterior ao TSC, o animal foi submetido ao TCA.

2.4 Análise estatística: Todos os experimentos foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). As análises estatísticas foram conduzidas utilizando o software GraphPad Prism v.8.0.2. Foi realizada uma análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste *post hoc* de Dunnett, quando necessário. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes à triagem dos sais no TSC e no TCA estão apresentados na Figura 2. A ANOVA de uma via aplicada aos gráficos 2A e 2B não revelou diferenças significativas entre os grupos, indicando que não houve alteração locomotora [$F_{(4, 36)} = 1,185$; $p=0,3340$] e exploratória dos animais [$F_{(4, 36)} = 0,5614$; $p=0,6922$], demonstrando comportamento do tipo antidepressivo, semelhante a literatura (YUAN *et al.*, 2019).

No entanto, a análise estatística mostrou significância para os parâmetros de tempo total de imobilidade [$F_{(4, 36)} = 11,39; p<0,0001$] e latência para o primeiro episódio de imobilidade no TSC [$F_{(4, 36)} = 7,194; p=0,0002$] no TSC. Como ilustrado no gráfico 2C, os animais que apresentam maior tempo de latência foram aqueles pertencentes ao grupo do composto 3B e da FLX ($p=0,0012$ e $0,0005$, respectivamente). Os resultados na Figura 2D corroboram com o resultado anterior, havendo uma diminuição significativa do tempo total de imobilidade nos mesmos grupos ($p= 0,0023$ e $p= 0,0133$, respectivamente). Isto indica que o 3B pode melhorar significativamente o desespero comportamental de camundongos com depressão, sugerindo que tem efeitos semelhantes ao antidepressivo FLX (ZHANG et al., 2019).

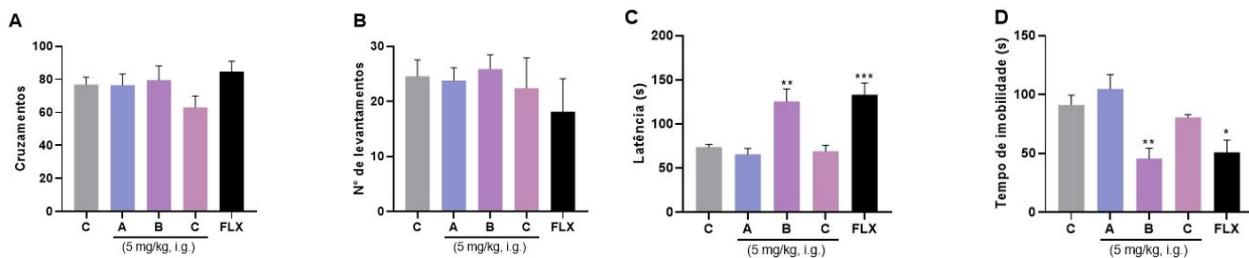


Figura 2. Triagem dos compostos 3A, 3B e 3C em camundongos Swiss machos. (A) Número de cruzamentos e (B) número de levantamentos sob patas traseiras no teste de campo aberto. (C) Latência para imobilidade e (D) tempo total de imobilidade no teste de suspensão pela cauda. Os resultados estão representados em média \pm EPM ($n = 7-9$ animais/grupo). ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Dunnert. * $p<0,05$, ** $p<0,01$ e *** $p<0,001$ comparado ao controle.

Os resultados quanto à curva tempo-resposta estão expostos na Figura 3. O teste de ANOVA de uma via não detectou efeitos significativos no TCA [$F_{(4, 42)} = 2,112; p=0,0963$] e [$F_{(4, 42)} = 1,120; p=0,3600$] (Fig. 3A e 3B), o que indica que não ocorreram alterações significativas na atividade motora espontânea dos animais (YUAN et al., 2019). Podemos concluir que, devido à preservação da função motora espontânea, o TSC se torna mais confiável. Se ocorre diminuição da locomoção, comprometeria a interpretação do TSC.

Por outro lado, no TSC, o gráfico 3C demonstra uma diferença estatisticamente expressiva no intervalo de 15 minutos no parâmetro da latência [$F_{(4, 42)} = 5,007; p=0,0022$], enquanto o gráfico 3D revela diferença significativa nos intervalos de 15, 30 e 60 minutos [$F_{(4, 42)} = 11,80; p<0,0001$]. Portanto, este resultado sugere que nesses intervalos o 3B imita os efeitos semelhantes aos antidepressivos convencionais (ZHANG et al., 2019). Essas moléculas precisam de testes *in vitro* e *in vivo* para fornecer informações sobre sua farmacocinética e biodisponibilidade, podendo ser um alvo terapêutico.

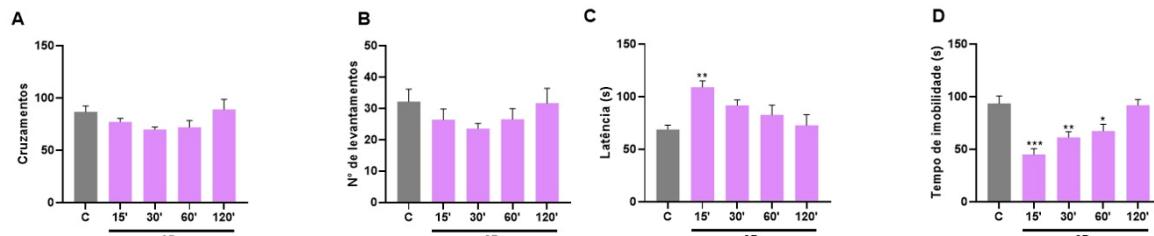


Figura 3. Curva de tempo-resposta para o composto 3B. (A) Número de cruzamentos e (B) número de levantamentos sob patas traseiras no TCA. (C) Latência para a imobilidade e (D) tempo total de imobilidade no TSC. Os resultados estão representados em média \pm EPM ($n = 9-10$ animais/grupo). ANOVA de uma

via seguido pelo teste *post hoc* de Dunnett. * $p<0,05$, ** $p<0,01$ e *** $p<0,001$ comparado ao controle.

4. CONCLUSÕES

Torna-se evidente que o composto 3B, administrado na dose de 5 mg/kg, exibe um efeito do tipo antidepressivo evidenciado pelo TSC e manteve esse efeito por até 60 minutos após a administração. Este estudo tem o potencial para impactar positivamente a sociedade, uma vez que a pesquisa de novos antidepressivos mais eficazes e com menos efeitos colaterais pode resultar em melhorias significativas na qualidade de vida dos pacientes resistentes a outros medicamentos. Para perspectivas futuras, está prevista a avaliação de sua eficácia em outro teste de ação antidepressiva, bem como a sua interação com o sistema serotoninérgico.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DING, W., et al. Selenium and human nervous system. **Chinese Chemical Letters**, China, v.34, n.7, p. 1-6, 2023.
- FOCKE, W.W., et al. Kinetic interpretation of log-logistic dose-time response curves. **Scientific Reports**, África do Sul, v.7, n.1, p.1-11, 2017.
- PENTEADO, Filipe et al. Regioselective Synthesis of 1-Sulfanyl- and 1-Selanylindolizines. **The Journal Of Organic Chemistry**, [S.L.], v. 84, n. 11, p. 7189-7198, 3 maio 2019. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.joc.9b00871>.
- SKRDLA, P. J. Estimating the maximal solubility advantage of drug salts. **International Journal of Pharmaceutics**, v.595, p.1-13, 2021.
- UMATHE, Sudhir N. et al. Involvement of endocannabinoids in antidepressant and anti-compulsive effect of fluoxetine in mice. **Behavioural Brain Research**, [S.L.], v. 223, n. 1, p. 125-134, set. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2011.04.031>.
- WANG, Shiben et al. Synthesis and Evaluation of Antidepressant Activities of 5-Aryl-4,5-dihydrotetrazolo [1,5-a]thieno[2,3-e]pyridine Derivatives. **Molecules**, [S.L.], v. 24, n. 10, p. 1857, 14 maio 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24101857>.
- YUAN, Haixia et al. Effect of catalpol on behavior and neurodevelopment in an ADHD rat model. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S.L.], v. 118, p. 109033, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109033>
- ZHANG, Shuang-Qing et al. Comparison of Bioavailability, Pharmacokinetics, and Biotransformation of Selenium-Enriched Yeast and Sodium Selenite in Rats Using Plasma Selenium and Selenomethionine. **Biological Trace Element Research**, [S.L.], v. 196, n. 2, p. 512-516, 9 nov. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12011-019-01935-9>.
- STERU, Lucien et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, [S.L.], v. 85, n. 3, p. 367-370, mar. 1985. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00428203>.
- WALSH, Roger N.; CUMMINS, Robert A.. The open-field test: a critical review.. **Psychological Bulletin**, [S.L.], v. 83, n. 3, p. 482-504, 1976. American Psychological Association (APA). <http://dx.doi.org/10.1037/0033-2909.83.3.482>.
- LIN, Simon X. et al. Pyridine alkaloids with activity in the central nervous system. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 28, n. 24, p. 115820, dez. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115820>.