

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:  
BIOQUÍMICA TOXICOLÓGICA**

**ENVOLVIMENTO DO SISTEMA DOPAMINÉRGICO  
NA AÇÃO DO TIPO ANTIDEPRESSIVA DO  
FENILSELENOMETIL EM CAMUNDONGOS FÊMEAS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Carla Elena Sartori Oliveira**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2013**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Sartori Oliveira, Carla Elena  
ENVOLVIMENTO DO SISTEMA DOPAMINÉRGICO NA AÇÃO DO TIPO  
ANTIDEPRESSIVA DO FENILSELENOMETIL EM CAMUNDONGOS FÊMEAS  
/ Carla Elena Sartori Oliveira.-2013.  
46 p.; 30cm

Orientador: Gilson Rogério Zeni  
Coorientadora: Cristina W. Nogueira  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de  
Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica  
Toxicológica, RS, 2013

1. Depressão 2. Selênio 3. Fenilselenometil 4.  
Camundongos 5. Sistema Dopaminérgico I. Zeni, Gilson  
Rogério II. W. Nogueira, Cristina III. Título.

**ENVOLVIMENTO DO SISTEMA DOPAMINÉRGICO  
NA AÇÃO DO TIPO ANTIDEPRESSIVA DO  
FENILSELENOMETIL EM CAMUNDONGOS FÊMEAS**

**Carla Elena Sartori Oliveira**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas,  
Área de Concentração em Bioquímica Toxicológica, da Universidade Federal de  
Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Mestre em Bioquímica Toxicológica**

**Orientador: Prof. Dr. Gilson Rogério Zeni**  
**Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cristina Wayne Nogueira**

**Santa Maria, RS, Brasil**  
**2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:  
BIOQUÍMICA TOXICOLÓGICA**

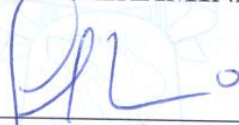
A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**ENVOLVIMENTO DO SISTEMA DOPAMINÉRGICO NA AÇÃO DO  
TIPO ANTIDEPRESSIVA DO FENILSELENOMETIL EM  
CAMUNDONGOS FÊMEAS**

elaborada por  
**Carla Elena Sartori Oliveira**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Bioquímica Toxicológica**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

  
\_\_\_\_\_  
**Gilson Rogério Zeni, Dr.**  
(Presidente/ Orientador)

  
\_\_\_\_\_  
**Lucielli Savegnago, Dr.<sup>a</sup>. (UFPEL)**

  
\_\_\_\_\_  
**Cristiano Ricardo Jesse, Dr. (UNIPAMPA)**

Santa Maria, 5 de agosto de 2013.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço acima de tudo a Deus pela vida, por me consolar nos momentos de fraqueza, por estar sempre comigo em todos os momentos da minha vida.

À minha mãe, pelo amor, dedicação, apoio incondicional pela educação e valores que me transmitiu nesses vinte e poucos anos. Também agradeço por você ser a melhor mãe que Deus poderia ter me dado, uma mulher guerreira trabalhadora que sempre procurou me dar bons exemplos, agradeço por me incentivar e proporcionar “apenas estudar” como dizem por ai, por não medir esforços para que eu realizasse meus sonhos e por tudo que você abdicou para que eu chegasse até aqui, MUITO OBRIGADA!!! por tudo, mãe eu te amo.

Ao Jaci, por cuidar da minha mãe, pelo carinho, preocupação e pelos momentos bons e divertidos que vivemos.

Ao meu querido namorado, Maiquel pelo carinho, amizade, companheirismo, pela paciência e compreensão quando eu preciso troca-lo pelos experimentos, pelo incentivo por tentar entender o meu trabalho, por me alegrar e contribuir para minha felicidade, enfim obrigada por existir.

À minha madrinha Neiva e minha prima Claudia por torcerem e acreditarem em mim.

À Ir. Glória Maria, Ir. Rosangela e todas as meninas da JUFEM pelas orações, pelo carinho, torcida e por me ajudarem a fortalecer minha fé.

Àos amigos das antigas, Taély, Rose, Dafni, Pequena, Aline, Jucelino, pelos velhos tempos, por torcerem para o meu sucesso e pela amizade.

À Cati pela parceria, amizade por estar sempre comigo e ser esta pessoa que me aguenta na alegria e na tristeza.

À minha médica Joice pelo apoio psiquiátrico, pelo carinho e incentivo.

À Rudinara pelo apoio psicológico, pelo incentivo e por me fazer ver a vida mais bela.

À professora Cristina por ser além de orientadora, um exemplo de profissional a ser seguido, por ser uma pessoa maravilhosa, pela oportunidade que me deu mesmo sem me conhecer, por nunca desistir de mim, mesmo quando eu mesma já não acreditava. Agradeço pela dedicação, carinho, conversas, incentivo. Enfim, por ser assim como você é, obrigada por tudo mesmo!!!

Ao GZ, pela orientação, pelo exemplo de pesquisador, apoio, incentivo, carinho e muitos momentos de descontração e risadas, muito obrigado.

Aos “antigos” colegas de laboratório, muito obrigado pela parceria e aprendizado.

Aos “atuais” colegas, Juliana, Crisinha, Marlon, Gláubia, Pietro, Tuka, Ana Paula, Carol, Zé, Marcel, Suzan, Suélen H., Suelen M, Vanessa A., Vava, Fran, Dani por tornarem o ambiente de trabalho agradável, alegre e descontraído.

À Tuka, pela amizade desde os primeiros tempos de ICs, pela parceria até altas horas lavando os tubos da MAO, pelas balares e pelos momentos ótimos que vivemos.

Aos colegas do lab GZ, muito obrigado pela parceria momentos agradáveis e síntese dos compostos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica.

À Lucielli e ao Cristiano por participarem da banca de avaliação dessa dissertação.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica pela oportunidade de realização deste curso.

Ao CNPq, CAPES e FAPERGS pelo auxílio financeiro para execução desse projeto.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

*“Aprender é a única coisa  
de que a mente nunca se cansa,  
nunca tem medo e nunca se arrepende.*

*Leonardo da Vinci”*

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica  
Universidade Federal de Santa Maria

### ENVOLVIMENTO DO SISTEMA DOPAMINÉRGICO NA AÇÃO DO TIPO ANTIDEPRESSIVA DO FENILSELENOMETIL EM CAMUNDONGOS FÊMEAS

AUTORA: CARLA ELENA SARTORI OLIVEIRA  
ORIENTADOR: PROF. DR. GILSON ROGÉRIO ZENI  
CO-ORIENTADORA: PROF<sup>a</sup> DR<sup>a</sup> CRISTINA WAYNE NOGUEIRA

Local e Data da Defesa: Santa Maria, 5 de agosto de 2013

A depressão é uma doença altamente incapacitante que atinge milhões de pessoas ao redor do mundo. Os tratamentos disponíveis para este transtorno embora eficazes apresentam efeitos adversos e altos índices de não responsividade ao tratamento. Moléculas orgânicas que contem selênio apresentam promissoras propriedades farmacológicas. Neste estudo, a ação do tipo antidepressiva do fenilseleniometil ( $\text{CH}_3\text{SePh}$ ) em camundongos fêmeas foi investigada utilizando-se o teste do nado forçado (TNF) e o teste de suspensão da cauda (TSC), que são modelos preditivos de atividade depressiva. Além disso, o envolvimento do sistema dopaminérgico na ação do tipo antidepressiva do  $\text{CH}_3\text{SePh}$  foi estudado. Os resultados comportamentais demonstraram que o  $\text{CH}_3\text{SePh}$  (25 e 50 mg/kg, administrado pela via intragastrica; i.g.) reduziu significativamente o tempo de imobilidade no TNF e no TSC (50 mg/kg, i.g.), sem alterar a locomoção quando analisados no teste do campo aberto (TCA). O efeito anti-imobilidade do  $\text{CH}_3\text{SePh}$  (50 mg/kg, i.g.) no TNF foi prevenido pelo pré-tratamento dos camundongos com haloperidol (0.2 mg/kg, administrado pela via intraperitoneal, i.p., antagonista dos receptores dopaminérgicos  $\text{D}_2$ ), SCH 23390 (R-(+)-8-chloro-2,3,4,5-tetrahydro-3-methyl-5-phenyl-1H-3-benzazepine-7-ol) (0.05 mg/kg, s.c., antagonista dos receptores dopaminérgicos  $\text{D}_1$ ) e sulpiride (50 mg/kg, i.p antagonista dos receptores dopaminérgicos  $\text{D}_2$  e  $\text{D}_3$ ). Estes resultados sugerem que o  $\text{CH}_3\text{SePh}$  produziu uma ação do tipo antidepressiva no TNF e TSC em camundongos, dois modelos bem aceitos para triagem de novas drogas com potencial antidepressivo. Portanto, a ação do tipo antidepressiva do  $\text{CH}_3\text{SePh}$ , uma molécula orgânica de selênio e de síntese simples, parece estar sendo mediada por uma interação com o sistema dopaminérgico.

**Palavras-chave:** Selênio, composto orgânico de selênio, antidepressivo, dopamina, camundongo.



## ABSTRACT

Dissertation of Master's Degree  
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

### ROLE OF DOPAMINERGIC SYSTEM ON THE ANTIDEPRESSANT-LIKE ACTION OF METHYL PHENYL SELENIDE IN FEMALE MICE

AUTHOR: CARLA ELENA SARTORI OLIVEIRA  
ADVISOR: GILSON ROGÉRIO ZENI  
CO-ADVISOR: CRISTINA WAYNE NOGUEIRA

Place and Date of the defense: Santa Maria, August 5, 2013.

Depression affects millions of people of different ages, races, religions and income at some period of their lives. The etiology of most mood disorders, although not fully understood, has come into sharper focus in the recent past. This might also be of relevance in psychiatry as a poor treatment response often results from giving every patient the same treatment. Selenium-containing molecules show promising pharmacological properties. The antidepressant-like action of methyl phenyl selenide (CH<sub>3</sub>SePh) in the mouse forced swimming test (FST) and the tail suspension test (TST), models predictive of depressant activity, were investigated in this study. Moreover, the involvement of dopaminergic system in the antidepressant-like action of CH<sub>3</sub>SePh was studied. The behavioral results showed that CH<sub>3</sub>SePh significantly reduced the immobility time in the FST (25 and 50 mg/kg, intragastrically; i.g.) and the TST (50 mg/kg, i.g.), without accompanying changes in ambulation when assessed in the open-field test (OFT). The anti-immobility effect of CH<sub>3</sub>SePh (50 mg/kg, intragastrically; i.g.) in the FST was prevented by pretreatment of mice with haloperidol (0.2 mg/kg, i.p., a dopamine D<sub>2</sub> receptor antagonist), SCH 23390 (R-(+)-8-chloro-2,3,4,5-tetrahydro-3-methyl-5-phenyl-1H-3-benzazepine-7-ol) (0.05 mg/kg, s.c., a dopamine D<sub>1</sub> receptor antagonist) and sulpiride (50 mg/kg, i.p., a dopamine D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> antagonist). These results suggest that CH<sub>3</sub>SePh produced an antidepressant-like action in the mouse FST and TST. The antidepressant-like action of CH<sub>3</sub>SePh, a simple selenium-containing molecule, seems most likely to be mediated through an interaction with the dopaminergic system.

Keywords: Selenium, organoselenium, antidepressant, dopamine, mice.

## LISTA DE FIGURAS

### INTRODUÇÃO

Figura 1 Vias dopaminérgicas no sistema nervoso central.....	15
Figura 2 Biossíntese de neurotransmissores, dopamina, norepinefrina e epinefrina.....	16
Figura 3 Neurotransmissão dopaminérgica. ....	17
Figura 4 (A) disseleneto de difenila, (B) disseleneto de <i>m</i> -trifluormetil-fenila, (C) ebselen ...	20
Figura 5 Estrutura química do Fenilselenometil.....	21

### ARTIGO

Tabela 1 Effect of CH <sub>3</sub> SePh administration on the behavioral parameters in the mouse open-field test (OFT) .....	26
Tabela 2 Effect of CH <sub>3</sub> SePh and dopaminergic receptor antagonists on the behavioral parameters in the mouse open-field test (OFT) .....	27
Figura 1 Chemical structure of methylphenylselenide (CH <sub>3</sub> SePh) .....	25
Figura 2 Effect of an acute administration of CH <sub>3</sub> SePh in the mouse tail suspension test (TST) and forced swimming test (FST) .....	26
Figura 3 Effect of pretreatment with haloperidol (“Hal”; 0.2 mg/kg, i.p.), SCH23390 (“SCH”; 0.05 mg/kg, s.c.) or sulpiride (“Sul”; 50 mg/kg, i.p.) on CH <sub>3</sub> SePh (50 mg/kg, i.g.) - induced reduction in the immobility time in the mouse FST .....	27

### ANEXO

Figura 1 Atividade da MAO-A in vitro .....	44
Figura 2 Atividade da MAO-B in vitro. ....	44
Figura 3 Efeito da glutatona (GSH) na inibição da atividade da MAO-B cerebral por CH <sub>3</sub> SePh <i>in vitro</i> ... ..	44

Figura 4 Efeito da cisteína na inibição da atividade da MAO-B cerebral por CH<sub>3</sub>SePh *in vitro*  
.....45

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**5-HT** – Serotonina

**AD** – adrenalina

**ATV** – área tegumental ventral

**DA** – dopamina

**INSS** – Instituto Nacional do Seguro Social

**MAO** – Monoamino oxidase

**NA** – noradrenalina

**TH** – tirosina hidroxilase

**TNF** – Teste do nado forçado

**TSC** – teste de suspensão da cauda

**WHO** – World Health Organization

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
1.1 SELÊNIO.....	19
1.1.1 COMPOSTOS ORGÂNICOS DE SELÊNIO .....	19
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>22</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	22
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	22
<b>3 RESULTADOS .....</b>	<b>23</b>
3.1 ARTIGO .....	24
<b>4 CONCLUSÃO.....</b>	<b>30</b>
<b>5 PERSPECTIVAS.....</b>	<b>31</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>32</b>
<b>7. ANEXO.....</b>	<b>42</b>
7.1 ANEXO A .....	42
7.1.1. OBJETIVO:.....	42
7.1.2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	42
<b>7.2 RESULTADOS .....</b>	<b>44</b>
<b>7.3 CONCLUSÃO.....</b>	<b>46</b>
7.4. REFERÊNCIAS:.....	47

## 1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (World Health Organization – WHO) a depressão é descrita como uma doença mental comum, caracterizada por sintomas como: tristeza, perda de interesse e prazer, sentimentos de culpa, baixa autoestima, distúrbios de sono e apetite, sensação de cansaço, bem como dificuldade de concentração e em casos graves pode levar ao suicídio, cerca de um milhão de casos ao ano. Esta doença mental tem um início precoce na adolescência, e idade adulta, a recorrência e cronicidade ao longo da vida estão associadas a prejuízo significativo nas funções sociais e ocupacionais, bem como da qualidade de vida (Kessler, 2009). Estima-se que atualmente 350 milhões de pessoas no mundo vivem com depressão, em 2020 esta será a segunda maior causa associada à incapacidade (WHO, 2012). Ademais, estudos epidemiológicos têm fornecido evidências para uma marcada diferença de sexo no risco de desenvolver depressão. Estudos de Heim et al. (2001) e Kessler (2009) têm demonstrado que mulheres são muito mais propensas a desenvolver transtornos depressivos que homens.

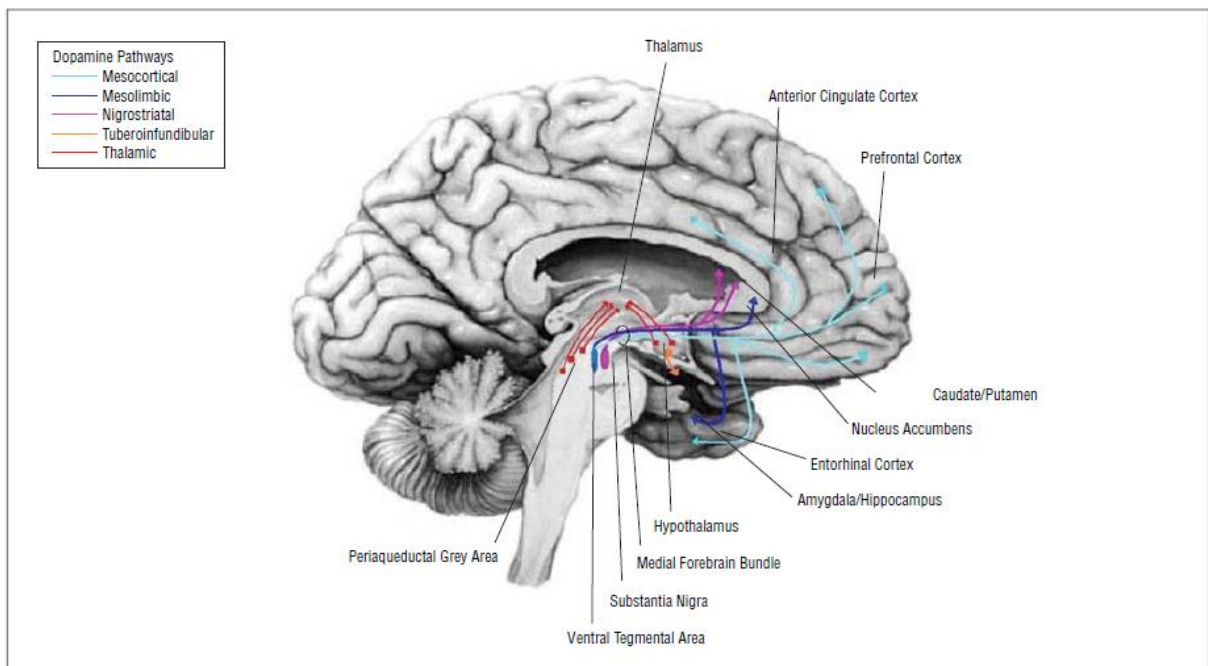
Diversas vias neurais estão relacionadas com a patofisiologia da depressão, sendo que um grande número de neurotransmissores está envolvido no mecanismo de ação de medicamentos usados no tratamento dessa doença (Altamura et al., 2008). A hipótese das monoaminas, baseada em uma disfunção na neurotransmissão monoaminérgica assim como, uma redução de monoaminas, como a serotonina (5-HT), a noradrenalina (NA), a adrenalina (AD) e a dopamina (DA), na fenda sináptica é comumente utilizada para explicar a gênese dos transtornos depressivos (Coppin, 1967; Hirschfeld, 2000; Altamura, 2008).

Muitos dos fármacos disponíveis para o tratamento da depressão desempenham seus efeitos por bloquearem a recaptção de neurotransmissores monoaminérgicos ou inibir a atividade da enzima monoamino oxidase (MAO), responsável pela desaminação oxidativa de aminas bioativas dentre estas, 5-HT, NA e DA (Mann, 2005; Belmaker e Agam, 2008). Em geral, os inibidores da MAO causam um aumento na concentração de monoaminas liberadas nos terminais nervosos, aumentando assim a atividade monoaminérgica cerebral (Yamada e Yasuhara, 2004).

Entretanto, apesar dos sistemas serotoninérgico e noradrenérgico, estarem bem relacionados com os transtornos depressivos, em 1965 foi postulado que a DA também pode estar envolvida em transtornos afetivos (Schildkraut, 1965). De fato, estudos têm reiterado

que as alterações no metabolismo e na sinalização da DA estão associadas à depressão (Dunlop e Nemeroff, 2007; Opmeer et al., 2010).

A DA é produzida em neurônios localizados, predominantemente em núcleos do tronco cerebral: região retro-rubro, substância negra pars compacta e área tegumental ventral (ATV). Além disso, diversas são as vias dopaminérgicas no sistema nervoso central, de especial interesse nos transtornos de humor, a via mesolímbica está relacionada à motivação, experiências prazerosas e recompensa. Esta via surge na área tegumental ventral com projeções no estriado ventral e terminal (incluindo o núcleo accumbens), hipocampo e amígdala. (Dunlop e Nemeroff, 2007).

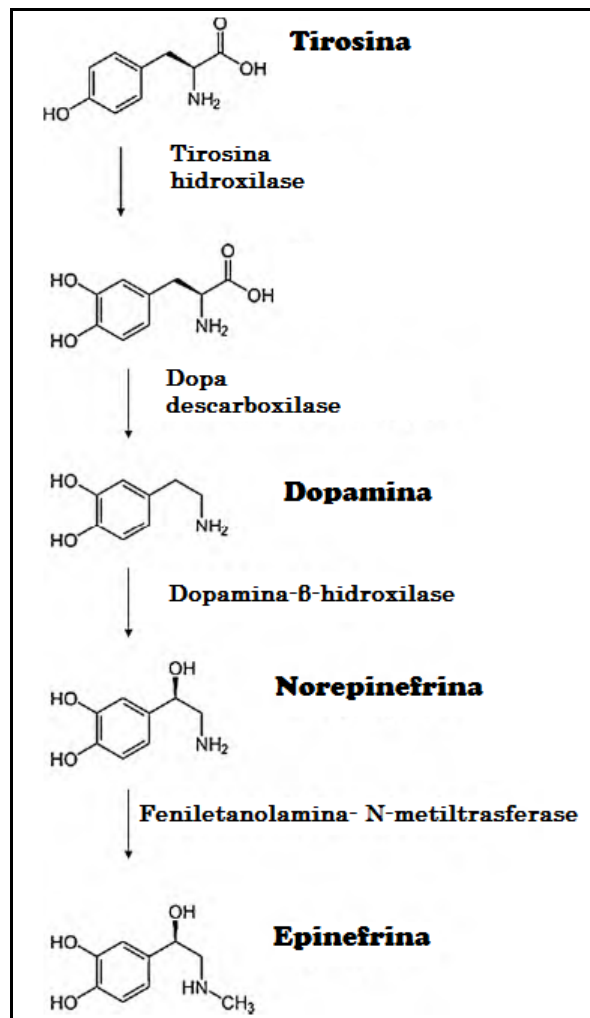


**Figura 1** Vias dopaminérgicas no sistema nervoso central. (Fonte: Dunlop, 2007).

A neurotransmissão dopaminérgica é um processo complexo que envolve entre outros, a biossíntese de neurotransmissor (DA), a interação deste com receptores pós sinápticos e a remoção por degradação enzimática ou por proteínas transportadoras especializadas, presentes no terminal pré sináptico (Opmeer et al., 2010).

A DA é sintetizada no citoplasma dos neurônios pré sinápticos a partir do aminoácido tirosina o qual é convertido pela enzima tirosina hidroxilase (TH) (enzima limitante da

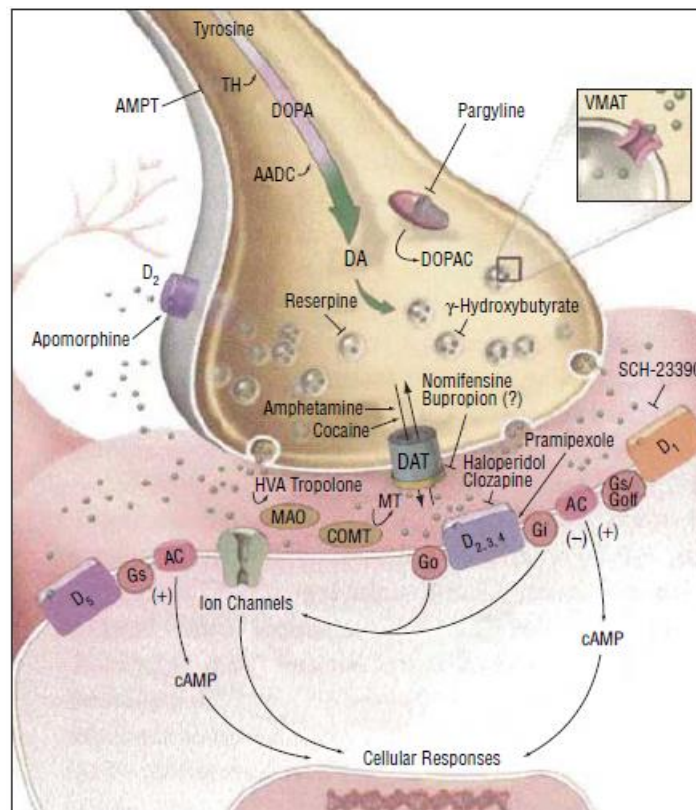
velocidade de síntese da DA) a diidroxifenilalanina e esta é convertida rapidamente a dopamina pela ação da enzima dopa descarboxilase. Em neurônios que utilizam a DA como neurotransmissor esta é a última modificação enzimática, porém em alguns neurônios a DA é convertida a NE pela dopamina- $\beta$ -hidroxilase e a NE pode ser transformada em epinefrina pela ação da feniletanolamina- N-metiltransferase (Nagatsu et al., 1964; Lovenberg et al., 1962; Kopin, 1968) (**Figura 2**) Estudos demonstraram que a inibição da TH, por  $\alpha$ -metilparatiroxina pode causar sintomas depressivos em indivíduos saudáveis (McCann et al., 1993; Laruelle et al., 1997; Fujita et al., 2000; Verhoeff et al., 2001, 2003). Assim como, polimorfismos em genes da TH foram associados a um aumento no risco de desenvolver depressão (Yoshida et al., 2008).



**Figura 2** Biossíntese de neurotransmissores, dopamina, norepinefrina e epinefrina. (Adaptado de Opmeer, 2010)



Após a liberação do terminal pré-sináptico, a DA exerce seus efeitos por ligar-se e ativar receptores acoplados a proteína G nos terminais pós-sinápticos. Estes receptores apresentam cinco subtipos os quais podem ser divididos em dois grupos: receptores do tipo D<sub>1</sub> (compreendem os subtipos D<sub>1</sub> e D<sub>5</sub>) e receptores do tipo D<sub>2</sub> (compreendem os subtipos D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> e D<sub>4</sub>) (Mansour et al 1998). A ligação de um agonista dos receptores D<sub>1</sub> e D<sub>5</sub> ativa a adenilato ciclase e o sistema de segundos mensageiros elevando as concentrações intracelulares de adenosina monofosfato cíclico (AMPc) e este por sua vez aumenta a atividade da proteína quinase A, resultando em mudanças na atividade de enzimas ou outras proteínas celulares. Estudos já demonstraram que alterações nos receptores acima descritos, podem afetar a afinidade destes por ligantes, os níveis de expressão dos mesmos, assim como a transdução de sinal e consequentemente, podem estar envolvidos nos transtornos depressivos (Lammers et al., 2000; Park et al., 2005; Opmeer et al., 2010).



**Figura 3** Neurotransmissão dopaminérgica. AMPT, alfa-metilparatirosina; AC adenilato ciclase; cAMP, adenosina monofosfato cíclico; COMT, catecol-*O*-metiltransferase; D1-D5, receptores dopaminérgicos subtipo 1 e 5; DA dopamina; DAT, transportador de dopamina; DOPA, 3,4 diidroxifenilalanina; DOPAC, ácido diidroxifenilacético; Gi, Go, Gs, subunidades proteicas; HVA, ácido homovanílico; MAO monoamino oxidase; MT, metoxitiramina; TH, tirosina hidroxilase.

Nos gânglios da base a DA é eliminada do espaço extracelular principalmente pela recaptação nos terminais nervosos pré-sinápticos, mediada pelo transportador de dopamina (Varoqui e Erickson 1997) Alterações genéticas nesse transportador estão associadas a um aumento no risco de desenvolver depressão (Lopez-Leon et al., 2008), assim como uma redução na atividade do mesmo no estriado está relacionada com um declínio da motivação e a depressão (Kapczinski et al; 2011). A degradação enzimática pela (MAO) e Catecol-O-metiltransferase (COMT) determina o fim dos efeitos da DA (Axelrod, 1957; Axelrod et al., 1958; Rosengren, 1960).

Os modelos animais para o estudo da depressão, embora não sejam totalmente fidedignos em mimetizar a depressão, ainda são ferramentas importantes para o desenvolvimento de novas moléculas. Ademais, existe a hipótese de que algumas espécies de animais possam apresentar comportamento do tipo depressivo (do inglês *depressive-like*), como o apresentado pelos humanos. Isso pode ser obtido, avaliando o comportamento do animal frente a um evento estressante inescapável (Duman, 2010). Nesse sentido, diversos modelos têm sido desenvolvidos para avaliar o comportamento do tipo depressivo em animais de laboratório (Cryan et al., 2002). Dentre estes, o teste do nado forçado (TNF) e o teste da suspensão da cauda (TSC) são modelos amplamente aceitos e utilizados para este propósito (Cryan et al; 2002; Stephanie et al 2005; Cryan et al; 2005a, Cryan et al; 2005b). O TNF descrito originalmente por Porsolt et al; 1977, é utilizado na triagem de novas drogas antidepressivas por detectar um amplo espectro de agentes antidepressivos, podendo ser aplicado tanto a ratos como camundongos. Assim como o TNF o TSC inicialmente descrito por (Steru *et al.*, 1985) é tradicionalmente empregado para o estudo de novos fármacos antidepressivos, no entanto este teste parece ser mais sensível, quando comparado ao FST, quanto a capacidade de detectar inibidores da receptação de 5-HT (Porsolt et al.,1977) além disso, somente pode ser empregado em camundongos.

Apesar dos esforços consideráveis para melhorar a eficácia do tratamento antidepressivo 50-60 % de todos os pacientes deprimidos permanecem parcialmente ou totalmente não responsivos ao tratamento disponível (Fava 2003). Além disso, segundo o Instituto Nacional do Seguro social (INSS) no Brasil, em torno de 74000 trabalhadores foram afastados de suas atividades gerando um custo de cerca de cerca de R\$ 12 milhões com pagamento de benefícios aos afastados por depressão. Segundo dados de um estudo epidemiológico divulgado em 2011, entre 18 países, o Brasil é o que tem maior incidência de depressão.

Nesse sentido, a busca por novos fármacos úteis nos transtornos de humor tornam-se necessárias.

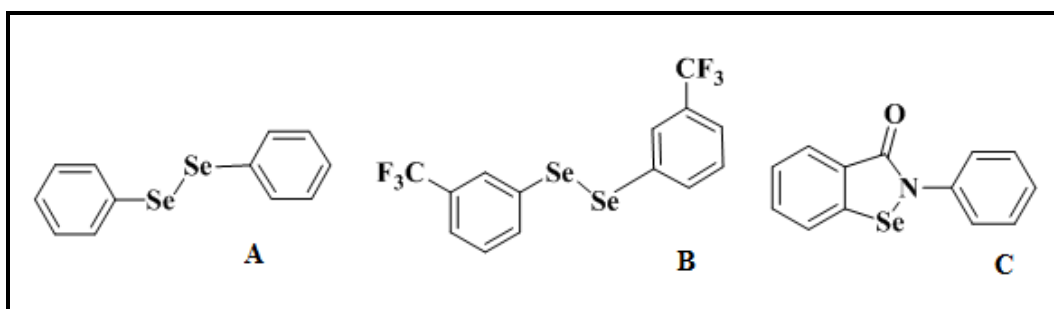
## 1.1 Selênio

O selênio é um não-metal, oriundo da família dos calcogênios (grupo 16 da tabela periódica) este elemento químico pode apresentar-se sob quatro estados de oxidação: selenato ( $\text{Se}^{+6}$ ), selenito ( $\text{Se}^{+4}$ ), selenio elementar ( $\text{Se}^0$ ) e seleneto ( $\text{Se}^{-2}$ ). Na natureza, o selênio existe sob a forma orgânica (selenocisteína, selenocistina e selenometionina) e inorgânica (selenito e selenato) (Nakamuro et al., 2000). As formas orgânicas são menos tóxicas e apresentam maior biodisponibilidade (Narajji et al., 2007). Nos mamíferos, este elemento traço é essencial e apresenta papéis fisiológicos importantes, como componente estrutural de sistemas enzimáticos antioxidantes envolvidas na decomposição de peróxidos, desempenha um papel importante em diversas via metabólicas, incluindo o metabolismo dos hormônios tireoidianos, a função imunológica, o crescimento celular (Ursini e Bindoli, 1987; Rayman et al., 2000, Stazi e Trinti, 2008). A Junta de Alimentação e Nutrição da Academia de Ciências dos Estados Unidos, recomenda para adultos, a ingestão diária de 50-200  $\mu\text{g}$  deste micronutriente mineral, porém de fato, quando a ingestão diária ultrapassa 400  $\mu\text{g}$ , excedendo a capacidade corporal de eliminação, o selênio pode provocar efeitos tóxicos, denominado selenoses. O selênio pode ser encontrado em alimentos como o alho, castanha-do-pará, cebola, brócolis, cogumelos, cereais, pescados, ovos e carnes (Dumont et al., 2006). Além disso, vários estudos demonstraram o importante papel do selênio nos transtornos do humor (Hawkes e Hornbostel, 1996; Sher, 2002). Baixos níveis deste elemento traço na dieta (32-36  $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) têm sido relacionados com um aumento na incidência de depressão e agressividade (Finley e Peland, 1988). Bem como, altos níveis de selênio na dieta ou a suplementação da mesma com esse elemento (226  $\mu\text{g}/\text{dia}$ ) melhoram o humor (Rayman et al., 2008).

### 1.1.1 Compostos orgânicos de selênio

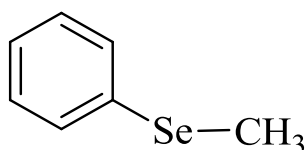
Os compostos orgânicos de selênio têm sido amplamente estudados por nosso grupo de pesquisa e também por outros grupos de pesquisa, uma vez que estas moléculas apresentaram uma diversidade de aplicações biológicas dentre estas, ação antioxidante (Bortolatto et al., 2013), antinociceptiva, (Chagas et al., 2013), anticonvulsivante (Wilhelm et al., 2012), ansiolítica (Bruning et al., 2008), assim como ação antidepressiva em modelos animais (Bortolatto et al., 2012) sendo que a dose mínima para esta ação depende da estrutura molecular, via de administração e espécie animal estudada (Nogueira e Rocha 2011).

Dentre os compostos orgânicos de selênio mais estudados por nosso grupo destacam-se o protótipo disseleneto de difenila (PhSe)<sub>2</sub> (**Figura 4 A**), (Nogueira e Rocha, 2004; 2010; Patai, 2012), o qual apresenta diversas propriedades farmacológicas em roedores, dentre estas, antioxidante (Luchese et al., 2007), anti-inflamatório (Nogueira et al., 2003a; Luchese et al., 2012) e antinociceptivo (Savegnago et al., 2007a), ansiolítica (Ghisleni et al., 2008) e ação antidepressiva, a qual pode estar relacionada à interação deste com os receptores de 5 HT, NA e DA (Savegnago et al; 2007b) Além de, exibir considerável lipofilicidade sendo capaz de atravessar a barreira hemato-encefálica (BHE) e alcançar o SNC (Prigol et al., 2010), onde este composto pode exercer seus efeitos farmacológicos ou toxicológicos. Ainda, o ebselen (**Figura 4C**) e o disseleneto de *m*-trifluorometil-fenila (*m*-CF<sub>3</sub>-PhSe)<sub>2</sub> (**Figura 4 A e B**), também são compostos bem estudados, os quais apresentam ação antidepressiva em roedores, o envolvimento do primeiro com o sistema noradrenérgico e dopaminérgico nesta ação, já foi reportado (Posser et al., 2009), o (*m*-CF<sub>3</sub>-PhSe)<sub>2</sub> desempenha sua ação antidepressiva por uma interação com os sistemas serotoninérgico e opióide (Bruning et al., 2011) além de, inibir seletivamente a atividade da MAO A *ex vivo*, subtipo da enzima MAO, responsável principalmente pela degradação da 5-HT (Brüning et al., 2009).



**Figura 4** Estrutura química do(A) disseleneto de difenila, (B) disseleneto de *m*-trifluorometil-fenila, (C) ebselen

Além desses, o composto  $\text{CH}_3\text{SePh}$  (**Figura 1**), um alquil seleneto, também tem despertado interesse em novas pesquisas, uma vez que já foi demonstrado que este composto, apresenta propriedade antineoplásica em roedores (Ip et al., 1998). Entretanto, pouco sobre as propriedades farmacológicas e toxicológicas desta molécula tem aparecido na literatura (Chen e Ziegler, 1994; Folmer et al., 2004).



**Figura 5** Estrutura química do Fenilselenometil

Os medicamentos atualmente disponíveis, apesar de serem clinicamente efetivas no tratamento da depressão, apresentam uma série de limitações, início de ação relativamente lento, além de efeitos colaterais a curto e longo prazo, os quais são grandes contribuintes para a descontinuação do tratamento (Páez-Pereda, 2005). Diante disso, a pesquisa por novas drogas com efeito antidepressivo, é de grande importância para o tratamento da depressão. Ademais considerando o envolvimento do composto  $\text{CH}_3\text{SePh}$  com o sistema dopaminérgico e a importância deste na patogênese dos transtornos depressivos, esta molécula contendo selênio torna-se uma promissora candidata à agente terapêutico da depressão.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Identificar a possível ação do tipo antidepressiva do composto fenilselenometil ( $\text{CH}_3\text{SePh}$ ) em camundongos e o envolvimento dos sistemas dopaminérgico nessa ação.

### **2.1 Objetivos específicos**

Considerando os aspectos mencionados, os objetivos específicos deste estudo compreenderam:

- Avaliar a possível ação do tipo antidepressiva do  $\text{CH}_3\text{SePh}$  em camundongos;
- Verificar se o sistema dopaminérgico (receptores  $\text{D}_1$ ,  $\text{D}_2$  e  $\text{D}_3$ ) está envolvido na ação do tipo antidepressiva do  $\text{CH}_3\text{SePh}$ .

### **3 Resultados**

Os resultados que fazem parte dessa dissertação estão apresentados na forma de um artigo científico. Os itens Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências Bibliográficas do artigo estão dispostos de acordo com a recomendação do periódico científico no qual foi publicado.

### 3.1 Artigo

## AÇÃO DO TIPO ANTIDEPRESSIVA DO FENILSELENOMETIL EM CAMUNDONGOS

## THE ANTIDEPRESSANT-LIKE ACTION OF METHYL PHENYL SELENIDE IN MICE

Carla Elena Sartori Oliveira, Bibiana Mozzaquatro Gai, Benhur Godoi, Gilson Zeni, Cristina  
Wayne Nogueira



European Journal of Pharmacology 690 (2012) 119–123





## Behavioural pharmacology

## The antidepressant-like action of a simple selenium-containing molecule, methyl phenyl selenide, in mice

Carla Elena Sartori Oliveira, Bibiana Mozzaquatro Gai, Benhur Godoi, Gilson Zeni\*, Cristina Wayne Nogueira\*

Laboratório de Síntese, Reatividade e Avaliação Farmacológica e Toxicológica de Organocalcogênicos, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria CEP 97105-900, RS, Brazil

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 27 April 2012  
 Received in revised form  
 4 June 2012  
 Accepted 9 June 2012  
 Available online 16 June 2012

## Keywords:

Selenium  
 Organoselenium  
 Antidepressant  
 Dopamine  
 Mice

## ABSTRACT

Selenium-containing molecules show promising pharmacological properties. The antidepressant-like action of CH<sub>3</sub>SePh in the mouse forced swimming test (FST) and the tail suspension test (TST), models predictive of depressant activity, were investigated in this study. Moreover, the involvement of dopaminergic system in the antidepressant-like action of CH<sub>3</sub>SePh was studied. The behavioral results showed that CH<sub>3</sub>SePh significantly reduced the immobility time in the FST (25 and 50 mg/kg, intragastrically; i.g.) and the TST (50 mg/kg, i.g.), without accompanying changes in ambulation when assessed in the open-field test (OFT). The anti-immobility effect of CH<sub>3</sub>SePh (50 mg/kg, intragastrically; i.g.) in the FST was prevented by pretreatment of mice with haloperidol (0.2 mg/kg, i.p., a dopamine D<sub>2</sub> receptor antagonist), SCH 23390 (R-(+)-8-chloro-2,3,4,5-tetrahydro-3-methyl-5-phenyl-1H-3-benzazepine-7-ol) (0.05 mg/kg, s.c., a dopamine D<sub>1</sub> receptor antagonist) and sulpiride (50 mg/kg, i.p., a dopamine D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> antagonist). These results suggest that CH<sub>3</sub>SePh produced an antidepressant-like action in the mouse FST and TST. The antidepressant-like action of CH<sub>3</sub>SePh, a simple selenium-containing molecule, seems most likely to be mediated through an interaction with the dopaminergic system.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

Depression affects millions of people of different ages, races, religions and income at some period of their lives. These mental diseases have an early onset in adolescence and young adulthood, take a recurring or chronic lifetime course and are associated with significant impairment in social and occupational functioning as well as reduced quality of life (Kessler and Wang, 2009). The etiology of most mood disorders, although not fully understood, has come into sharper focus in the recent past. Despite the large focus on the serotonin system, already in 1965 it was postulated that dopamine could be involved in affective disorders (Schildkraut, 1965). In fact, studies have reiterated that changes on dopamine metabolism and signaling are associated with depression (Dunlop and Nemeroff, 2007; Opmeer et al., 2010).

Studies have demonstrated the role of selenium in mood disorders (Hawkes and Hornbostel, 1996; Sher, 2007). In this view, the pharmacological properties of organoselenium compounds have been investigated (Nogueira et al., 2004; Nogueira and Rocha 2010) which include the antidepressant-like action

(Acker et al., 2009; Posser et al., 2009; Jesse et al., 2010a, 2010b; Gay et al., 2010; Brüning et al., 2011). Furthermore, evidence has been found to suggest that (CH<sub>3</sub>SePh), an alkyl selenide, could be oxidized by flavin monooxygenase isoenzymes generating its selenoxide in vivo (Chen and Ziegler, 1994). However, little about its pharmacological and toxicological properties has appeared in the literature (Ip et al., 1998; Folmer et al., 2004).

Considering the above reported, this study investigated the antidepressant-like action of CH<sub>3</sub>SePh in mice. Moreover, the involvement of dopaminergic system in the antidepressant-like action of CH<sub>3</sub>SePh was studied.

## 2. Materials and methods

## 2.1. Animals

The behavioral experiments were conducted using adult female Swiss mice (25–30 g). In order to avoid additional stress which may influence the behavior of the animals (Painsipp et al., 2011), female mice were randomly selected without monitoring the estrous cycle.

The animals were maintained at 22–25 °C with free access to water and food, under a 12:12 h light/dark cycle, with lights on at

\* Corresponding authors. Tel.: +55 55 3220 8140; fax: +55 55 3220 8978.  
 E-mail addresses: [gzeni@quimica.ufsm.br](mailto:gzeni@quimica.ufsm.br) (G. Zeni),  
[criswn@quimica.ufsm.br](mailto:criswn@quimica.ufsm.br) (C.W. Nogueira).

7:00 a.m. All manipulations were carried out between 08:00 a.m. and 04:00 p.m. and the experiments were performed according to a randomized schedule.

All tests were performed on separate groups of animals and each animal was used only once in each test. The animals were used according to the guidelines of the Committee on Care and Use of Experimental Animal Resources of the Federal University of Santa Maria, Brazil. The procedures in this study were performed in accordance with the NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. All efforts were made to minimize animals suffering and to reduce the number of animals used in the experiments.

## 2.2. Drugs

Methyl phenyl selenide ( $\text{CH}_3\text{SePh}$ , Fig. 1) was prepared and characterized in our laboratory by the method previously described by Paulmier (1986). Analysis of the  $^1\text{H}$ NMR and  $^{13}\text{C}$ NMR spectra showed analytical and spectroscopic data in full agreement with its assigned structure. The chemical purity of studied compound (99.9%) was determined by GC/MS. SCH23390 (R-(+)-8-chloro-2,3,4,5-tetrahydro-3-methyl-5-phenyl-1H-3-benzazepine-7-ol) was purchased from Sigma (St Louis, USA). All other chemicals were obtained of analytical grade or from standard commercial suppliers.

To behavioral tests, all drugs were dissolved in saline except  $\text{CH}_3\text{SePh}$  which was dissolved in canola oil and administered intragastrically, (i.g.). Mice received  $\text{CH}_3\text{SePh}$  in a constant volume of 10 ml/kg of body weight. Appropriate vehicle-treated groups were also simultaneously assessed.

## 2.3. Behavioral tests

### 2.3.1. Tail suspension test (TST)

The TST is a frequently used test for predicting antidepressant activity (Porsolt et al., 1987). The total duration of immobility induced by tail suspension was measured according to the method described by Steru et al., (1985). Briefly, animals both acoustically and visually isolated were suspended 50 cm above the floor by adhesive tape placed approximately 1 cm from the tip of the tail. Immobility time was recorded during a 6-min period. Mice were considered immobile only when they hung passively and were completely motionless.

### 2.3.2. Forced swimming test (FST)

The FST, as originally described by Porsolt et al. (1977a, 1977b), is the most widely used pharmacological assay for assessing antidepressant activity. In this test, mice were individually forced to swim in an open cylindrical container (diameter 10 cm, height 25 cm), containing 19 cm of water at  $25 \pm 1$  °C. The total duration of immobility was recorded during the last 4 min of the 6-min period. Each mouse was judged to be immobile when it ceased struggling and remained floating motionless in the water, making only those movements necessary to keep its head above water. A decrease in the duration of immobility is indicative of an antidepressant-like action (Porsolt et al., 1977a, 1977b).

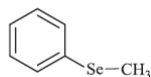


Fig. 1. Chemical structure of methylphenyl selenide ( $\text{CH}_3\text{SePh}$ ).

### 2.3.3. Open-field test (OFT)

The locomotor and exploratory activities of mice were evaluated in the open-field test aiming to investigate the effects of  $\text{CH}_3\text{SePh}$ , haloperidol, sulpiride and SCH23390 (dopaminergic antagonists) and  $\text{CH}_3\text{SePh}$  and dopaminergic antagonists administration. The open-field was made of plywood and surrounded by walls 30 cm in height. The floor of the open-field, 40 cm in length and 40 cm in width, was divided by masking tape markers into 9 squares (3 rows of 3). Mice were placed individually at the center of the apparatus and observed for 6 min to record the locomotor (number of segments crossed with the four paws) and exploratory activities (expressed by the number of time rearing on the hind limbs) (Walsh and Cummins, 1976).

## 2.3.4. Experimental procedure

**2.3.4.1. Time-course.** To assess the time-course of the antidepressant-like action of  $\text{CH}_3\text{SePh}$ , mice were separated into three groups (30, 45 and 60 min) with six animals each. Mice were pretreated with  $\text{CH}_3\text{SePh}$  (50 mg/kg, i.g.) or canola oil (10 ml/kg, i.g.) 30, 45 and 60 min before TST. The time point of maximal antidepressant-like action was chosen to perform additional experiments.

**2.3.4.2. Antidepressant-like action of  $\text{CH}_3\text{SePh}$  in the TST and FST.** The antidepressant-like action of  $\text{CH}_3\text{SePh}$  was carried out in mice, which were divided into four groups (control, 10, 25 and 50 mg/kg) with eight mice each.  $\text{CH}_3\text{SePh}$  was administered at doses of 10, 25 and 50 mg/kg, i.g., 30 min before TST or FST. The control group received canola oil, (10 ml/kg, i.g.), 30 min before TST or FST.

**2.3.4.3. Locomotor activity.** Since hyperactivity could lead to a misinterpretation of antidepressant-like data, the possible effect of  $\text{CH}_3\text{SePh}$  on locomotor and exploratory activities of mice were evaluated in the OFT. After 30 min of  $\text{CH}_3\text{SePh}$  (10, 25 and 50 mg/kg, i.g.) or canola oil (10 ml/kg, i.g.) administration, mice (six animals/group) were placed individually at the center of the apparatus and observed for 6 min to record the locomotor (number of segments crossed with the four paws) and exploratory activities.

**2.3.4.4. Involvement of the dopaminergic system.** To study the possible contribution of dopaminergic receptors in the antidepressant-like action of  $\text{CH}_3\text{SePh}$ , separate groups of animals (six mice/group) were pretreated with haloperidol (0.2 mg/kg, i.p., a dopamine  $D_2$  receptor antagonist), SCH23390 (0.05 mg/kg, s.c., a dopamine  $D_1$  receptor antagonist), sulpiride (50 mg/kg, i.p., a dopamine  $D_2$  and  $D_3$  antagonist) or saline (10 mg/kg, i.p.). After 15 min, they received  $\text{CH}_3\text{SePh}$  (50 mg/kg, i.g.) or canola oil (10 ml/kg, i.g.) and 30 min later, mice were tested in the FST. In order to investigate whether the administration of  $\text{CH}_3\text{SePh}$  with haloperidol, SCH23390 or sulpiride impairs motor abilities, mice (7–8 animals/group) were tested in the OFT.

The doses and administration schedule of dopaminergic receptor antagonist drugs were chosen based on previous studies (Capra et al., 2010; Jesse et al., 2010a), which confirm the selectivity and efficacy of above-mentioned treatments at doses used.

## 2.4. Statistical analysis

The results are presented as the mean(s)  $\pm$  S.E.M. Statistical analysis was performed by the D'Agostino & Pearson omnibus normality test and the statistically significant difference between groups was calculated by means of one-way (all behavioral tests

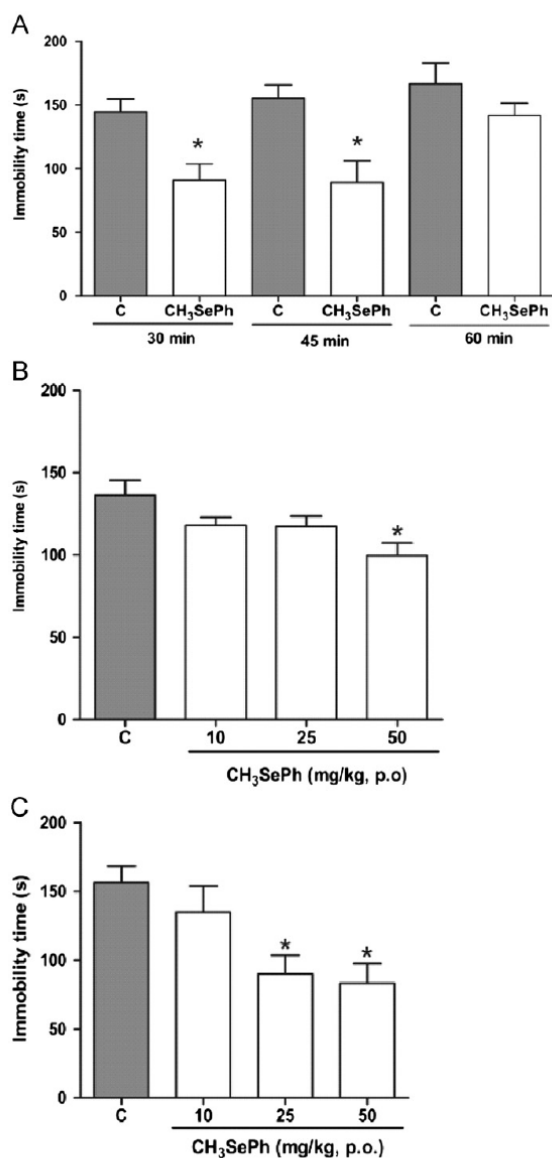


Fig. 2. Effect of an acute administration of CH<sub>3</sub>SePh in the mouse tail suspension test (TST) and forced swimming test (FST). CH<sub>3</sub>SePh (50 mg/kg) was administered 30, 45 and 60 min before the TST (panel A). CH<sub>3</sub>SePh (10–50 mg/kg) was intragastrically administered 30 min before the TST (panel B) and FST (panel C). Values are expressed as the mean(s) ± S.E.M. of six animals/group (panel A) or eight animals/group (panel B and panel C). Animals in the control group (C) received canola oil (vehicle). \**P* < 0.05 when compared to the control group (one-way ANOVA followed by the Duncan's pairwise multiple comparison's test).

except involvement of the dopaminergic system) or two-way (CH<sub>3</sub>SePh × dopaminergic antagonists) analysis of variance (ANOVA) followed by the Duncan's pairwise multiple comparison's test when appropriate. Probability values less than 0.05 (*P* < 0.05) were considered as statistically significant.

**Table 1**  
Effect of CH<sub>3</sub>SePh administration on the behavioral parameters in the mouse open-field test (OFT).

Experimental groups	Number of crossings	Number of rearings
Control	58.50 ± 16.13	37.25 ± 5.79
CH <sub>3</sub> SePh (mg/kg)		
10	69.00 ± 6.05	53.00 ± 11.92
25	61.00 ± 20.16	43.00 ± 17.90
50	63.50 ± 21.62	40.50 ± 7.86

CH<sub>3</sub>SePh (10, 25 and 50 mg/kg) was administered, i.g., 30 min before the test. Values are expressed as the mean(s) ± S.E.M. of six mice/group. Animals in the control group received canola oil (vehicle). Statistical analysis was performed by D'Agostino & Pearson omnibus normality test and one-way ANOVA.

### 3. Results

#### 3.1. Effect of CH<sub>3</sub>SePh in the mouse TST

A time-course analysis of the antidepressant-like profile of CH<sub>3</sub>SePh in the TST was accomplished. The antidepressant-like action of CH<sub>3</sub>SePh reached its peak at 30 min after, i.g., administration (*P* < 0.05, Fig. 2A). CH<sub>3</sub>SePh at 60 min after, i.g., administration did not alter the total immobility time when compared to the control group (*P* > 0.05). Thus, the time point (30 min) of the maximum effect of CH<sub>3</sub>SePh was chosen for all further studies (Fig. 2A).

Fig. 2B shows the immobility time of CH<sub>3</sub>SePh treated animals in the TST. Post-hoc analysis showed that CH<sub>3</sub>SePh at the dose of 50 mg/kg, given 30 min earlier by, i.g., route, significantly decreased the immobility time by 26.9% in the TST when compared to the control group (*P* < 0.05).

#### 3.2. Effect of CH<sub>3</sub>SePh in the mouse FST

The effect of CH<sub>3</sub>SePh on the immobility time of mice in the FST is shown in Fig. 2C. Post-hoc analysis revealed that CH<sub>3</sub>SePh at doses of 25 and 50 mg/kg (via i.g., 30 min earlier) decreased the immobility time by 31% in the FST (*P* < 0.05).

#### 3.3. Effect of CH<sub>3</sub>SePh in the mouse OFT

Table 1 shows the effect of CH<sub>3</sub>SePh treatment on the spontaneous locomotor activity of mice in the OFT. CH<sub>3</sub>SePh given by, i.g., route, at all doses tested, did not produce any significant change in the number of crossings and rearings when compared to the control group (*P* > 0.05).

#### 3.4. The involvement of dopaminergic receptors on the antidepressant-like action of CH<sub>3</sub>SePh

Fig. 3 shows the effect of pretreatment of mice with dopaminergic receptor antagonists on the antidepressant-like action of CH<sub>3</sub>SePh. Post-hoc analysis revealed that the antidepressant-like action of CH<sub>3</sub>SePh in the FST was significantly blocked by haloperidol (*P* = 0.0051; Fig. 3A), SCH 23390 (*P* = 0.0047; Fig. 3B) and sulpiride pretreatments (*P* = 0.0486; Fig. 3C). The administration of CH<sub>3</sub>SePh and dopaminergic receptor antagonists to mice did not alter the number of crossings and rearings in the OFT (Table 2).

### 4. Discussion

In this study, we provided behavioral evidence for the antidepressant-like action produced by CH<sub>3</sub>SePh in mice. Further,



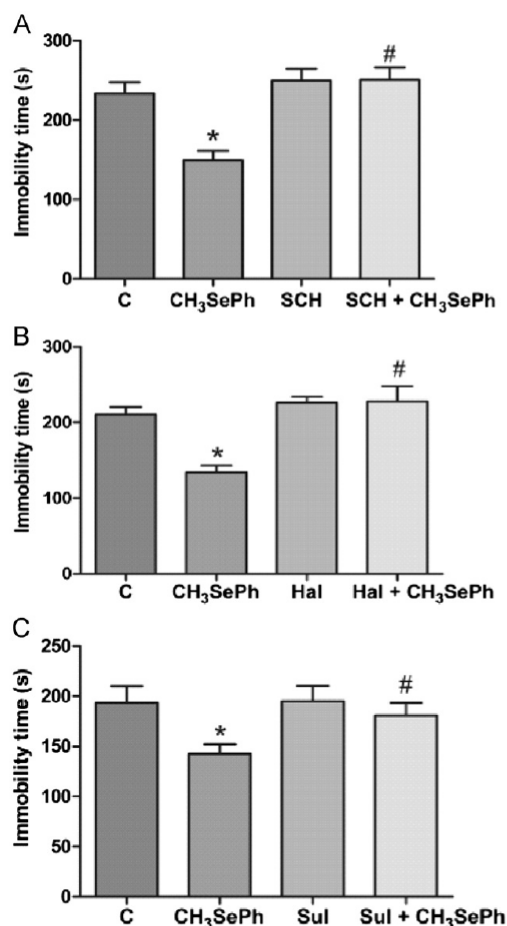


Fig. 3. Effect of pretreatment with haloperidol ("Hal"; 0.2 mg/kg, i.p.), SCH 23390 ("SCH"; 0.05 mg/kg, s.c.) or sulpiride ("Sul"; 50 mg/kg, i.p.) on CH<sub>3</sub>SePh (50 mg/kg, i.g.)-induced reduction in the immobility time in the mouse FST. CH<sub>3</sub>SePh was administered 15 min after antagonists and 30 min before the test. Values are expressed as the mean(s) ± S.E.M. of six mice/group. Data were analyzed by two-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Duncan's pairwise multiple comparison's test. \**P* < 0.001 when compared to the control (C) group; #*P* < 0.0001 as compared to the CH<sub>3</sub>SePh group pretreated with vehicle. Animals in the control group received, i.g., administration of canola oil and, i.p., injection of saline.

the behavioral tests demonstrated that CH<sub>3</sub>SePh administered by, i.g., route produced a significant antidepressant-like action in the two most widely accepted animal models for screening the antidepressant activity of several classes of drugs (Cryan et al., 2002). Moreover, CH<sub>3</sub>SePh elicited its behavioral effects without modifying locomotor and exploratory activities.

In this context, CH<sub>3</sub>SePh elicited an antidepressant-like action in the mouse TST and FST, demonstrated by a decrease in the total immobility time in both tests. Immobility is thought to reflect either a failure to persist in escape directed behavior after persistent stress or the development of passive behavior that disengages the animal from active forms of coping with stressful stimuli (Porsolt et al., 1977a, 1977b). In addition, CH<sub>3</sub>SePh at doses that produced antidepressant-like action did not alter locomotor activity in the OFT. This result indicates that a

Table 2  
Effect of CH<sub>3</sub>SePh and dopaminergic receptor antagonists on the behavioral parameters in the mouse open-field test (OFT).

Experimental groups	Number of crossings	Number of rearings
Control	85.00 ± 2.27	40.88 ± 2.56
CH <sub>3</sub> SePh	83.43 ± 9.46	31.13 ± 3.54
Haloperidol	68.07 ± 10.18	31.14 ± 2.55
Haloperidol+CH <sub>3</sub> SePh	67.85 ± 7.77	25.50 ± 5.14
SCH23390	91.16 ± 8.82	35.00 ± 3.97
SCH23390+CH <sub>3</sub> SePh	72.48 ± 17.54	28.25 ± 5.28
Sulpiride	85.69 ± 5.94	34.43 ± 3.51
Sulpiride+CH <sub>3</sub> SePh	64.56 ± 10.60	23.43 ± 6.00

The animals were pretreated with haloperidol (0.2 mg/kg, i.p.), SCH23390 (0.05 mg/kg, s.c.), sulpiride (50 mg/kg, i.p.) or saline (10 ml/kg, i.p.). After 15 min, they received CH<sub>3</sub>SePh (50 mg/kg, i.g.) or canola oil (10 ml/kg, i.g.) and 30 min later mice were tested in the OFT. Values are expressed as the mean(s) ± S.E.M. of seven-eight mice/group. Statistical analysis was performed by D'Agostino & Pearson omnibus normality test and two-way ANOVA. Animals in the control group received canola oil (vehicle).

psychostimulant action is not responsible for the decrease in the immobility elicited by CH<sub>3</sub>SePh in both the FST and TST. The behavioral changes induced by CH<sub>3</sub>SePh are in agreement with previous studies of our research group which have shown the antidepressant-like action of other organoselenium compounds (Acker et al., 2009; Posser et al., 2009; Jesse et al., 2010a, 2010b; Gay et al., 2010; Brüning et al., 2011).

Recent studies have reported the important role of dopamine in the pathophysiology of depression (Pittenger and Duman, 2008; Opmeer et al., 2010). Thus, in order to investigate a possible contribution of the dopamine transmission in the antidepressant-like action of CH<sub>3</sub>SePh in the FST, animals were pretreated with dopaminergic receptor antagonists: haloperidol, SCH 23390 and sulpiride. It is interesting to notice that all dopaminergic receptor antagonists blocked the antidepressant-like action elicited by CH<sub>3</sub>SePh in the FST, suggesting the involvement of D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> receptors in the CH<sub>3</sub>SePh action. It is also important to emphasize that the administration of CH<sub>3</sub>SePh and dopaminergic receptor antagonists to mice did not alter locomotor activity in the OFT. Indeed, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> receptors have been suggested to play a role in the action mechanism of drugs such as bupropion, nomifensine (Renard et al., 2001) and tramadol (Jesse et al., 2010a) in the FST. Thus we assume that could CH<sub>3</sub>SePh facilitate the dopaminergic neurotransmission, leading to the indiscriminate activation of all dopaminergic receptors in brains of mice. Accordingly, the dopamine reuptake inhibitor, bupropion, has clinically been proven to improve depression in humans by increasing concentrations of dopamine in the synaptic cleft. Bupropion treatment leads to an increase in the transmission of dopaminergic signals which is responsible at least in part for its antidepressant actions (Piacentini et al., 2003).

While it appears that the antidepressant-like effect of CH<sub>3</sub>SePh acts through the dopamine system, this effect could also be produced by dopamine reuptake inhibition or dopamine release, which was not investigated in this study. Moreover, we cannot rule out the involvement of other neurotransmitter systems in CH<sub>3</sub>SePh antidepressant-like action.

## 5. Conclusion

In conclusion, the results of this study showed that CH<sub>3</sub>SePh, a simple selenium-containing molecule, produced an antidepressant-like action in the mouse FST and TST. The antidepressant-like action of CH<sub>3</sub>SePh seems most likely to be mediated through an interaction with the dopaminergic system. The findings reported

in this study have clinical relevance of drug discovery research, since CH<sub>3</sub>SePh is a drug that interacts with dopaminergic neurotransmission.

### Acknowledgements

The authors declare that they have no personal and competing financial interests. The financial support by UFSM, CAPES, CNPq (PIBIC) and FAPERGS/CNPq (PRONEX) research grant # 10/0005-1 is gratefully acknowledged.

### References

- Acker, C.I., Luchese, C., Prigol, M., Nogueira, C.W., 2009. Antidepressant-like effect of diphenyldiselenide on rats exposed to malathion: involvement of Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPase activity. *Neurosci. Lett.* 455, 168–172.
- Brüning, C.A., Souza, A.C., Gai, B.M., Zeni, G., Nogueira, C.W., 2011. Antidepressant-like effect of m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide in the mouse forced swimming test involves opioid and serotonergic systems. *Eur. J. Pharmacol.* 658, 145–149.
- Capra, J.C., Cunha, M.P., Machado, D.G., Zomkowski, A.D., Mendes, B.G., Santos, A.R., Pizzolatti, M.G., Rodrigues, A.L., 2010. Antidepressant-like effect of scopoletin, a coumarin isolated from *Polygala sabulosa* (Polygalaceae) in mice: evidence for the involvement of monoaminergic systems. *Eur. J. Pharmacol.* 643, 232–238.
- Chen, G.P., Ziegler, D.M., 1994. Liver microsome and flavin-containing monooxygenase catalyzed oxidation of organic selenium compounds. *Arch. Biochem. Biophys.* 312, 566–572.
- Cryan, J.F., Markou, A., Lucki, I., 2002. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol. Sci.* 23, 238–245.
- Dunlop, B.W., Nemeroff, C.B., 2007. The role of dopamine in the pathophysiology of depression. *Arch. Gen. Psychiatry.* 64, 327–337.
- Folmer, V., Farina, M., Maciel, E.N., Nogueira, C.W., Zeni, G., Emanuelli, T., Rocha, J.B.T., 2004. Methyl phenyl selenide causes heme biosynthesis impairment and its toxicity is not modified by dimethyl sulphoxide in vivo. *Drug. Chem. Toxicol.* 27, 331–340.
- Gay, B.M., Prigol, M., Stein, A.L., Nogueira, C.W., 2010. Antidepressant-like pharmacological profile of 3-(4-fluorophenylselenenyl)-2,5-diphenylselenophene: involvement of serotonergic system. *Neuropharmacology* 59, 172–179.
- Hawkes, W.C., Hornbostel, L., 1996. Effects of dietary selenium on mood in healthy men living in a metabolic research unit. *Biol. Psychiatry.* 39, 121–128.
- Ip, C., Lisk, D.J., Ganther, H.E., 1998. Activities of structurally-related lipophilic selenium compounds as cancer chemopreventive agents. *Anticancer Res.* 18, 4019–4025.
- Jesse, C.R., Wilhelm, E.A., Bortolatto, C.F., Nogueira, C.W., 2010a. Evidence for the involvement of the noradrenergic system, dopaminergic and imidazole receptors in the antidepressant-like effect of tramadol in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 95, 344–350.
- Jesse, C.R., Wilhelm, E.A., Bortolatto, C.F., Nogueira, C.W., 2010b. Evidence for the involvement of the serotonergic 5-HT<sub>2A/C</sub> and 5-HT<sub>3</sub> receptors in the antidepressant-like effect caused by oral administration of biselenide in mice. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 34, 294–302.
- Kessler, R.C., Wang, P.S., 2009. Epidemiology of depression. In: Gotlib, I.H., Hammen, C.L. (Eds.), *Handbook of Depression*. Guilford Press, New York, NY, pp. 5–22.
- Nogueira, C.W., Rocha, J.B.T., 2010. Diphenyl diselenide a janus-faced molecule. *J. Brazil. Chem. Soc.* 21, 2055–2071.
- Nogueira, C.W., Zeni, G., Rocha, J.B.T., 2004. Organoselenium and organotellurium compounds. *Toxicology and pharmacology.* *Chem. Rev.* 104, 6255–6285.
- Opmeer, E.M., Kortekaas, R., Aleman, A., 2010. Depression and the role of genes involved in dopamine metabolism and signaling. *Prog. Neurobiol.* 92, 112–133.
- Painsipp, E., Köfer, M.J., Sinner, F., Holzer, P., 2011. Prolonged depression-like behavior caused by immune challenge: influence of mouse strain and social environment. *PLoS. One* 6, 1–11.
- Paulmier, C., 1986. Selenium Reagents and Intermediates in Organic Synthesis, first ed. Pergamon Press, Oxford, England, UK, pp. 25–51.
- Piacentini, M.F., Clinckers, R., Meeusen, R., Sarre, S., Ebinger, G., Michotte, Y., 2003. Effects of bupropion on hippocampal neurotransmitters and on peripheral hormonal concentrations in the rat. *J. Appl. Physiol.* 95, 652–656.
- Pittenger, C., Duman, R.S., 2008. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 33, 88–109.
- Porsolt, R.D., Bertin, A., Jalfre, M., 1977a. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch. Intern. Pharmacol. Ther.* 299, 327–336.
- Porsolt, R.D., Chermat, R., Lenegre, A., Avril, I., Janvier, S., Steru, L., 1987. Use of the automated tail suspension test for the primary screening of psychotropic agents. *Arch. Intern. Pharmacol. Ther.* 288, 11–30.
- Porsolt, R.D., Le Pichon, M., Jalfre, M., 1977b. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266, 730–732.
- Posser, T., Kaster, M.R., Barauna, S.C., Rocha, J.B.T., Rodrigues, A.L.S., Leal, R.B., 2009. Antidepressant-like effect of the organoselenium compound ebselen in mice: evidence for the involvement of the monoaminergic system. *Eur. J. Pharmacol.* 602, 85–91.
- Renard, C.E., Fiocco, A.J., Clenet, F., Hascoet, M., Bourin, M., 2001. Is dopamine implicated in the antidepressant-like effects of selective serotonin reuptake inhibitors in the mouse forced swimming test? *Psychopharmacology* 159, 42–50.
- Schildkraut, J.J., 1965. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am. J. Psychiatry.* 122, 509–522.
- Sher, L., 2007. Possible role of selenium deficiency in the neurobiology of depression and suicidal behavior in patients with alcohol use disorders. *Int. J. Disabil. Hum. Dev.* 6, 227–230.
- Steru, L., Chermat, R., Thierry, B., Simon, P., 1985. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology* 85, 367–370.
- Walsh, R.N., Cummins, R.A., 1976. The open-field test: a critical review. *Psychol. Bull.*

## 4 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados nesta dissertação permitem concluir que o composto fenilselenometil ( $\text{CH}_3\text{SePh}$ ) apresentou ação do tipo antidepressiva em camundongos no teste do nado forçado e no teste de suspensão da cauda e esta ação é possivelmente mediada pelo sistema dopaminérgico. Desta forma, esta molécula simples de selênio torna-se uma promissora candidata à possível agente terapêutico para o tratamento dos transtornos depressivos, mediante estudos mais aprofundados em torno desta molécula.

## 5 Perspectivas

Tendo em vista os resultados obtidos com esse trabalho, as perspectivas para trabalhos posteriores são:

- Determinar os níveis de neurotransmissores e seus metabólitos nas estruturas cerebrais (córtex e hipocampo).
- Avaliar o envolvimento de outros sistemas como o serotoninérgico e noradrenérgico na ação antidepressiva do CH<sub>3</sub>SePh.
- Avaliar o efeito do CH<sub>3</sub>SePh em modelos crônicos de depressão

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTAMURA, A.C., DELL'OSSO, B., SERATI, M., CIABATTI, M., BUOLI, M., 2008. Recent assessments on the neurobiology of major depression: a critical review. **Rivista di Psichiatria** 43, 185-207.

AXELROD, J., 1957., O-methylation of epinephrine and other catechols in vitro and in vivo. **Science** 126, 400-401.

BORTOLATTO, C.F., WILHELM, E. A., CHAGAS, P. M., NOGUEIRA, C. W., 2012. p-Chloro-diphenyl diselenide, an organoselenium compound, with antidepressant-like and memory enhancer actions in aging male rats. **Biogerontology** 13, 237-49.

BORTOLATTO, C.F., CHAGAS, P. M., WILHELM, E. A., ZENI, G., NOGUEIRA, C. W., 2013. 2,2'-dithienyl diselenide, an organoselenium compound, elicits antioxidant action and inhibits monoamine oxidase activity in vitro. **J Enzyme Inhib Med Chem** 28, 677-84.

BRÜNING, C. A.; SOUZA, A. C. G.; GAI, B. M.; ZENI, G.; NOGUEIRA, C. W. Antidepressant-like effect of m- trifluoromethyl-diphenyl diselenide in the mouse forced swimming test involves opioid and serotonergic systems. **Eur. J. Pharmacol.**, 658, 145-9, 2011.

BRÜNING, C.A., PRIGOL, M., ROEHRS, J.A., NOGUEIRA, C.W., ZENI, G., 2009. Involvement of the serotonergic system in the anxiolytic-like effect caused by m-trifluoromethyl diphenyl diselenide in mice. **Behav. Brain Res.** 205, 511-517.

CHAGAS, P.M., WILHELM E.A., ROEHRS J.A, NOGUEIRA C.W., 2013. Bis(phenylimidazoselenazolyl) diselenide: a compound with antinociceptive properties in mice. **Behav Pharmacol** 24, 37-44.



CHEN, G.P., ZIEGLER, D.M., 1994. Liver microsome and flavin-containing monooxygenase catalyzed oxidation of organic selenium compounds. **Arch. Biochem. Biophys.** 312, 566-572.

COPPEN, A., 1967. The biochemistry of affective disorders. **Br. J. Psychiatry** 113, 1237-1264.

CRYAN J. F., MOMBÉREAU C., VASSOUT A. 2005a. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. **Neurosci Biobehav Rev** 29, 571-625.

CRYAN, J. F.; VALENTINO, R. J.; LUCKI, I. 2005b Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, 29:547-69.

CRYAN, J.F., MARKOU, A., LUCKI, I., 2002. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future need. **Trends Pharmacol Sci** 23, 238-245.

DULAWA, S. C., HEN R., 2005. Recent advances in animal models of chronic antidepressant effects: The novelty-induced hypophagia test. **Neurosci and Biobehav Rev** 29, 771-783.

DUMAN, C. H., 2010 .Models of Depression. **Hormones of the Limbic System Book Series: Vitamins and Hormones Series** 82, 1-21.

DUMONT, E., VANHAECKE, F., CORNELIS, R., 2006. Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review. **Anal. and Bioanal. Chem.**, 385, 1304-1343.

DUNLOP, B.W., NEMEROFF, C.B., 2007. The role of dopamine in the pathophysiology of depression. **Arch. Gen. Psychiatry.** 64, 327-337.

FAVA M., 2003. Diagnosis and definition of treatment-resistant depression. **Biol. Psychiatry** 53, 649-659.

FINLEY, J. W., PENLAND, J. G., 1998. Adequacy or deprivation of dietary selenium in healthy men: clinical and psychological findings. **J. Trace Elem. Exp. Med.** 11, 1-27.

FUJITA, M., VERHOEFF, N.P., VARRONE, A., ZOGHBI, S.S., BALDWIN, R.M., JATLOW, P.A., ANDERSON, G.M., SEIBYL, J.P., INNIS, R.B., 2000. Imaging extrastriatal dopamine D(2) receptor occupancy by endogenous dopamine in healthy humans. **Eur. J. Pharmacol.** 387, 179-188.

GHISLENI, G., KAZLAUCKAS, V., BOTH, F.L., PAGNUSSAT, N., MIORANZZA, S., ROCHA, J.B.T., SOUZA, D.O., PORCIÚNCULA, L.O., 2008. Diphenyl diselenide exerts anxiolytic-like effect in Wistar rats: Putative roles of GABAA and 5HT receptors. **Prog. Neuro-psychoph.** 32, 1508-15.

HAWKES, W.C., HORNBOSTEL, L., 1999 .Effects of dietary selenium on mood in healthy men living in a metabolic research unit. **Biol Psychiatry** 39, 121-128.

HEIM, C., NEMEROFF, C. B., 2001. The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. **Biological Psychiatry** 49, 1023-1039.

IP, C., LISK, D.J., GANTHER, H.E., 1998. Activities of structurally-related lipophilic selenium compounds as cancer chemopreventive agents. **Anticancer. Res** 18, 4019-4025.

KAPCZINSKI, F., IZQUIERDO, I., QUEVEDO, J., 2011. Bases biológicas dos transtornos psiquiátricos: uma abordagem translacional. (3<sup>a</sup> ed) Porto Alegre, Artmed.

KESSLER, R.C. AND WANG P.S., 2009. Epidemiology of depression. In: Gotlib, I.H., and Hammen, C.L. (Eds.), **Handbook of depression**. Guilford Press, New York, NY, pp 5-22.

KOPIN, I.J., 1968. Biosynthesis and metabolism of catecholamines. **Anesthesiology** 29, 654-660.

LAMMERS C.H., DIAZ J., SCHWARTZ J.C., SOKOLOFF P., 2000. Selective increase of dopamine D<sub>3</sub> receptor gene expression as a common effect of chronic antidepressant treatments. **Mol Psychiatry** 5,378-388.

LARUELLE, M., D'SOUZA, C.D., BALDWIN, R.M., BI-DARGHAM, A., KANES, S.J., FINGADO, C.L., SEIBYL, J.P., ZOGHBI, S.S., BOWERS, M.B., JATLOW, P., CHARNEY, D.S., INNIS, R.B., 1997. Imaging D2 receptor occupancy by endogenous dopamine in humans. **Neuropsychopharmacology** 17, 162-174.

LOPEZ-LEON, S., CROES, E.A., SAYED-TABATABAEI, F.A., CLAES, S., VAN BROECKHOVEN, C., VAN DUIJN, C.M., 2005. The dopamine D4 receptor gene 48-base-pair-repeat polymorphism and mood disorders: a meta-analysis. **Biol. Psychiatry** 57, 999-1003.

LOVENBERG, W., WEISSBACH, H., UDENFRIEND, S., 1962. Aromatic L-amino acid decarboxylase. **J. Biol. Chem.** 237, 89-93.

LUCHESE, C., PRIGOL, M., DUARTE, M.M.M.F., NOGUEIRA, C.W., 2012. Diphenyl diselenide reduces inflammation in the mouse model of pleurisy induced by carrageenan: reduction of pro-inflammatory markers and reactive species levels. **Inflamm. Res.** 61, 1117-1124.

LUCHESE, C., STANGHERLIN, E.C., ARDAIS, A.P., NOGUEIRA, C.W., SANTOS, F.W., 2007. Diphenyl diselenide prevents oxidative damage induced by cigarette smoke exposure in lung of rat pups. **Toxicology** 230, 189-196.

MANN, J. J., 2005. The medical management of depression. **N. Engl. J. Med.** 353, 1819-1834.

MANSOUR A, MEADOR-WOODRUFF J.H, LOPEZ J.F, WATSON S.J., 1998. Biochemical anatomy: insights into the cell biology and pharmacology of the dopamine and serotonin systems in the brain. In: Schatzberg AF, Nemeroff CB, eds. **American Psychiatric Press Textbook of Psychopharmacology**. 2nd ed. Washington, DC: American Psychiatric Press, 55-74.

Mardesen C. **Experimental approaches to anxiety and depression**. London: Wiley; p. 73-85.

MCCANN, U.D., PENETAR, D.M., SHAHAM, Y., THORNE, D.R., SING, H.C., THOMAS, M.L., GILLIN, J.C., BELENKY, G., 1993. Effects of catecholamine depletion on alertness and mood in rested and sleep deprived normal volunteers. **Neuropsychopharmacology** 8, 345-356.

NAGATSU, T., LEVITT, M., UDENFRIEND, S., 1964. Tyrosine hydroxylase. The initial step in norepinephrine biosynthesis. **J. Biol. Chem.** 239, 2910-2917.

NAKAMURO, K.; OKUNO, T.; HASEGAWA, T.2000. Metabolism of Selenoamino Acids and Contribution of Selenium Methylation to Their Toxicity. **J. Health Sci** 46, 418-421.

NARAJJI, C., KARVEKAR, M.D, DAS, A.K., 2007. Biological importance of organoselenium compounds. **Indian J. Pharm. Sci** 69, 344-351.

NOGUEIRA, C. W.; ROCHA, J. B. T., 2011. Toxicology and pharmacology of selenium: emphasis on synthetic organoselenium compounds. **Arch. Toxicol.**00, 01-02.

NOGUEIRA, C.W., QUINHONES, E.B., JUNG, E.A.C., ZENI, G., ROCHA, J.B.T., 2003a. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of diphenyl diselenide. **Inflamm. Res.** 52, 56-63.

NOGUEIRA. C.W., ZENI, G., ROCHA, J.B.T., 2004. Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology. **Chem. Rev.** 104, 255–285.

OPMEER, E. M., KORTEKAAS, R., ALEMAN, A., 2010. Depression and the role of genes involved in dopamine metabolism and signaling. **Prog. Neurobiol** 92, 112-133.

PÁEZ -PEREDA, M., 2005. New drug targets in the signalling pathways activated by antidepressants. **Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry** 29, 1010-1016.

PARK S.K., NGUYEN M. D., FISCHER A., LUKE M.P., AFFAR E.L. B., DIEFFENBACH P.B., TSENG H.C., SHI Y., TSAI L.H.2005. Par-4 links dopamine signaling and depression. **Cell** 122, 275-287.

PATAI'S CHEMISTRY OF FUNCTIONAL GROUPS, 2012. **The Chemistry of Organic Selenium and Tellurium Compounds**. Rappoport Z (Ed), John Wiley & Sons Ltd, pp 61.

PORSOLT R, LENEGRE A.1992. Behavioral models of depression. In: Elliott J, Heal D, **Neuropsychopharmacology** 25, 213-223.

PORSOLT, R.D., LE PICHON, M., JALFRE, M., 1977. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature** 266, 730-732.

POSSER, T.; KASTER, M. P.; BARAÚNA, S. C.; ROCHA, J. B.; RODRIGUES, A. L. S.; LEAL, R. B. Antidepressant-like effect of the organoselenium compound ebselen in mice: evidence for the involvement of the monoaminergic system. **Eur. J. Pharmacol.**, 602, 85-91, 2009.

PRIGOL, M., PINTON, S., SCHUMACHER, R., NOGUEIRA, C.W., ZENI, G., 2010. Convulsant action of diphenyl diselenide in rat pups: measurement and correlation with plasma, liver and brain levels of compound. **Arch. Toxicol.** 84, 373-378.

RAYMAN, M. P., 2008. Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. **Brit. J. Nutr.**100, 254-268.

RAYMAN, M.P., 2000. The importance of selenium to human health. **Lancet** 356, 233-241.

ROSENGREN, E., 1960. On the role of monoamine oxidase for the inactivation of dopamine in brain. **Acta Physiol. Scand.** 49, 370-375.

SAVEGNAGO, L., JESSE, C.R., PINTO, L.G., ROCHA, J.B.T., NOGUEIRA, C.W., 2007a. Diphenyl diselenide attenuates acute thermal hyperalgesia and persistent inflammatory and neuropathic pain behavior in mice. **Brain Res.** 1175, 54-59.

SAVEGNAGO, L., JESSE, C.R., PINTO, L.G., ROCHA, J.B.T., NOGUEIRA, C.W., ZENI, G., 2007b. Monoaminergic agents modulate antidepressant-like effect caused by diphenyl diselenide in rats. **Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psych.** 31, 1261-1269.

SCHILDKRAUT, J. J., 1965. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **Am. J. Psychiatry** 122, 509-522.

STAZI, A. V, TRINTI, B. Selenium deficiency in celiac disease: risk of autoimmune thyroid disease. **Minerva Med.**, 99, 643-653, 2008.

STERU, L., CHERMAT, R., THIERRY, B., SIMON, P., 1985. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology** 85, 367-370.

URSINI, F., BINDOLI, A., 1987. The role of selenium peroxidases in the protection against oxidative damage of membranes. **Chem. Phys. Lipids** 44, 255-276.

VAROQUI, H., ERICKSON, J. D. 1997. Vesicular neurotransmitter transporters: potential sites for the regulation of synaptic function. **Mol. Neurobiol.** 15, 165-191.

VERHOEFF, N.P., CHRISTENSEN, B.K., HUSSEY, D., LEE, M., PAPTAEODOROU, G., KOPALA, L., RUI, Q., ZIPURSKY, R.B., KAPUR, S., 2003. Effects of catecholamine depletion on D<sub>2</sub> receptor binding, mood, and attentiveness in humans: a replication study. **Pharmacol Biochem Behav** 74, 425-432.

VERHOEFF, N.P., KAPUR, S., HUSSEY, D., LEE, M., CHRISTENSEN, B., PSYCH, C., PAPTAEODOROU, G., ZIPURSKY, R.B., 2001. A simple method to measure baseline occupancy of neostriatal dopamine D2 receptors by dopamine in vivo in healthy subjects. **Neuropsychopharmacology** 25, 213-223.

WHO., 2012. Depression. **World Health Organization.**, disponível em: [http://www.who.int/mental\\_health/management/depression/who\\_paper\\_depression\\_wfmh\\_2012](http://www.who.int/mental_health/management/depression/who_paper_depression_wfmh_2012). (acesso em julho de 2013).

WILHELM E.A., GAI, B.M, SOUZA, A. C., BORTOLATTO, C. F., ROEHRS J.A, NOGUEIRA C.W., 2012. Involvement of GABAergic and glutamatergic systems in the anticonvulsant activity of 3-alkynyl selenophene in 21 day-old rats. **Mol Cell Biochem** 365, 175-80.

YAMADA, M., YASUHARA, H., 2004 Clinical pharmacology of MAO inhibitors: safety and future, **Neurotoxicology** **25**, 215-221.

YOSHIDA, K., HIGUCHI, H., TAKAHASHI, H., KAMATA, M., SATO, K., INOUE, K., SUZUKI, T., ITOH, K., OZAKI, N., 2008. Influence of the tyrosine hydroxylase val81met polymorphism and catechol-O-methyltransferase val158met polymorphism on the antidepressant effect of milnacipran. **Hum. Psychopharmacol.** **23**, 121-128.



**ANEXOS**

---

## 7. ANEXO

### 7.1 Anexo A: Resultados complementares

#### 7.1.1. Objetivo:

- Estudar o efeito do (CH<sub>3</sub>PhSe) sobre a atividade da enzima monoamino oxidase (MAO) cerebral *in vitro*. Assim como, a natureza desta ligação quanto a reversibilidade.

#### 7.1.2. Materiais e Métodos:

##### 7.1.2.1. Substâncias químicas:

Fenilselenometil (CH<sub>3</sub>PhSe), foi preparado e caracterizado em nosso laboratório de acordo com Paulmier (1986). O composto foi diluído em dimetil sulfóxido (DMSO). Os demais materiais que foram utilizados fazem parte da grade de bancada do laboratório.

##### 7.1.2.2 Atividade da Monoamino Oxidase (MAO) *in vitro*

Para testar a hipótese de que o (CH<sub>3</sub>PhSe), altera a atividade da enzima monoaminoxidase (MAO) enzima importante na degradação de neurotransmissores, a atividade da MAO foi determinada.

Para a realização deste trabalho foram utilizados camundongos Swiss albinos fêmeas (n=4), pesando entre 20 e 25 gramas. Os animais foram mortos por deslocamento cervical, o cérebro foi imediatamente removido, lavado com meio de homogeneização gelado

( $\text{Na}_2\text{PO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$  isotonzado com sacarose, pH 7,4) e utilizado para a obtenção do preparado de mitocôndria.

### 7.1.2.3 Preparado de mitocôndria cerebral ( $\text{P}_2$ )

O preparado de mitocôndria cerebral foi obtido por centrifugação diferencial como descrito por Soto-Otero *et al.* (2001). Após a remoção de vasos sanguíneos, membrana pial e cerebelo, o cérebro foi homogeneizado manualmente com quatro volumes (peso/volume) do meio de homogeneização. Em seguida, o homogeneizado foi centrifugado a  $900 \times g$  a  $4^\circ \text{C}$  por 5 min. O sobrenadante (1mL) foi centrifugado a  $12.500 \times g$  por 15 min. O pellet de mitocôndrias foi ressuspendido com 1 ml do meio de homogeneização e foi recentrifugado nas mesmas condições. Por fim, o pellet mitocondrial foi reconstituído em tampão de ensaio ( $\text{Na}_2\text{PO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$  isotonzado com KCl, pH 7,4). A concentração de proteína foi determinada pelo método de Bradford (1976), usando albumina de soro bovino como padrão.

### 7.1.2.4 Determinação da atividade da MAO *in vitro*

A atividade da MAO foi realizada imediatamente após o isolamento das mitocôndrias, conforme descrito por Krajl (1965), com algumas modificações de Matsumoto *et al.* (1984). Uma alíquota de 200  $\mu\text{L}$  de amostra da porção rica em mitocôndrias (100  $\mu\text{g}$  de proteína) foi pré-incubada a  $37^\circ \text{C}$  por 10 min em presença de 460  $\mu\text{L}$  de tampão de ensaio, 20  $\mu\text{L}$  de clorgilina (250 nM), um inibidor específico da MAO-A e selergilina (250 nM) um inibidor específico da MAO-B) e 10  $\mu\text{L}$  de  $\text{CH}_3\text{SePh}$  (1-100 $\mu\text{M}$ ), totalizando um volume final de 690  $\mu\text{L}$ . Após a pré-incubação por 10 minutos, 20  $\mu\text{L}$  quinuramina (utilizada como substrato da MAO nesta reação, concentração final 60 mM), foi adicionado à mistura reacional. As amostras foram então incubadas a  $37^\circ \text{C}$  por 30 min. Após a incubação, a reação foi finalizada pela adição de 300  $\mu\text{L}$  de ácido tricloroacético (TCA) 10%. Após o resfriamento e centrifugação a  $16.000 \times g$  por 5 min, uma alíquota de 800  $\mu\text{L}$  do sobrenadante foi adicionada a 1 mL de NaOH 1 M. A intensidade de fluorescência foi detectada com excitação a 315 nm e emissão a 380 nm. A concentração de 4-hidroxiquinolina foi estimada a partir de uma curva

padrão de fluorescência correspondente de 4-hidroxiquinolina. A atividade da MAO-A e MAO-B foi expressa como  $\eta$ mol de 4-hidroxiquinolina formada/ mg de proteína/ hora.

#### 7.1.2.5 Reversibilidade da inibição da MAO-B com compostos tiólicos

Para este fim procedeu-se como no item anterior, porém o composto foi incubado na concentração do composto que inibe a atividade da enzima 50% ( $\text{CH}_3\text{PhSe}$   $\text{IC}_{50} = 67\mu\text{M}$ ) e após a pré-incubação, 10  $\mu\text{l}$  de GSH ou cisteína (concentração final: 60-240  $\mu\text{M}$ ) foram adicionados à mistura reacional. E em seguida procedeu-se como descrito anteriormente.

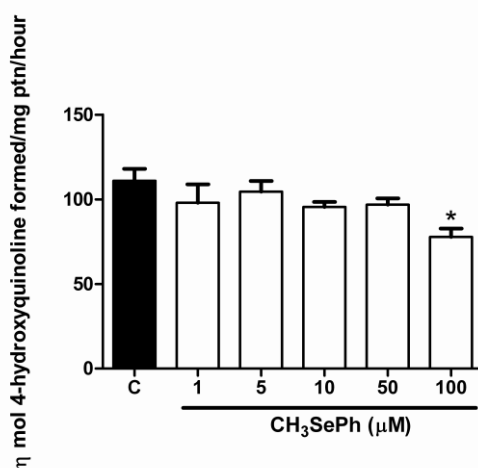
#### 7.1.2.6 Análise estatística

Todos os resultados experimentais foram expressos como média  $\pm$  EP. Os dados foram comparados usando análise de variância (ANOVA) de uma via seguida por teste de Newman-Keuls quando apropriado. Os valores de  $P < 0,05$  foram considerados significativos.

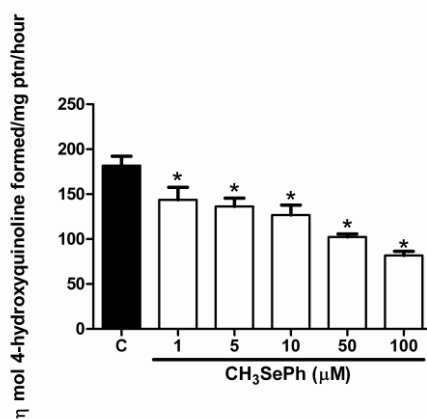
## 7.2 RESULTADOS

Neste trabalho foi possível verificar que o  $\text{CH}_3\text{SePh}$  inibiu seletivamente a MAO-B a partir de 1  $\mu\text{M}$  enquanto só apresentou inibição da MAO-A a partir da concentração de 100  $\mu\text{M}$ , assim, determinou-se a concentração que este composto inibe a atividade da enzima 50% ( $\text{IC}_{50}$ ) que ficou em torno de 67  $\mu\text{M}$ . Também foi possível verificar que a GSH, em todas as concentrações testadas (60 a 240  $\mu\text{M}$ ), foi efetiva em reverter a inibição da MAO-B pelo composto  $\text{CH}_3\text{SePh}$  *in vitro*.

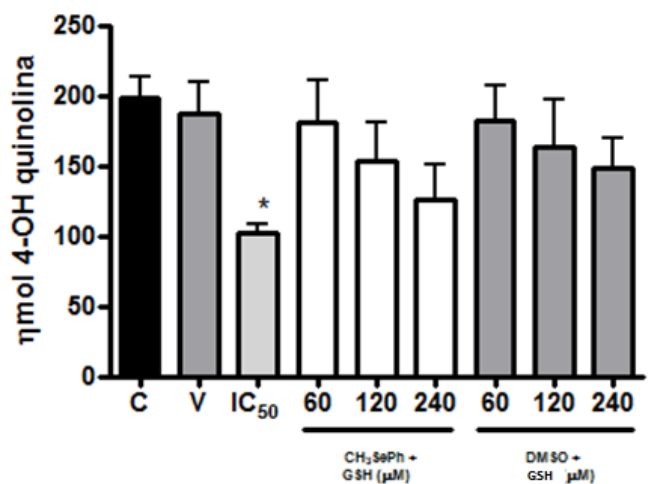
Por outro lado, a adição de cisteína (60 a 240  $\mu\text{M}$ ) não reverteu o efeito inibitório do  $\text{CH}_3\text{SePh}$  sobre a atividade da MAO-B cerebral *in vitro*. (**Figura1**)



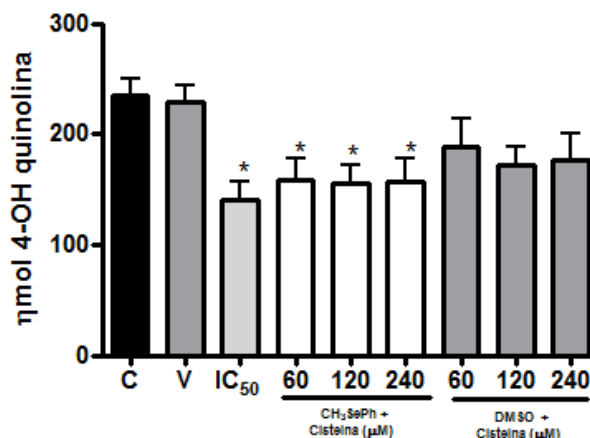
**Figura 1** Atividade da MAO-A *in vitro*



**Figura 2** Atividade da MAO-B *in vitro*



**Figura 3** Efeito da glutathiona (GSH) na inibição da atividade da MAO-B cerebral por PhSeMe *in vitro*. GSH (60 a 240μM), DMSO (veículo), PhSeMe IC<sub>50</sub>= 67 μM . \* p<0,05 quando comparado ao grupo controle.



**Figura 4** Efeito da cisteína na inibição da atividade da MAO-B cerebral por PhSeMe *in vitro* em camundongos. Cisteína (60 a 240 μM), DMSO (veículo), PhSeMe IC<sub>50</sub>= 67 μM . \* p< 0,05 quando comparado ao grupo controle.

### 7.3 CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho demonstram que o CH<sub>3</sub>SePh inibe seletivamente a MAO-B *in vitro* em baixas concentrações e esta inibição foi revertida pelo composto monotiólico GSH, embora não o tenha sido pela cisteína. Assim, visto que ambos compostos possuem um grupo SH, a reversão da inibição da atividade da MAO-B *in vitro*, possivelmente, está relacionada com a estrutura química da GSH, consideravelmente maior que a estrutura da cisteína.

Esses resultados suportam a possibilidade de que o composto CH<sub>3</sub>SePh inibe a atividade desta enzima por uma interação com os grupamentos sulfidrílicos presentes em sua estrutura.

Mais estudos são necessários a fim de confirmar o exato envolvimento da oxidação dos grupos SH no efeito inibitório desempenhado pelo CH<sub>3</sub>SePh sobre a atividade da MAO-B cerebral.

#### 7.4. Referências:

AKOPYAN Z.I., STESINA L.N., GORKIN, V.Z., 1971. New properties of highly purified bovine liver mitochondrial monoamine oxidase-reversible oxidation of sulfhydryl groups and reversible qualitative alteration (transformation) of substrate and inhibitor specificity. **J Biol Chem.** 246, 4610-4618.

KRAJL, M., 1965. A rapid microfluorimetric determination of monoamine oxidase, **Biochem Pharmacol.** 14, 1683-1685.

MATSUMOTO, T., FURUTA, T., NIMURA, Y., SUZUKI, O., 1984. 3-(p-Hydroxyphenyl)propionic acid as a new fluorogenic reagent for amine oxidase assays. **Anal Biochem.** 138, 133-136.