

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**

**Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA)**

**Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção (PPGBBio)**



**Dissertação**

**O composto 2-(((3-trifluorometil)fenil(selanil)metil)-2,3-diidrobenzofurano  
apresenta eficácia terapêutica em um modelo de doença de Alzheimer  
esporádica induzido por estreptozotocina em camundongos**

**Tácia Katiane Hall**

**Pelotas, 2025**

**Tácia Katiane Hall**

**O composto 2-(((3-trifluorometil)fenil(selanil)metil)-2,3-diidrobenzofurano  
apresenta eficácia terapêutica em um modelo de doença de Alzheimer  
esporádica induzido por estreptozotocina em camundongos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Bioprospecção do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Bioquímica e Bioprospecção).

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cristiani Folharini Bortolatto

Coorientador: Prof. Dr. César Augusto Brüning

Pelotas, 2025

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação da Publicação

H174c Hall, Tácia Katiane

O composto 2-(((3-trifluorometil)fenil(selanil)metil)-2,3-diidrobenzofurano apresenta eficácia terapêutica em um modelo de doença de Alzheimer esporádica induzido por estreptozotocina em camundongos [recurso eletrônico] / Tácia Katiane Hall ; Cristiani Folharini Bortolatto, orientadora ; César Augusto Brüning, coorientador. — Pelotas, 2025.  
94 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2025.

1. Selênio. 2. Diidrobenzofurano. 3. Neuroinflamação. 4. Estresse oxidativo. 5. Doença neurodegenerativa. I. Bortolatto, Cristiani Folharini, orient. II. Brüning, César Augusto, coorient. III. Título.

CDD 616.8528


Tácia Katiane Hall

O composto 2-(((3-trifluorometil)fenil(selanil)metil)-2,3-diidrobenzofurano apresenta eficácia terapêutica em um modelo de doença de Alzheimer esporádica induzido por estreptozotocina em camundongos


Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências (Bioquímica e Bioprospecção), Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 07/03/2025


Banca examinadora:

Documento assinado digitalmente  
 CESAR AUGUSTO BRUNING  
Data: 15/09/2025 13:21:42-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. César Augusto Brüning (Coorientador)  
Doutor em Ciências Biológicas (Bioquímica Toxicológica) pela Universidade  
Federal de Santa Maria (UFSM)

Documento assinado digitalmente  
 CRISTIANE LUCHESE  
Data: 10/09/2025 16:30:05-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Luchese  
Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica Toxicológica) pela Universidade  
Federal de Santa Maria (UFSM)

Documento assinado digitalmente  
 VINICIUS COSTA PRADO  
Data: 08/09/2025 22:59:17-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dr. Vinicius Costa Prado  
Doutor em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Santa Maria  
(UFSM)

## **Agradecimentos**

Agradeço, primeiramente, a Deus, pela saúde, força e determinação que me permitiram chegar até aqui.

À minha família, pelo apoio de sempre e pela compreensão diante das ausências ao longo dessa jornada.

Aos colegas do grupo LABIONEM, pelo auxílio e parceria durante todo o desenvolvimento deste trabalho. Em especial, à Mariana e Pamella, por embarcarem nesse projeto comigo e me auxiliarem diariamente, do início ao fim. Sem a colaboração e o companheirismo de vocês, a realização deste trabalho não teria sido possível.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. César, pela disponibilidade constante e pelo suporte nas dúvidas ao longo do percurso.

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cristiani, pela confiança depositada em mim e por acreditar na concretização deste trabalho. Sou grata pelo incentivo, pelos ensinamentos e por sempre me estimular a dar o meu melhor.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cristiane e ao Dr. Vinicius, pela disponibilidade em avaliar e contribuir com este estudo.

À CAPES, à UFPel e ao PPGBBio pela oportunidade de formação e pelo aprendizado proporcionado por todo o corpo docente bem como ao Biotério Central da UFPel pelo fornecimento dos animais. Expresso minha sincera gratidão aos órgãos de fomento (CNPq e FAPERGS), cujo apoio tem sido fundamental para o desenvolvimento desta e de outras investigações científicas das quais participo.

## Resumo

Hall, Tácia Katiane. **O composto 2-(((3-trifluorometil)fenil(selanil)metil)-2,3-diidrobenzofurano apresenta eficácia terapêutica em um modelo de doença de Alzheimer esporádica induzido por estreptozotocina em camundongos.** Orientadora: Cristiani Folharini Bortolatto. 2025. 94f.Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção – Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2025.

A doença de Alzheimer (DA) é uma condição neurodegenerativa progressiva caracterizada por déficits cognitivos e alterações bioquímicas. Neste contexto, compostos com potencial antioxidante e anti-inflamatório têm sido investigados como estratégias terapêuticas. Este estudo investigou os efeitos do composto 2-(((3-trifluorometil)fenil(selanil)metil)-2,3-diidrobenzofurano (TFSeB) em um modelo experimental de DA esporádica induzido pela administração central de estreptozotocina (STZ) em camundongos Swiss machos. Os animais receberam STZ nos dias 1 e 3 do protocolo (dose cumulativa: 3 mg/kg, intracerebroventricular, i.c.v.) e foram submetidos ao tratamento com TFSeB (1 and 5 mg/kg, via intragástrica, i.g.), memantina (controle positivo, 10 mg/kg, i.g.) ou veículo ao longo do experimento. Parâmetros comportamentais, bioquímicos e moleculares foram avaliados para compreender os possíveis mecanismos protetores envolvidos. Para a análise da memória, foram realizados o teste do labirinto em Y, de reconhecimento de objetos e de esquiva passiva. A atividade locomotora foi avaliada por meio do teste do campo aberto. Após a eutanásia, estruturas cerebrais (hipocampo, hipotálamo, cerebelo e/ou córtex pré-frontal) foram coletadas para a determinação de biomarcadores de estresse oxidativo, incluindo substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), espécies reativas de oxigênio (EROs), níveis de nitrato/nitrito (NOx) e grupos sulfidrilas não-proteicos (NPSH), além da atividade das enzimas monoamina oxidase B (MAO-B) e acetilcolinesterase (AChE). Foram também realizadas análises hipocampais de RT-qPCR para investigar a possível expressão de genes associados à neurodegeneração, como fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF), proteína BAX pró-apoptótica, proteína BCL-2 antiapoptótica, glicogênio sintase quinase 3 beta (GSK-3 $\beta$ ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), interleucina 6 (IL-6), fator nuclear relacionado ao fator eritroide 2 (NRF2), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD). Além disso, o peso corporal, glicemia e os marcadores bioquímicos de toxicidade hepática e renal foram avaliados neste modelo, sendo esses dados complementados por análises *in silico* de farmacocinética e toxicidade do composto TFSeB, bem como por um estudo de toxicidade oral aguda em camundongos. Os resultados deste estudo demonstraram que a administração de STZ comprometeu significativamente a memória dos animais e promoveu alterações bioquímicas associadas ao estresse oxidativo, neuroinflamação e desequilíbrio na neurotransmissão. O tratamento oral com TFSeB reverteu diversos dos danos observados, promovendo a restauração da memória sem comprometer a locomoção dos animais (resultados que foram validados pelo emprego de memantina) e protegendo contra alterações deletérias *ex vivo* intimamente associadas a processos neurodegenerativos. A melhora nos parâmetros bioquímicos e moleculares pelo TFSeB em animais expostos à STZ sugere um efeito protetor do composto, possivelmente mediado pela redução do estresse oxidativo e da neuroinflamação, além da modulação de vias associadas à

neuroplasticidade. Os dados *in silico*, que sugerem boa biodisponibilidade e potencial de penetração no sistema nervoso central, e a ausência de toxicidade oral aguda em camundongos, somados à ausência de toxicidade relacionada à sua exposição repetida, reforçam seu potencial translacional. Em conjunto, os principais achados indicam que o TFSeB apresenta efeitos terapêuticos promissores em um modelo murino de DA e relativa segurança, posicionando-se como um candidato relevante para futuras investigações voltadas ao desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para a DA.

Palavras-chave: selênio; diidrobenzofurano; neuroinflamação; estresse oxidativo; doença neurodegenerativa.

## Abstract

Hall, Tácia Katiane. **The compound 2-(((3-trifluoromethyl)phenyl(selanyl)methyl)-2,3-dihydrobenzofuran shows therapeutic efficacy in a streptozotocin-induced model of sporadic Alzheimer's disease in mice.**

Advisor: Cristiani Folharini Bortolatto. 2025. 94f. Dissertation (Master of Science) – Postgraduate Program in Biochemistry and Bioprospecting – Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2025.

Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative condition characterized by cognitive deficits and biochemical alterations. In this context, compounds with antioxidant and anti-inflammatory potential have been investigated as therapeutic strategies. This study investigated the effects of the compound 2-(((3-trifluoromethyl)phenyl(selanyl)methyl)-2,3-dihydrobenzofuran (TFSeB) in an experimental model of sporadic AD induced by central administration of streptozotocin (STZ) in male Swiss mice. The animals received STZ on days 1 and 3 of the protocol (cumulative dose: 3 mg/kg, intracerebroventricular, i.c.v.) and were subjected to treatment with TFSeB (1 and 5 mg/kg, intragastric, i.g.), memantine (positive control, 10 mg/kg, i.g.) or vehicle throughout the experiment. Behavioral, biochemical and molecular parameters were evaluated to understand the possible protective mechanisms involved. For memory analysis, the Y-maze, object recognition and passive avoidance tests were performed. Locomotor activity was assessed by the open field test. After euthanasia, brain structures (hippocampus, hypothalamus, cerebellum, and/or prefrontal cortex) were collected for the determination of oxidative stress biomarkers, including thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS), reactive oxygen species (ROS), nitrate/nitrite (NO<sub>x</sub>) levels, and nonprotein sulfhydryl groups (NPSH), as well as the activity of the enzymes monoamine oxidase B (MAO-B) and acetylcholinesterase (AChE). Hippocampal RT-qPCR analyses were also performed to investigate the possible expression of genes associated with neurodegeneration, such as brain-derived neurotrophic factor (BDNF), pro-apoptotic BAX protein, anti-apoptotic BCL-2 protein, glycogen synthase kinase 3 beta (GSK-3 $\beta$ ), tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B), interleukin 6 (IL-6), nuclear factor related to factor erythroid 2 (NRF2), catalase (CAT), and superoxide dismutase (SOD). Furthermore, body weight, blood glucose, and biochemical markers of liver and kidney toxicity were evaluated in this model. These data were complemented by *in silico* analyses of the pharmacokinetics and toxicity of the compound TFSeB, as well as by an acute oral toxicity study in mice. The results of this study demonstrated that STZ administration significantly impaired the animals' memory and promoted biochemical alterations associated with oxidative stress, neuroinflammation, and neurotransmission imbalance. Oral treatment with TFSeB reversed several of the observed impairments, promoting memory restoration without compromising the animals' locomotion (results that were validated by the use of memantine) and protecting against deleterious changes *ex vivo* closely associated with neurodegenerative processes. The improvement in biochemical and molecular parameters by TFSeB in animals exposed to STZ suggests a protective effect of the compound, possibly mediated by the reduction of oxidative stress and neuroinflammation, in addition to modulating pathways associated with neuroplasticity. The *in silico* data, which suggest good bioavailability and potential penetration into the central nervous system, and the absence of acute oral toxicity in mice, combined with the absence of toxicity related to repeated



exposure, reinforce its translational potential. Taken together, the main findings indicate that TFSeB exhibits promising therapeutic effects in a murine model of AD and relative safety, positioning it as a relevant candidate for future investigations aimed at developing new therapeutic approaches for AD.

Keywords: selenium; dihydrobenzofuran; neuroinflammation; oxidative stress; neurodegenerative disease.

## Lista de Figuras

Figura 1 - Principais mecanismos patológicos associados à DA.....	20
Figura 2 - Atuação da GSK-3 $\beta$ na produção de A $\beta$ e na hiperfosforilação da proteína tau.....	25
Figura 3 - Ciclo da ACh e ação da AChE.....	30
Figura 4 - Estresse oxidativo na fisiopatologia da DA.....	35
Figura 5 - Estrutura química da STZ.....	37
Figura 6 - Estrutura química do composto 2-(((3-trifluorometil)fenil(selanil)metil)-2,3-diidrobenzofurano (TFSeB).....	41

### Lista de abreviaturas e siglas

TFSeB	2-(((3-trifluorometil)fenil(selanil)metil)-2,3-diidrobenzofurano
A $\beta$	Beta-amiloide
ATP	Adenosina trifosfato
APP	Proteína precursora amilóide (do inglês, <i>Amyloid Precursor Protein</i> )
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
BDNF	Fator neurotrófico derivado do encéfalo (do inglês, <i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i> )
BAX	Proteína associada ao gene Bcl-2 (do inglês, <i>Bcl-2-associated X protein</i> )
BCL-2	Proteína 2 do linfoma de células B (do inglês, <i>B-cell lymphoma protein 2</i> )
BACE1	$\beta$ -secretase
CAT	Catalase
CDK5	Quinase 5 dependente de ciclina (do inglês, <i>cyclin-dependent kinase 5</i> )
DA	Doença de Alzheimer
EROs	Espécies reativas de oxigênio
GSK-3 $\beta$	Glicogênio sintase quinase 3 beta
GST	Glutathione S-transferase
GPx	Glutathione peroxidase
GSH	Glutathione reduzida
GLUT	Transportador de glicose
GABA	Ácido gama-aminobutírico
ICV	Intracerebroventricular
IL-6	Interleucina-6

IL-1 $\beta$	Interleucina 1 beta
JNK	Quinases N-terminais de c-Jun (do inglês, <i>c-Jun N-terminal Kinases</i> )
MAO-B	Monoamina oxidase B
NMDA	N-metil-D-aspartato
NF- $\kappa$ B	Fator nuclear kappa B
NRF2	Fator nuclear relacionado ao fator eritroide 2 (do inglês, <i>Nuclear factor erythroid 2-related factor 2</i> )
STZ	Estreptozotocina
Se	Selênio
SNC	Sistema nervoso central
SOD	Superóxido dismutase
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa (do inglês, <i>Tumor Necrosis Factor-alpha</i> )

## Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS .....	17
2.1 Objetivo geral .....	17
2.2 Objetivos específicos .....	17
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	18
3.1 Doença de Alzheimer .....	18
3.2 Fisiopatologia da Doença de Alzheimer .....	21
3.2.1 Acúmulo de Peptídeo A $\beta$ e Formação de Placas Senis .....	21
3.2.2 Hiperfosforilação e Agregação da Proteína Tau .....	24
3.2.3 Neuroinflamação.....	27
3.2.4 Disfunção sináptica.....	28
3.2.5 Estresse Oxidativo .....	32
3.3 Modelos experimentais para o estudo da DA .....	35
3.3.1 Modelo de indução de DA por injeção ICV de STZ .....	36
3.4 Selênio .....	39
3.5 Compostos Diidrobenzofuranos .....	40
4. CAPÍTULO ÚNICO .....	42
5. DISCUSSÃO .....	58
6. CONCLUSÃO.....	67
7. REFÊRENCIAS.....	68
8. APÊNDICE .....	87
8.1 References.....	93
9. ANEXO.....	94

## 1. INTRODUÇÃO

Compostos híbridos contendo núcleos benzofurânicos e átomos de selênio (Se) têm despertado crescente interesse na pesquisa biomédica devido ao seu potencial neuroprotetor, associado principalmente a propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e moduladoras enzimáticas (BARBOSA; CANTO; TEIXEIRA *et al.*, 2023; KUMAWAT; RAHEEM; ALI *et al.*, 2021). O Se, um micronutriente essencial, participa da formação de selenoproteínas envolvidas na regulação do estresse oxidativo e da inflamação, como a glutathione peroxidase (GPx) e a tioredoxina redutase (NADERI; PUAR; ZONOUZI-MARAND *et al.*, 2021; ZHANG; SONG, 2021). Paralelamente, derivados de benzofurano têm sido explorados como estruturas bioativas promissoras devido à sua ampla gama de atividades farmacológicas, incluindo efeitos antioxidantes, antiapoptóticos e de inibição enzimática (NADERI; PUAR; ZONOUZI-MARAND *et al.*, 2021; ZHANG; SONG, 2021).

Nesse cenário, destaca-se o composto 2-(((3-trifluorometil)fenil(selanil)metil)-2,3-diidrobenzofurano (TFSeB), uma molécula híbrida que combina esses dois elementos estruturais (Se e benzofurano). Estudos prévios com esse composto demonstraram sua capacidade de inibir significativamente a atividade da monoamina oxidase B (MAO-B) *in vitro* (AZEVEDO; CORDEIRO; STRELOW *et al.*, 2023), enzima associada principalmente à degradação de dopamina e à geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), especialmente em contextos neurodegenerativos.

Diante desse potencial, torna-se ainda mais relevante considerar o papel de compostos como o TFSeB no enfrentamento das doenças neurodegenerativas, cuja complexidade demanda estratégias terapêuticas inovadoras. Entre essas enfermidades, destaca-se a Doença de Alzheimer (DA), a forma mais comum de demência em idosos (KNOPMAN; AMIEVA; PETERSEN *et al.*, 2021). A DA é caracterizada por um declínio progressivo das funções cognitivas, resultando em perda de autonomia e impacto significativo na qualidade de vida dos pacientes (MERCERON-MARTINEZ; IBACETA-GONZALEZ; SALAZAR *et al.*, 2021). Sua fisiopatologia envolve múltiplos mecanismos interligados, como o acúmulo de placas extracelulares de peptídeo  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ), formação de emaranhados neurofibrilares de proteína tau hiperfosforilada, disfunção sináptica, alterações no metabolismo do cálcio e morte neuronal. Esses eventos ativam processos de

estresse oxidativo e neuroinflamação, que atuam como mediadores-chave da progressão neurodegenerativa (ANDRADE-GUERRERO; SANTIAGO-BALMADEA; JERONIMO-AGUILAR *et al.*, 2023).

O estresse oxidativo, em especial, desempenha papel central na DA, sendo caracterizado pelo acúmulo excessivo de EROs em decorrência da disfunção mitocondrial e da redução da atividade de sistemas antioxidantes (BAI; GUO; YE *et al.*, 2022). O fator de transcrição nuclear relacionado ao fator eritroide 2 (NRF2), um dos principais reguladores da resposta antioxidante, encontra-se diminuído na DA, prejudicando a indução de enzimas protetoras como a superóxido dismutase (SOD) e a glutatona-S-transferase (GST) (DE PLANO; CALABRESE; RIZZO *et al.*, 2023). Associada a esse processo, a neuroinflamação crônica, mediada pela ativação persistente da microglia e pela liberação de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), Interleucina-6 (IL-6) e fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), contribuem para a progressão da lesão neuronal (MISRANI; TABASSUM; YANG, 2021).

A morte neuronal observada na DA está também intimamente relacionada a mecanismos apoptóticos, frequentemente induzidos por estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e desequilíbrio nos fatores de sobrevivência celular, como o fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) (AZMAN; ZAKARIA, 2022). Essas alterações resultam em comprometimento progressivo da memória, como nos domínios espacial, de reconhecimento e aversivo.

Dentre os sistemas neuronais afetados, destaca-se o colinérgico, cuja disfunção, caracterizada pela diminuição dos níveis de acetilcolina (ACh) e/ou aumento da atividade da acetilcolinesterase (AChE), está diretamente associada aos déficits cognitivos observados na DA (VECCHIO; SORRENTINO; PAOLETTI *et al.*, 2021). Embora os inibidores da AChE sejam atualmente utilizados na prática clínica, sua eficácia é limitada e predominantemente sintomática (MORETA; BURGOS-ALONSO; TORRECILLA *et al.*, 2021), reforçando a necessidade de novos candidatos terapêuticos com múltiplos alvos de ação. Além da AChE, a MAO-B também tem papel central na patogênese de diversas doenças, incluindo a DA, contribuindo para a degradação de monoaminas (principalmente dopamina) e para o aumento do estresse oxidativo no cérebro, especialmente em regiões como o hipocampo e o córtex (OSTADKARAMPOUR; PUTNINS, 2021). Assim, a inibição

dessa enzima é considerada um alvo terapêutico relevante, com potencial para atenuar o desequilíbrio redox e preservar a função dopaminérgica (BAWEJA; GUPTA; KUMAR *et al.*, 2024).

Os fármacos atualmente disponíveis para o tratamento da DA não impedem a progressão da enfermidade nem atuam de forma eficaz sobre seus múltiplos mecanismos patológicos (KEPKA; OCHOCINSKA; BORZYM-KLUCZYK *et al.*, 2022). A maioria das abordagens terapêuticas concentra-se no controle dos sintomas cognitivos, demonstrando eficácia limitada na modulação de processos-chave como o estresse oxidativo, a neuroinflamação e a apoptose. Além disso, os efeitos adversos associados ao uso prolongado de inibidores da AChE e de antagonistas do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) comprometem sua aplicabilidade clínica (BELFORT; SIMOES; SANTOS *et al.*, 2020). Esses fatores reforçam a necessidade do desenvolvimento de terapias multifuncionais, capazes de atuar simultaneamente sobre diferentes alvos moleculares envolvidos na fisiopatologia da DA.

Para investigar estratégias neuroprotetoras, modelos experimentais que mimetizam os principais aspectos da DA são amplamente utilizados. Entre eles, destaca-se o modelo de injeção intracerebroventricular de estreptozotocina (ICV-STZ), que promove alterações cognitivas e bioquímicas semelhantes às da DA esporádica, incluindo estresse oxidativo, inflamação, apoptose e redução de fatores neurotróficos como o BDNF (KELLINY; LIN; DENG *et al.*, 2021; DA SILVA; FISCHER; SOUZA *et al.*, 2024).

Diante desse contexto, o composto sintético TFSeB, um inibidor da MAO-B cerebral *in vitro*, destaca-se como um candidato promissor para avaliação em modelo murino de DA esporádica. A presença de benzofurano e Se em sua estrutura também sugere um potencial efeito antioxidante, o que, em conjunto, justifica, em parte, a investigação de possíveis ações moduladoras sobre vias relacionadas ao estresse oxidativo, neuroinflamação, apoptose e neuroplasticidade. Ainda, ressalta-se que avaliar a segurança do composto é essencial para que ele possa representar uma estratégia terapêutica promissora no enfrentamento futuro de processos neurodegenerativos.



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar os efeitos do composto sintético TFSeB sobre os prejuízos de memória induzidos pela administração central de STZ em um modelo murino de DA esporádica, além de explorar os possíveis mecanismos terapêuticos envolvidos.

### **2.2 Objetivos específicos**

Dentre os objetivos específicos desta dissertação, pode-se citar:

- Predizer o perfil farmacocinético e de segurança do TFSeB através de estudos ADMET *in silico*;
- Investigar a segurança do TFSeB por meio do teste de toxicidade oral aguda em camundongos fêmeas;

Além disso, em camundongos Swiss machos expostos à STZ (ICV) e tratados oralmente com o composto TFSeB, destacam-se:

- Avaliar os efeitos do TFSeB sobre os prejuízos na memória induzidos pela STZ;
- Investigar a atividade locomotora dos animais em resposta às intervenções experimentais;
- Analisar os parâmetros de estresse oxidativo em córtex pré-frontal e cerebelo;
- Avaliar a atividade da enzima AChE em córtex e cerebelo;
- Examinar a atividade da MAO-B em córtex, cerebelo, hipocampo e hipotálamo;
- Investigar os níveis hipocâmpais de RNAm associados à expressão gênica de processos como a neuroinflamação, o estresse oxidativo, a apoptose e a neuroplasticidade.
- Monitorar os níveis glicêmicos no início e fim do protocolo;
- Avaliar parâmetros de toxicidade após exposição repetida ao TFSeB.

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Doença de Alzheimer**

A DA é um transtorno neurodegenerativo progressivo e irreversível, sendo a principal causa de demência em idosos (ASSOCIATION, 2021). Caracteriza-se pelo declínio cognitivo progressivo, afetando funções como memória, linguagem, habilidades espaciais e capacidade de realizar tarefas diárias (TAHAMI MONFARED; BYRNES; WHITE *et al.*, 2022). A doença foi descrita pela primeira vez em 1906 pelo neurologista Alois Alzheimer, a partir da observação de alterações cerebrais em uma paciente que apresentava comprometimento severo da memória e distúrbios comportamentais (ASSOCIATION, 2021). Desde então, a compreensão sobre a DA avançou significativamente, mas ainda não há uma cura definitiva (ABEYSINGHE; DESHAPRIYA; UDAWATTE, 2020).

Estima-se que milhões de pessoas em todo o mundo sejam afetadas pela DA, tornando-se um dos maiores desafios de saúde pública, especialmente em sociedades com crescente envelhecimento populacional (ASSOCIATION, 2021). O impacto da doença não se restringe apenas aos indivíduos acometidos, mas também afeta profundamente os cuidadores e familiares, devido à progressiva dependência do paciente. Além disso, o alto custo do tratamento e da assistência contribui para o grande ônus econômico e social da doença (SKARIA, 2022).

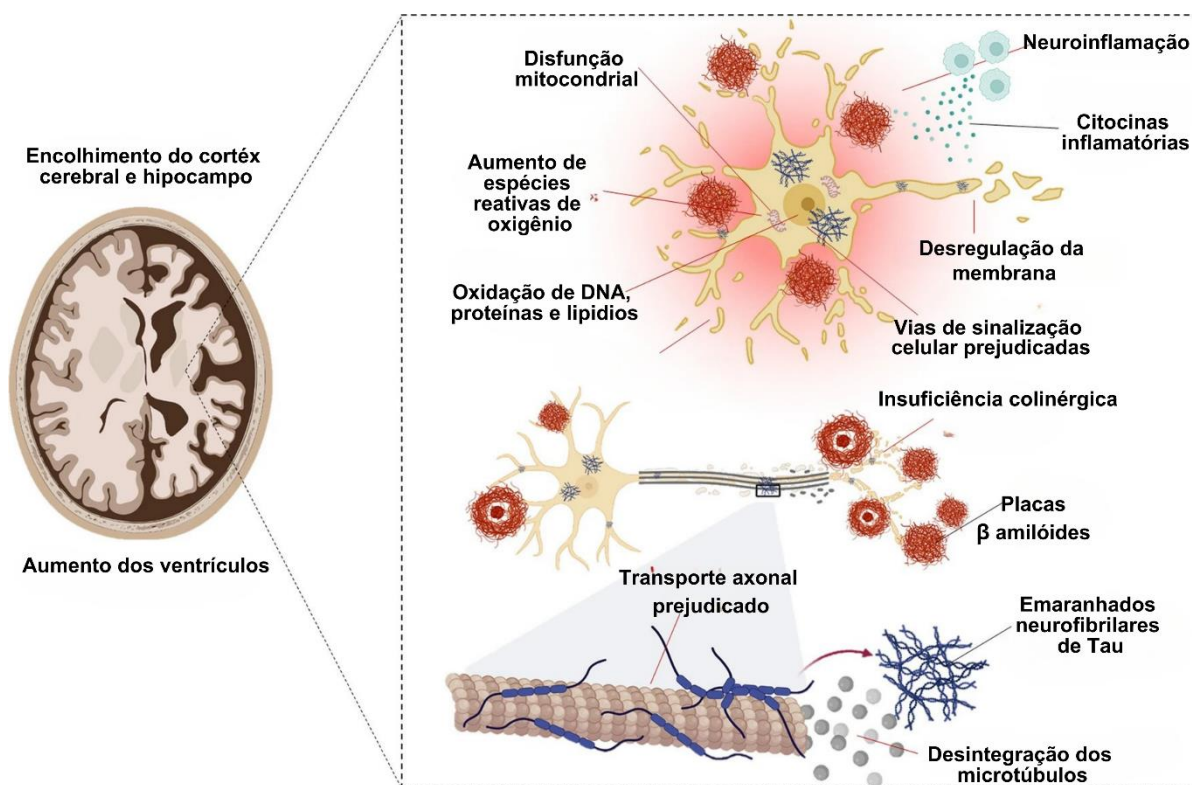
A etiologia da DA é complexa e multifatorial, envolvendo uma combinação de fatores genéticos, ambientais e de estilo de vida. A idade é o principal fator de risco, sendo que a prevalência aumenta significativamente após os 65 anos (WILLIAMS; BORCHELT; CHAKRABARTY, 2020). Fatores como sedentarismo, obesidade, diabetes, hipertensão e hábitos alimentares inadequados também têm sido relacionados ao maior risco de DA, indicando um papel relevante da saúde metabólica e cardiovascular na progressão da doença (ASSOCIATION, 2021). Adicionalmente, estudos têm apontado que fatores como depressão, isolamento social e privação crônica de sono também se associam ao aumento do risco para o desenvolvimento da DA (BHATT; PULI; PATIL, 2021; BOTTO; CALLAI; CERMELLI *et al.*, 2022).

A DA esporádica é a forma mais comum da enfermidade, caracterizada por uma origem multifatorial e não hereditária, sem mutações genéticas claramente

definidas. Diferentemente da forma familiar, que é associada a mutações específicas em genes, a DA esporádica está geralmente associada a fatores ambientais, metabólicos e ao envelhecimento. Essa forma pode se manifestar tanto em idosos quanto, em casos mais raros, em indivíduos com menos de 65 anos, quando então é classificada como de início precoce.

Do ponto de vista neuropatológico, a DA é caracterizada pelo acúmulo de placas extracelulares de A $\beta$  e emaranhados neurofibrilares de proteína tau hiperfosforilada (LONG; HOLTZMAN, 2019). Essas alterações resultam em disfunção sináptica, neuroinflamação e morte neuronal, especialmente em regiões cerebrais como o hipocampo e o córtex cerebral, responsáveis por funções essenciais para a memória (RATAN; RAJPUT; MALEYSM *et al.*, 2023). Além dessas áreas clássicas, outras regiões cerebrais vêm ganhando atenção por sua participação no processamento cognitivo, ainda que com menor destaque. O cerebelo, tradicionalmente associado à coordenação motora, tem sido cada vez mais reconhecido por seu papel na modulação da memória e do aprendizado, especialmente em condições patológicas (LIN; KUO, 2024). Da mesma forma, o hipotálamo pode influenciar processos relacionados à memória por meio da regulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e do equilíbrio neuroquímico cerebral (GIORGI; GALGANI; PUGLISI-ALLEGRA *et al.*, 2021). A inclusão dessas estruturas na investigação da DA possibilita uma compreensão mais ampla e integrada dos mecanismos subjacentes à disfunção cognitiva. Embora a fisiopatologia da DA seja um campo amplamente estudado, a sua compreensão completa ainda permanece um desafio, dificultando o desenvolvimento de terapias eficazes.

Figura 1. Principais mecanismos patológicos associados à DA



Fonte: Adaptado de JOSHUA (2023). Alterações características da DA incluem atrofia do córtex cerebral e hipocampo, além da dilatação dos ventrículos. Em nível celular, observam-se disfunção mitocondrial, aumento de EROs, oxidação de DNA, proteínas e lipídios, desregulação de membrana e vias de sinalização, além de inflamação neurogênica com liberação de citocinas. A presença de placas de A $\beta$  e emaranhados neurofibrilares de tau contribui para a perda sináptica, insuficiência colinérgica, prejuízo no transporte axonal e desintegração dos microtúbulos, resultando em disfunção e morte neuronal.

Atualmente, os tratamentos disponíveis para a DA são majoritariamente sintomáticos, envolvendo o uso de inibidores da AChE (e.g. donepezila, rivastigmina, tacrina e galantamina) e antagonistas do receptor glutamatérgico NMDA (e.g. memantina), que visam melhorar a neurotransmissão e atenuar os déficits cognitivos (MICULAS; NEGRU; BUNGAU *et al.*, 2022; SHARMA, 2019). Esses medicamentos são geralmente indicados conforme o estágio da doença: os inibidores da AChE são mais utilizados nas fases leve a moderada, enquanto os antagonistas do NMDA são empregados em estágios moderados a graves.

Ainda assim, essas abordagens apresentam diversas limitações clínicas, como efeitos adversos (por exemplo, distúrbios gastrointestinais, insônia, tontura e agitação), baixa biodisponibilidade e variabilidade individual na resposta terapêutica.

Além disso, sua eficácia tende a diminuir com a progressão da doença e não atuam sobre os mecanismos patológicos subjacentes, não impedindo a neurodegeneração (ORTIZ-ISLAS; MONTES; RODRIGUEZ-PEREZ *et al.*, 2025). Nos últimos anos, terapias imunológicas também têm sido desenvolvidas e representam uma mudança de paradigma em relação aos tratamentos sintomáticos tradicionais. Apesar disso, questões como custo, acessibilidade, critérios de elegibilidade e segurança a longo prazo continuam sendo desafiadoras. As limitações dos tratamentos anti-DA disponíveis têm estimulado a busca por medicamentos multi-alvo (CACABELOS; MARTINEZ-IGLESIAS; CACABELOS *et al.*, 2024).

Além dos avanços farmacológicos, medidas preventivas baseadas em mudanças no estilo de vida vêm ganhando destaque, uma vez que evidências indicam que a adoção de hábitos saudáveis pode reduzir o risco ou retardar o surgimento dos sintomas (KEPKA; OCHOCINSKA; BORZYM-KLUCZYK *et al.*, 2022). Exercício físico regular, alimentação equilibrada, controle de doenças crônicas e manutenção da atividade cognitiva são fatores associados a um menor risco de desenvolver DA (MASURKAR; MARSH; MORGAN *et al.*, 2024). Além disso, manter um sono de qualidade e relações sociais ativas é essencial para a preservação da saúde cerebral.

Diante do impacto global da DA, pesquisas continuam a ser conduzidas para aprimorar o entendimento sobre seus mecanismos patológicos, identificar biomarcadores precoces e desenvolver intervenções terapêuticas mais eficazes.

## **3.2 Fisiopatologia da Doença de Alzheimer**

### **3.2.1 Acúmulo de Peptídeo A $\beta$ e Formação de Placas Senis**

O acúmulo do peptídeo A $\beta$  e a formação das placas senis extracelulares são eventos centrais na fisiopatologia da DA (MA; HONG; YANG, 2022). O A $\beta$  é um peptídeo derivado do processamento proteolítico da proteína precursora amiloide (APP), uma glicoproteína transmembrana altamente expressa no sistema nervoso central (SNC) e envolvida em processos como plasticidade sináptica, transporte axonal e adesão celular (GUO; WANG; CHEN *et al.*, 2021). O processamento da APP pode ocorrer por duas vias principais: a via não amiloidogênica e a via amiloidogênica. Na via não amiloidogênica, a APP é clivada pela  $\alpha$ -secretase, impedindo a formação do peptídeo A $\beta$  e liberando um fragmento solúvel denominado

APPs $\alpha$ , que possui propriedades neuroprotetoras e participa da regulação da função sináptica (AL-KURASHY; JABIR; AL-GAREEB *et al.*, 2023). Já na via amiloidogênica, a APP sofre clivagem inicial pela  $\beta$ -secretase (BACE1), gerando um fragmento C-terminal chamado C99, que permanece ancorado na membrana plasmática (PFUNDSTEIN; NIKONENKO; SYTNYK, 2022). Posteriormente, a  $\gamma$ -secretase, um complexo proteico composto por presenilinas (PSEN1 e PSEN2), nicastrina, APH-1 e PEN-2, cliva esse fragmento dentro da membrana, liberando o peptídeo A $\beta$  para o meio extracelular (LICHTENTHALER; TSCHIRNER; STEINER, 2022).

A produção do A $\beta$  pode resultar em diferentes isoformas, sendo as principais A $\beta$ 40 e A $\beta$ 42. O A $\beta$ 40 é a forma mais abundante e apresenta menor tendência à agregação, enquanto o A $\beta$ 42, por ser mais hidrofóbico, é altamente propenso à oligomerização e deposição, sendo considerado a principal forma patogênica na DA (GHOSH; ALI; VERMA, 2023; SEHAR; RAWAT; REDDY *et al.*, 2022). Em condições normais, o equilíbrio entre produção e eliminação de A $\beta$  é mantido por mecanismos de degradação enzimática, envolvendo enzimas como neprilisina e enzima degradadora de insulina (IDE), bem como por processos de transporte através da barreira hematoencefálica, mediados por receptores como a proteína 1 relacionada à lipoproteína de baixa densidade (LRP1) (PETRALLA; PANAYOTOVA; FRANCHINA *et al.*, 2024; STORCK; HARTZ; PIETRZIK, 2022). No entanto, na DA, ocorre um desequilíbrio nesses mecanismos, levando ao acúmulo progressivo de A $\beta$  no espaço extracelular.

Inicialmente, o A $\beta$  monomérico se associa para formar oligômeros solúveis, que são considerados os principais responsáveis pela toxicidade neuronal na DA. Esses oligômeros interferem na neurotransmissão sináptica, afetando principalmente a plasticidade neuronal ao interagir com receptores como NMDA e o receptor nicotínico  $\alpha 7$  de ACh, resultando em disfunção sináptica e excitotoxicidade mediada por influxo desregulado de cálcio (LI; SELKOE, 2020; MADHU; MUKHOPADHYAY, 2021). Além disso, os oligômeros podem induzir a hiperfosforilação da proteína tau, agravando o colapso estrutural do citoesqueleto neuronal e comprometendo o transporte axonal (NIEWIADOMSKA; NIEWIADOMSKI; STECZKOWSKA *et al.*, 2021). Com o tempo, esses oligômeros se reorganizam em protofibrilas e fibrilas amiloides, que se depositam no córtex cerebral

e no hipocampo, formando as placas senis características da doença (ONO; TSUJI, 2020). Essas placas não são apenas depósitos inertes de A $\beta$ , mas também atuam como centros de neuroinflamação, ativando microglia e astrócitos, promovendo a liberação de citocinas pró-inflamatórias como interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), IL-6 e TNF- $\alpha$ , o que exacerba o processo degenerativo (AL-GHRAIYBAH; WANG; ALKHALIFA *et al.*, 2022). Além da ativação da resposta inflamatória, a deposição de A $\beta$  compromete a homeostase de metais essenciais, como ferro, cobre e zinco, levando ao aumento da produção de EROs e à peroxidação lipídica, que contribuem para a disfunção mitocondrial e a morte neuronal (WANG; YIN; LIU *et al.*, 2020). O acúmulo do peptídeo A $\beta$  nas mitocôndrias compromete a atividade da cadeia transportadora de elétrons, resultando em redução da produção de adenosina trifosfato (ATP) e aumento do estresse oxidativo, o que favorece danos irreversíveis ao ácido desoxirribonucleico e às proteínas neuronais (REISS; GULKAROV; JACOB *et al.*, 2024). O estresse oxidativo gerado, por sua vez, amplifica a agregação do próprio A $\beta$ , estabelecendo um ciclo vicioso de neurodegeneração (SHARMA; KIM, 2021).

A toxicidade do A $\beta$  também está relacionada à sua capacidade de comprometer a integridade da barreira hemato encefálica, reduzindo a expressão de proteínas de junção entre células endoteliais e aumentando a permeabilidade vascular (ZHANG; WANG; ZHANG *et al.*, 2022). Isso facilita a infiltração de células imunes periféricas no tecido cerebral, intensificando a resposta inflamatória e contribuindo para a degeneração neuronal (KIM; JUNG; KIM, 2025). Além disso, diversos fatores genéticos influenciam a deposição de A $\beta$ , como mutações nos genes da APP, PSEN1 e PSEN2, que resultam em maior produção da forma A $\beta$ 42 e estão associadas à DA de início precoce (HOOGMARTENS; CACACE; VAN BROECKHOVEN, 2021). O alelo ApoE4 da apolipoproteína E também tem papel importante, pois reduz a depuração de A $\beta$  e favorece sua agregação, aumentando significativamente o risco de desenvolvimento da doença (NGUYEN; WANG; HU *et al.*, 2020).

Outro mecanismo molecular associado ao acúmulo de A $\beta$  envolve a desregulação da via de sinalização Wnt. A ativação dessa via inibe a enzima glicogênio sintase quinase 3 beta (GSK-3 $\beta$ ), uma quinase que promove a clivagem amiloidogênica da APP e a hiperfosforilação da tau (INESTROSA; TAPIA-ROJAS; CERPA *et al.*, 2021). A disfunção da via Wnt, portanto, está associada não apenas

ao aumento da produção de A $\beta$ , mas também ao agravamento da disfunção sináptica e da morte neuronal (MARTINEZ; INESTROSA, 2021). Estudos mostram que a modulação dessa via pode ser uma estratégia terapêutica promissora para reduzir a deposição amiloide e a neurodegeneração na DA (CHAUHAN; PALIWAL; JAIN *et al.*, 2022; HAMPEL; HARDY; BLENNOW *et al.*, 2021).

Dessa forma, o acúmulo de A $\beta$  e a formação das placas senis representam eventos centrais na patogênese da DA, desencadeando uma cascata de alterações celulares e moleculares que comprometem a função sináptica, aumentam o estresse oxidativo e promovem a neuroinflamação (BUSCHE; HYMAN, 2020).

### **3.2.2 Hiperfosforilação e Agregação da Proteína Tau**

A proteína tau é uma proteína microtubular amplamente expressa em neurônios do SNC, onde desempenha um papel essencial na estabilização dos microtúbulos e na regulação do transporte axonal (KENT; SPIRES-JONES; DURRANT, 2020). Em condições fisiológicas, a tau interage com os microtúbulos promovendo sua montagem e manutenção, garantindo o tráfego adequado de organelas, vesículas sinápticas e substâncias essenciais para a sobrevivência e funcionalidade neuronal (CHANG; SHAO; MUCKE, 2021). No entanto, na DA, a tau sofre modificações pós-traducionais patológicas, sendo a hiperfosforilação a principal alteração associada ao seu acúmulo e agregação em emaranhados neurofibrilares (ROBBINS; CLAYTON; KAMINSKI SCHIERLE, 2021).

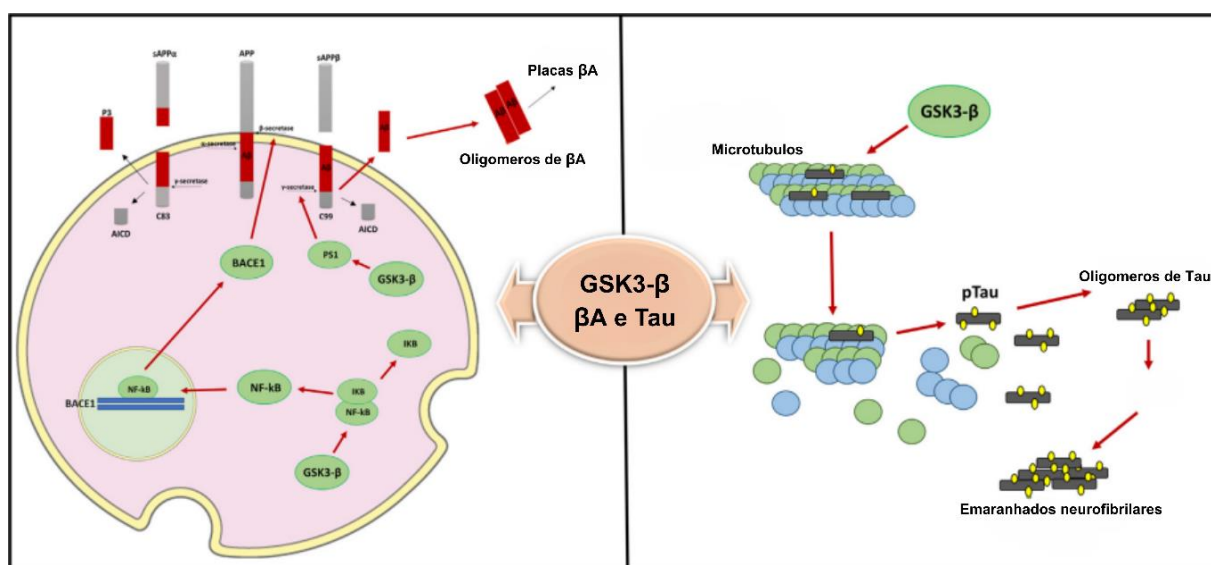
A fosforilação de tau é um processo regulado por um equilíbrio dinâmico entre quinases e fosfatases. Entre as principais quinases envolvidas na fosforilação de tau estão a GSK-3 $\beta$ , a quinase dependente de ciclina 5 (CDK5), as quinases 1 e 2 reguladas por sinal extracelular (ERK1/2), as quinases N-terminais de c-Jun (JNK) e a proteína quinase A (PKA) (LAURETTI; DINCER; PRATICO, 2020; WEGMANN; BERNAT; MANDELKOW, 2021). Em condições normais, a atividade dessas quinases é finamente regulada, e a tau permanece em um estado de fosforilação basal, compatível com sua função estrutural (ALQUEZAR; ARYA; KAO, 2020). Por outro lado, na DA, diversos fatores contribuem para um aumento descontrolado da atividade das quinases, levando à hiperfosforilação da tau em múltiplos resíduos de serina e treonina (BASHEER; SMOLEK; HASSAN *et al.*, 2023). Essa modificação reduz sua afinidade pelos microtúbulos, resultando na desestabilização do



citoesqueleto neuronal e na desorganização do transporte axonal (CHANG; SHAO; MUCKE, 2021).

A GSK-3 $\beta$  tem um papel central nesse processo. Em condições normais, a via de sinalização Wnt inibe a GSK-3 $\beta$  por meio da estabilização da  $\beta$ -catenina, reduzindo a fosforilação de tau. No entanto, na DA, há uma desregulação da via Wnt, levando à hiperatividade da GSK-3 $\beta$  e ao aumento da fosforilação de tau (TORAL-RIOS; PICHARDO-ROJAS; ALONSO-VANEGAS *et al.*, 2020). Além disso, a CDK5, uma quinase essencial para o desenvolvimento neuronal, também se torna hiperativa na DA devido à presença anômala de sua subunidade p25, que prolonga sua atividade e amplifica o processo de hiperfosforilação (D'MELLO, 2021). A ativação crônica da via de estresse celular mediada por ERK1/2 e JNK também contribui para o acúmulo de tau fosforilada, agravando a disfunção neuronal (CHEN; YU, 2023).

Figura 2 - Atuação da GSK-3 $\beta$  na produção de A $\beta$  e na hiperfosforilação da proteína tau



Fonte: Adaptado de LAURETTI; DINCER; PRATICO (2020). A GSK-3 $\beta$  contribui para a patogênese da DA ao promover o aumento da produção de peptídeos A $\beta$ , por meio da indução da expressão do gene BACE1 via sinalização NF- $\kappa$ B e modulação da atividade da  $\gamma$ -secretase. Além disso, GSK-3 $\beta$  fosforila a proteína tau no resíduo Thr231, favorecendo sua dissociação dos microtúbulos e a formação de emaranhados neurofibrilares (NFTs), eventos associados à disfunção sináptica e degeneração neuronal.

Além da hiperfosforilação, a tau pode sofrer outras modificações patológicas, como glicação e acetilação (CASTRO; FERREIRA; MATAMA *et al.*, 2023). A glicação ocorre devido ao aumento dos produtos de glicação avançada no cérebro de

pacientes com DA, o que reduz ainda mais a capacidade da tau de se ligar aos microtúbulos e favorece sua agregação. A acetilação da tau, promovida por histonas acetiltransferases como p300, inibe sua degradação mediada pelo sistema ubiquitina-proteassoma, prolongando sua toxicidade (ALQUEZAR; ARYA; KAO, 2020).

A agregação da tau ocorre progressivamente, começando com a dissociação da proteína dos microtúbulos e sua conversão em dímeros solúveis (THAL; TOME, 2022). Esses dímeros evoluem para oligômeros, protofilamentos e, finalmente, para filamentos helicoidais pareados, que se acumulam no citoplasma neuronal, formando os emaranhados neurofibrilares (GYPARAKI; ARAB; SOROKINA *et al.*, 2021). Diferente das placas senis de  $\beta$ -amilóide, que se depositam no espaço extracelular, os emaranhados de tau são lesões intracelulares que comprometem a integridade neuronal e contribuem para a morte celular (PENKE; SZUCS; BOGAR, 2020).

A toxicidade dos agregados de tau está associada a diversos mecanismos. Primeiramente, a perda da função normal da proteína resulta na desorganização do transporte axonal, impedindo a distribuição de mitocôndrias e fatores neurotróficos essenciais para a sobrevivência neuronal (NIEWIADOMSKA; NIEWIADOMSKI; STECZKOWSKA *et al.*, 2021). Além disso, oligômeros de tau hiperfosforilada podem se espalhar por conexões sinápticas em um processo conhecido como "propagação templada", no qual células afetadas liberam tau patogênica no meio extracelular, facilitando sua internalização por neurônios vizinhos e amplificando a degeneração neuronal de forma progressiva (TORRES; RIVERA; POLANCO *et al.*, 2022).

Outro aspecto crítico é a interação entre tau e A $\beta$ , que estabelece uma sinergia patológica na DA. O acúmulo de A $\beta$  ativa quinases como GSK3 $\beta$  e JNK, promovendo a hiperfosforilação da tau. Paralelamente, a tau hiperfosforilada contribui para a disfunção sináptica induzida por A $\beta$ , agravando a neurodegeneração (BUSCHE; HYMAN, 2020).

Do ponto de vista clínico, o acúmulo de tau correlaciona-se diretamente com o grau de comprometimento cognitivo na DA. Estudos histopatológicos mostram que os emaranhados neurofibrilares surgem inicialmente no córtex entorrinal e no hipocampo, regiões essenciais para a formação de novas memórias, e posteriormente se espalham para o neocórtex à medida que a doença progride (DEVOUS; FLEISHER; PONTECORVO *et al.*, 2021; DUJARDIN; COMMINS;

LATHUILIERE *et al.*, 2020). Essa progressão segue um padrão definido pelas classificações de Braak e Braak, nas quais os estágios iniciais são caracterizados por depósitos limitados de tau no sistema límbico, enquanto nos estágios avançados a patologia tau se dissemina por todo o córtex associativo, resultando em declínio cognitivo severo (ST-ONGE; CHAPLEAU; BREITNER *et al.*, 2023).

A hiperfosforilação e agregação da proteína tau são processos críticos na fisiopatologia da DA, resultando na disfunção do transporte axonal, na formação de emaranhados neurofibrilares e na disseminação progressiva da neurodegeneração (WEGMANN; BIERNAT; MANDELKOW, 2021).

### **3.2.3 Neuroinflamação**

A neuroinflamação é um dos principais mecanismos fisiopatológicos envolvidos na DA e desempenha um papel central na progressão da degeneração neuronal (NOVOA; SALAZAR; CISTERNAS *et al.*, 2022). Esse processo inflamatório crônico ocorre em resposta ao acúmulo de peptídeo A $\beta$  e à agregação da proteína tau hiperfosforilada, levando à ativação exacerbada da microglia e dos astrócitos, à liberação de citocinas pró-inflamatórias e à perpetuação do dano neuronal (AL-GHRAIYBAH; WANG; ALKHALIFA *et al.*, 2022). Diferente de uma resposta inflamatória aguda benéfica, que visa restaurar a homeostase tecidual, a neuroinflamação crônica na DA contribui para a disfunção neuronal e a perda sináptica, exacerbando os déficits cognitivos (SINGH, 2022).

A microglia, principal célula imunológica residente do SNC, desempenha um papel fundamental na defesa neuronal. Em condições normais, a microglia mantém um estado de vigilância, promovendo a remoção de detritos celulares e proteínas mal dobradas por meio da fagocitose (CAI; LIU; WANG *et al.*, 2022). No entanto, na DA, a exposição prolongada ao A $\beta$  e à proteína tau patológica leva à ativação excessiva da microglia, que assume um fenótipo pró-inflamatório caracterizado pela liberação de mediadores inflamatórios como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e óxido nítrico (NO) (KWON; KOH, 2020).

A ativação da microglia ocorre principalmente por meio de receptores do tipo Toll (TLRs), especialmente TLR2 e TLR4, que reconhecem oligômeros de A $\beta$  como padrões moleculares associados a danos (DAMPs) (MERIGHI; NIGRO; TRAVAGLI *et al.*, 2022). Essa ativação desencadeia a sinalização via NF- $\kappa$ B, promovendo a

transcrição de genes pró-inflamatórios e amplificando a resposta inflamatória (WANG; FAN; KHAWAJA *et al.*, 2022). Além disso, a microglia hiperativada libera EROs e induz estresse oxidativo, contribuindo para a peroxidação lipídica, danos ao DNA mitocondrial e disfunção sináptica (SIMPSON; OLIVER, 2020).

Estudos demonstram que a liberação extracelular de oligômeros de tau patogênica desencadeia respostas inflamatórias, agravando a neurodegeneração (AMRO; YOOL; COLLINS-PRAINO, 2021; AYYUBOVA, 2023). Além disso, a propagação de tau entre neurônios ocorre, em parte, devido à ativação da microglia, que internaliza agregados de tau e libera vesículas extracelulares contendo tau patológica, facilitando sua disseminação pelo cérebro. Os astrócitos, outra classe de células gliais essenciais para a homeostase neuronal, também participam do processo neuroinflamatório na DA (PRICE; JOHNSON; NORRIS, 2021).

Normalmente, os astrócitos regulam a neurotransmissão, removem excesso de glutamato do espaço extracelular e fornecem suporte metabólico para os neurônios (LAWRENCE; SCHARDIEN; WIGDAHL *et al.*, 2023). No entanto, na DA, os astrócitos reativos perdem essas funções homeostáticas e passam a expressar altos níveis de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , contribuindo para a neurotoxicidade (SINGH, 2022). Além disso, a ativação do complemento, particularmente das proteínas C1q e C3, está aumentada em astrócitos na DA, promovendo a eliminação sináptica exacerbada e agravando o déficit cognitivo (DEJANOVIC; WU; TSAI *et al.*, 2022).

A interação entre neuroinflamação e outros processos patológicos da DA cria um ciclo vicioso que amplifica o dano neuronal. O peptídeo A $\beta$  ativa a microglia e os astrócitos, resultando na produção de citocinas inflamatórias, que por sua vez induzem mais estresse oxidativo e promovem a hiperfosforilação da tau (WEBERS; HENEKA; GLEESON, 2020). Além disso, a neuroinflamação compromete a barreira hematoencefálica (BHE), permitindo a infiltração de células imunes periféricas e exacerbando a resposta inflamatória dentro do SNC (TAKATA; NAKAGAWA; MATSUMOTO *et al.*, 2021).

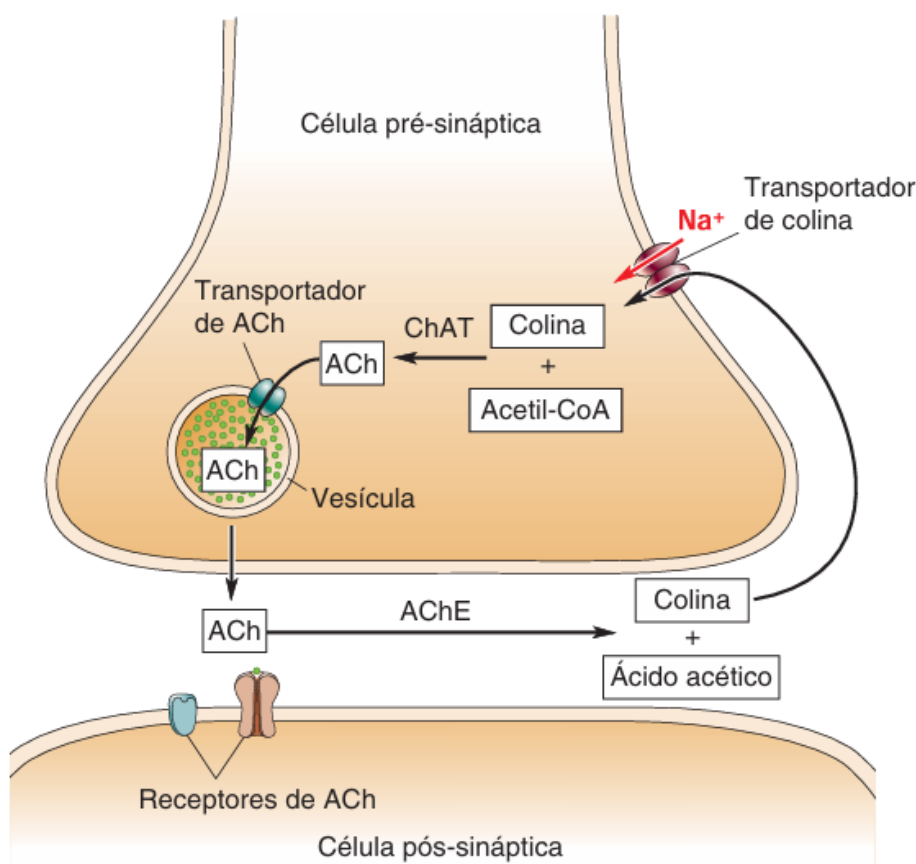
#### **3.2.4 Disfunção sináptica**

Na DA, a disfunção sináptica é uma das alterações mais precoces e marcantes, com uma forte correlação com o declínio cognitivo observado na doença

(MEFTAH; GAN, 2023). As sinapses, responsáveis pela comunicação entre os neurônios, são essenciais para processos cognitivos como aprendizado e memória, sendo que sua perda gradual compromete a capacidade do cérebro de processar e armazenar informações (PELUCCHI; GARDONI; DI LUCA *et al.*, 2022). Um dos principais fatores que contribui para essa disfunção é a alteração nos sistemas de neurotransmissores, especialmente no que diz respeito aos neurotransmissores ACh, glutamato e GABA, que desempenham papéis fundamentais na modulação da atividade sináptica e da plasticidade neuronal (ANDERSEN; SCHOUSBOE; VERKHRATSKY, 2022; BABAEI, 2021; CHENG; LIN; LANE, 2021).

A ACh, neurotransmissor crucial para a plasticidade sináptica e os processos de memória, tem sua função severamente comprometida na DA (YANG; ZOU; WANG, 2023). A perda de neurônios colinérgicos no núcleo basal de Meynert, principal fonte de ACh no cérebro, resulta em uma drástica redução da disponibilidade deste neurotransmissor em áreas cerebrais-chave, como o hipocampo e o córtex cerebral (CHEN; HUANG; YANG *et al.*, 2022). Esse déficit de ACh está associado à dificuldade na formação e consolidação de novas memórias, o que é um dos primeiros sintomas clínicos da doença. Além disso, a atividade aumentada da AChE, enzima responsável pela degradação da ACh, acelera a quebra do neurotransmissor, agravando ainda mais o déficit colinérgico e contribuindo para a progressão dos déficits cognitivos (SIVARAMAN; RAJI; VELMURUGAN *et al.*, 2022). A terapia com inibidores da AChE, como donepezila e rivastigmina (VECCHIO; SORRENTINO; PAOLETTI *et al.*, 2021), busca aumentar a disponibilidade de ACh nas sinapses, oferecendo alívio temporário dos sintomas cognitivos, mas sem impedir a progressão da doença (SIVARAMAN; RAJI; VELMURUGAN *et al.*, 2022).

Figura 3 - Ciclo da ACh e ação da AChE



Fonte: (BEAR, 2017). A ACh é sintetizada na célula pré-sináptica a partir de colina e acetil-CoA pela ação da enzima ChAT. Após ser armazenada em vesículas, a ACh é liberada na fenda sináptica, onde se liga aos receptores colinérgicos na membrana da célula pós-sináptica. Sua degradação é mediada pela enzima AChE, que a converte em colina e ácido acético. A colina é recaptada pela célula pré-sináptica por meio de um transportador dependente de sódio ( $\text{Na}^+$ ), reiniciando o ciclo. Esse sistema é fundamental para a neurotransmissão colinérgica, frequentemente comprometida na DA.

Outro aspecto importante da disfunção sináptica na DA é a alteração do sistema glutamatérgico, que envolve o neurotransmissor glutamato, o principal neurotransmissor excitatório do cérebro (CONWAY, 2020). O glutamato é essencial para a plasticidade sináptica e os processos de aprendizado, mas, quando presente em excesso, pode ser tóxico para os neurônios. Na DA, a ativação excessiva dos receptores NMDA, que são responsáveis por mediar a transmissão do glutamato, leva à entrada descontrolada de cálcio nas células, o que desencadeia a excitotoxicidade (CZAPSKI; STROSZNAJDER, 2021).

A excitotoxicidade é um processo patológico em que a abundância de glutamato nas sinapses provoca danos celulares, como a desregulação do cálcio intracelular, a produção excessiva de EROs e a ativação de vias apoptóticas, culminando na morte neuronal (VERMA; LIZAMA; CHU, 2022). Esse processo é particularmente relevante nas áreas afetadas pela DA, como o hipocampo e o córtex, onde a perda neuronal progressiva é observada. Além disso, a disfunção no transporte de glutamato também contribui para a elevação dos níveis extracelulares do neurotransmissor, exacerbando a ativação dos receptores NMDA (BARACALDO-SANTAMARIA; AVENDANO-LOPEZ; ARIZA-SALAMANCA *et al.*, 2023). Em relação às terapias, antagonistas do receptor NMDA, como a memantina, têm sido utilizados para bloquear a ativação excessiva desse receptor e prevenir os efeitos da excitotoxicidade, ajudando a preservar a função cognitiva por um tempo limitado (CHILUKURI; BURELA, 2020).

O ácido gama-aminobutírico (GABA), principal neurotransmissor inibitório do cérebro, também desempenha um papel crucial na modulação da excitabilidade neuronal e na estabilidade das redes sinápticas (TSUBOI; NAGAI; YOSHIMOTO *et al.*, 2024). Em condições normais, o GABA ajuda a balancear a atividade excitatória do glutamato, evitando a sobrecarga de estímulos que poderia prejudicar o funcionamento cerebral (ZHANG; XIONG; ZHANG *et al.*, 2021). Na DA, observa-se uma redução da atividade GABAérgica, o que contribui para o aumento da excitabilidade neuronal e, conseqüentemente, para o desenvolvimento de sintomas cognitivos e comportamentais (XU; ZHAO; HAN *et al.*, 2020).

A diminuição da função GABAérgica está associada à perda de receptores GABA-A e à redução na liberação de GABA nas sinapses, o que piora ainda mais o desequilíbrio entre excitação e inibição no cérebro (GHIT; ASSAL; AL-SHAMI *et al.*, 2021). Essa disfunção é particularmente crítica em áreas como o hipocampo, onde a modulação do GABA é essencial para a formação de novas memórias e para o controle da atividade neuronal (HERNANDEZ-FRAUSTO; BILASH; MASURKAR *et al.*, 2023).

A interação entre esses sistemas é complexa e interdependente. A perda de ACh agrava a disfunção glutamatérgica, já que a ACh tem um papel modulador na liberação de glutamato e na plasticidade sináptica. Da mesma forma, o aumento da atividade glutamatérgica pode afetar negativamente o sistema GABAérgico,

exacerbando a excitabilidade neuronal e tornando o cérebro mais vulnerável aos efeitos tóxicos do peptídeo A $\beta$  e da proteína tau (CHENG; LIN; LANE, 2021).

Na DA, além das alterações nos sistemas de neurotransmissores, enzimas reguladoras desses sistemas também desempenham um papel importante na disfunção sináptica (JONES; RAGHANTI, 2021). A MAO-B, uma enzima responsável pela degradação de neurotransmissores como dopamina, norepinefrina e serotonina, apresenta níveis aumentados no cérebro de pacientes com DA (BEHL; KAUR; SEHGAL *et al.*, 2021). Esse aumento da MAO-B contribui para o desequilíbrio na neurotransmissão e pode levar à geração excessiva de EROs, promovendo estresse oxidativo e danos neuronais.

Além disso, a MAO-B está associada à ativação de processos neuroinflamatórios, o que pode exacerbar a degeneração sináptica e agravar os déficits cognitivos (OSTADKARAMPOUR; PUTNINS, 2021). Inibidores seletivos da MAO-B, como a selegilina e a rasagilina, têm sido investigados como potenciais estratégias terapêuticas para reduzir a progressão dos danos sinápticos e melhorar a função cognitiva em pacientes com DA (BEHL; KAUR; SEHGAL *et al.*, 2021).

### **3.2.5 Estresse Oxidativo**

O estresse oxidativo desempenha um papel central na fisiopatologia da DA, contribuindo para a degeneração neuronal e a progressão da doença (BUCCELLATO; D'ANCA; FENOGLIO *et al.*, 2021). Esse processo resulta de um desequilíbrio entre a produção de EROs e a capacidade antioxidante das células, levando a diversos danos oxidativos. Na DA, esse estresse é exacerbado devido à disfunção mitocondrial, à neuroinflamação e à deposição de peptídeo A $\beta$ , criando um ambiente celular altamente vulnerável ao dano oxidativo (PLASCENCIA-VILLA; PERRY, 2023; TELEANU; NICULESCU; LUNGU *et al.*, 2022).

A mitocôndria é uma das principais fontes de EROs no cérebro e desempenha um papel crucial na regulação do metabolismo energético neuronal (REISS; GULKAROV; JACOB *et al.*, 2024). Na DA, observa-se uma disfunção mitocondrial caracterizada pela redução da atividade de complexos da cadeia transportadora de elétrons, especialmente dos complexos I e IV, o que resulta na produção excessiva de superóxido (O $_2^{\cdot-}$ ) e peróxido de hidrogênio (H $_2$ O $_2$ ) (ATLANTE; VALENTI, 2023; WU; HSIEH, 2023). Essas moléculas reativas interagem com lipídios de membrana,



proteínas e DNA mitocondrial, levando a danos estruturais e funcionais que comprometem a homeostase neuronal (PICCA; CALVANI; COELHO-JUNIOR *et al.*, 2020). A peroxidação lipídica desencadeada por EROs afeta diretamente a integridade das membranas celulares e mitocondriais, resultando na disfunção de canais iônicos, na perda de potencial de membrana e, consequentemente, na ativação de vias apoptóticas (ANGELOVA; ESTERAS; ABRAMOV, 2021).

A relação entre estresse oxidativo e deposição de peptídeo A $\beta$  é bidirecional e reforça a progressão da doença. O A $\beta$  pode atuar como um catalisador na geração de radicais livres, promovendo a oxidação de lipídios e proteínas, além de induzir disfunção mitocondrial (FANLO-UCAR; PICON-PAGES; HERRERA-FERNANDEZ *et al.*, 2024). Por outro lado, o acúmulo de danos oxidativos pode aumentar a produção e a agregação do peptídeo, criando um ciclo vicioso que agrava a neurodegeneração (SHARMA; KIM, 2021). Além disso, o peptídeo A $\beta$  pode interagir com íons metálicos como ferro e cobre, promovendo reações de Fenton e aumentando a produção de radicais hidroxila altamente tóxicos. Esses radicais causam danos irreversíveis a componentes celulares e podem acelerar a morte neuronal (WANG; YIN; LIU *et al.*, 2020).

A proteína tau, que sofre hiperfosforilação na DA, também está envolvida no estresse oxidativo (SHARMA; KIM, 2021). A agregação da proteína tau pode comprometer o transporte axonal e interferir na distribuição de mitocôndrias e enzimas antioxidantes dentro dos neurônios (RAWAT; SEHAR; BISHT *et al.*, 2022). Além disso, estudos mostram que a tau hiperfosforilada pode aumentar a susceptibilidade das células ao estresse oxidativo, exacerbando os danos oxidativos e contribuindo para a disfunção neuronal (BUCCELLATO; D'ANCA; FENOGLIO *et al.*, 2021; DU; YU; KANAAN *et al.*, 2022).

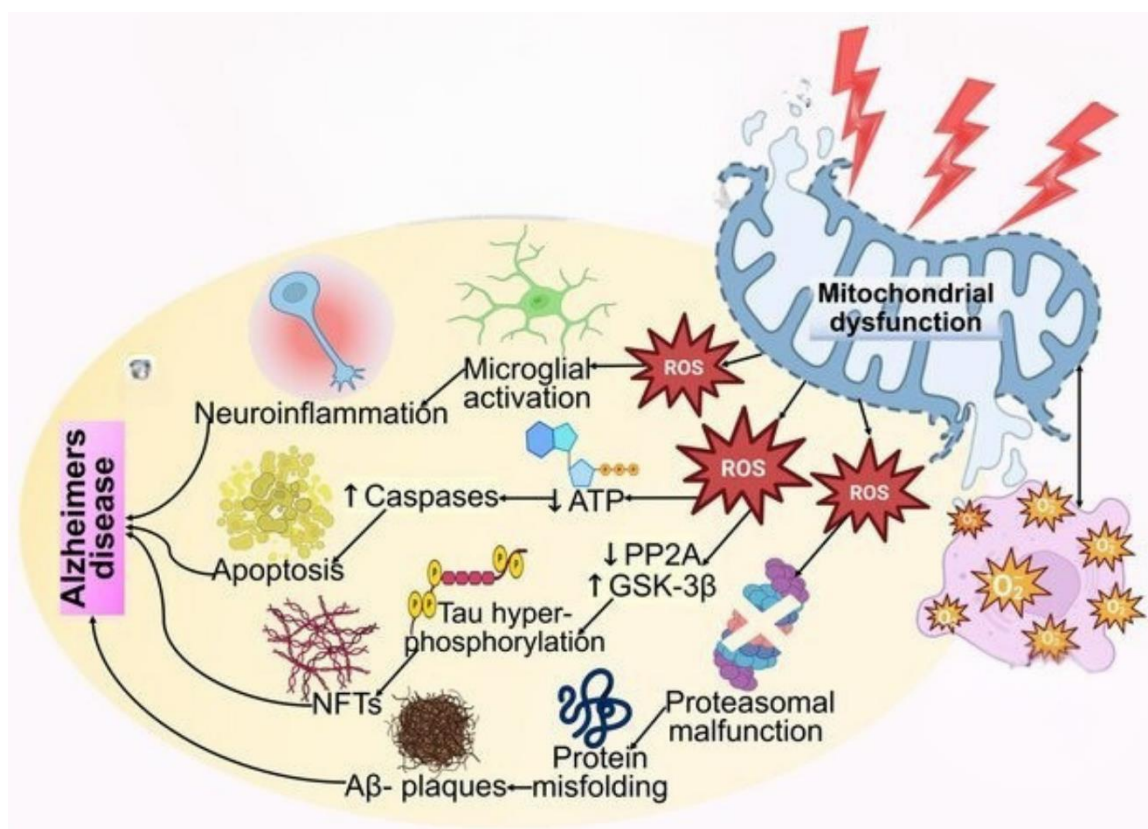
A resposta antioxidante do cérebro, que envolve enzimas como SOD, catalase (CAT) e GPx, é frequentemente comprometida na DA (JOMOVA; ALOMAR; ALWASEL *et al.*, 2024; SALEEM; SABIR; NIAZI *et al.*, 2020). Essas enzimas desempenham um papel essencial na neutralização de EROs e na manutenção do equilíbrio redox celular. No entanto, estudos indicam que a atividade dessas enzimas antioxidantes é reduzida nos cérebros de pacientes com DA, o que leva a uma menor capacidade de defesa contra os danos oxidativos (LEE; CHA; LEE, 2020; OLUFUNMILAYO; GERKE-DUNCAN; HOLSINGER, 2023). A redução nos níveis de

glutathiona (GSH), um dos principais antioxidantes celulares, também é observada, tornando os neurônios ainda mais vulneráveis ao estresse oxidativo (MARI; DE GREGORIO; DE DIOS *et al.*, 2020). A depleção de GSH compromete a capacidade da célula de neutralizar peróxidos lipídicos e manter a homeostase redox, contribuindo para o agravamento da neurodegeneração (ISKUSNYKH; ZAKHAROVA; PATHAK, 2022).

Outro aspecto importante é a interação entre estresse oxidativo e neuroinflamação (TELEANU; NICULESCU; LUNGU *et al.*, 2022). A ativação da micróglia e dos astrócitos na DA leva à liberação de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ , que podem aumentar a produção de EROs e exacerbar o dano oxidativo (NOVOA; SALAZAR; CISTERNAS *et al.*, 2022). Além disso, a ativação da NADPH oxidase (NOX), uma enzima presente em células imunes do SNC, contribui para a geração de superóxido e outras espécies reativas (GANGULY; KAUR; CHAKRABARTI *et al.*, 2021).

A terapia antioxidante tem sido amplamente investigada como uma possível estratégia neuroprotetora na DA (PRITAM; DEKA; BHARDWAJ *et al.*, 2022). Compostos como resveratrol, curcumina, N-acetilcisteína e coenzima Q10 demonstraram efeitos benéficos na redução do estresse oxidativo em modelos experimentais (COLLINS; SALEH; KALISCH, 2022; HATAMI; MORTAZAVI; BASERI *et al.*, 2023; RAHMAN; AKTER; BHATTACHARYA *et al.*, 2020). Além disso, a modulação da via do fator de transcrição NRF2, que regula a expressão de genes antioxidantes, tem sido explorada como uma abordagem terapêutica promissora (BRANDES; GRAY, 2020). O NRF2 é um regulador-chave da resposta celular ao estresse oxidativo, e sua ativação pode aumentar a expressão de enzimas antioxidantes e conferir proteção contra danos oxidativos (SIDIROPOULOU; METAXAS; KOURTI, 2023).

Figura 4 - Estresse oxidativo na fisiopatologia da DA



Fonte: (RATAN; RAJPUT; MALEYSM *et al.*, 2023). A disfunção mitocondrial, desencadeada por fatores como envelhecimento, mutações e exposição a metais, leva a déficits bioenergéticos, desequilíbrio de cálcio e aumento na produção de EROs (em inglês, ROS). Esse quadro promove estresse oxidativo, comprometendo ainda mais a função mitocondrial, reduzindo o potencial de membrana mitocondrial e a produção de ATP, além de prejudicar a dinâmica mitocondrial. O acúmulo excessivo de EROs desregula o equilíbrio redox celular, ativa caspases e inicia a apoptose. Além disso, a inibição da fosfatase PP2A por EROs leva à ativação da GSK-3 $\beta$ , resultando na hiperfosforilação da proteína tau e na formação de emaranhados neurofibrilares (em inglês, NFTs), eventos que contribuem para a perda sináptica, declínio cognitivo e prejuízos de memória característicos da DA.

### 3.3 Modelos experimentais para o estudo da DA

Modelos experimentais são essenciais para estudar a fisiopatologia da DA e avaliar potenciais estratégias terapêuticas. Esses modelos visam replicar características-chave da doença, incluindo formação de placa amilóide, hiperfosforilação da tau, neuroinflamação, estresse oxidativo, disfunção sináptica e/ou comprometimento cognitivo (KUSHWAHA; SAHU, 2025). Embora nenhum modelo único possa expressar completamente a complexidade da DA, várias

abordagens *in vitro* e *in vivo* foram desenvolvidas para investigar diferentes aspectos da doença (SINHA; WAL; GOUDANAVAR *et al.*, 2024).

Os modelos *in vitro* envolvem principalmente o uso de culturas de células neuronais e gliais tratadas com peptídeos A $\beta$ , agregados de tau ou indutores de estresse oxidativo para estudar mecanismos patológicos específicos (LUCHENA; ZUAZO-IBARRA; VALERO *et al.*, 2022).

Os modelos *in vivo* incluem animais geneticamente modificados, modelos farmacológicos e modelos induzidos por toxinas, cada um com vantagens e limitações distintas. Modelos de camundongos transgênicos que expressam genes humanos associados à DA familiar, como mutações APP, PSEN1 e PSEN2, são amplamente usados para estudar patologia amiloide e progressão da doença (YOKOYAMA; KOBAYASHI; TATSUMI *et al.*, 2022). Entretanto, os modelos transgênicos exigem altos custos de manutenção, longos períodos de reprodução e instalações especializadas, tornando-os menos acessíveis para muitos grupos de pesquisa.

Modelos induzidos por toxinas, como aqueles que usam STZ, fornecem uma abordagem alternativa para estudar déficits cognitivos semelhantes à DA e neurodegeneração (CHEN; YEONG, 2020; DHAPOLA; KUMARI; SHARMA *et al.*, 2023). Esses modelos visam replicar deficiências metabólicas, disfunção colinérgica ou tauopatia associadas à doença. Entre eles, a administração ICV de STZ vem sendo considerada um modelo valioso para investigar DA esporádica.

### **3.3.1 Modelo de indução de DA por injeção ICV de STZ**

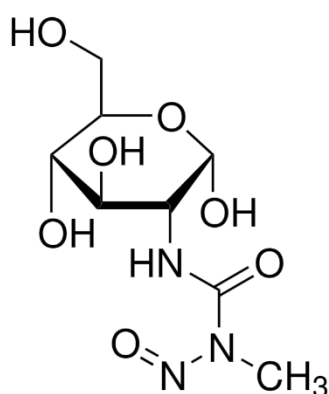
O modelo experimental de administração ICV-STZ é amplamente utilizado para investigar a DA em roedores, uma vez que reproduz diversas características patológicas da doença, como déficits cognitivos (prejuízo de memória), neurodegeneração, inflamação neural, estresse oxidativo e disfunção colinérgica, sem depender de mutações genéticas associadas à forma familiar da DA (SILVA; TURECK; SOUZA *et al.*, 2023).

A STZ é um composto nitrosoureico derivado de *Streptomyces achromogenes* e possui uma estrutura química composta por um anel de glicose ligado a um grupo nitrosoureico (Figura 1), o que lhe confere propriedades alquilantes (SHARMA; CHAN; LAVILLA *et al.*, 2023). Inicialmente utilizada por suas propriedades

antibióticas, a STZ foi posteriormente identificada como um agente citotóxico seletivo para as células  $\beta$  pancreáticas, devido à sua semelhança estrutural com a glicose, que facilita sua captação pelo transportador de glicose GLUT2 (GHASEMI; JEDDI, 2023). Essa propriedade fez com que a STZ fosse amplamente utilizada na indução experimental de diabetes melito em modelos animais por meio de sua administração sistêmica, levando à destruição das células produtoras de insulina (FENG; QIU; YU *et al.*, 2020).

No entanto, quando administrada diretamente no SNC por via ICV, a STZ afeta seletivamente o metabolismo cerebral, sem induzir hiperglicemia sistêmica (AKHTAR; SAH, 2020). Esse efeito neurotóxico é explorado no modelo ICV-STZ, pois reproduz alterações bioquímicas e funcionais associadas à DA, como resistência à insulina no cérebro, comprometimento do metabolismo da glicose, estresse oxidativo e neuroinflamação (PARK; WON; SEO *et al.*, 2020).

Figura 5 - Estrutura química da STZ



Fonte: (SIGMA ALDRICH, 2016)

O principal mecanismo pelo qual a STZ induz neurodegeneração envolve a interrupção da sinalização da insulina no cérebro. No sistema nervoso, a STZ leva à redução da expressão do receptor de insulina e de proteínas-chave da via de sinalização, como o substrato do receptor de insulina-1 (IRS-1) e a fosfatidilinositol-3 quinase (PI3K), resultando na diminuição da ativação da proteína quinase B (Akt ou PKB), uma quinase essencial para a sobrevivência neuronal e a plasticidade sináptica (ANSARI; AL-JARALLAH; BABIKER, 2023). Esse prejuízo na sinalização da insulina também reduz a expressão de transportadores de glicose, como GLUT3

e GLUT4, comprometendo a captação de glicose pelas células neuronais e contribuindo para a disfunção sináptica e neuronal (MCNAY; PEARSON-LEARY, 2020).

Além da resistência à insulina, a STZ promove um aumento significativo no estresse oxidativo, fator crítico para a progressão da neurodegeneração. O composto neurotóxico afeta diretamente a função mitocondrial, reduzindo a eficiência da cadeia transportadora de elétrons, especialmente nos complexos I e IV, o que leva à produção excessiva de EROs (PARK; WON; SEO *et al.*, 2020). Esse desequilíbrio oxidativo resulta em danos a lipídios, proteínas e DNA, acelerando a apoptose neuronal. Paralelamente, há uma alteração na atividade das principais enzimas antioxidantes, como SOD, CAT e GPx, intensificando o estresse oxidativo e promovendo a degeneração neuronal (XIANG; WANG; WU *et al.*, 2022).

Outro aspecto relevante do modelo ICV-STZ é a intensa resposta neuroinflamatória desencadeada pela ativação de microglia e astrócitos, células imunológicas do SNC. Essa ativação leva à liberação de citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ , que exacerbam o dano neuronal e agravam os déficits cognitivos. A ativação de NF- $\kappa$ B contribui para a manutenção desse estado inflamatório crônico, o que compromete ainda mais a integridade neuronal e sináptica, características observadas na DA esporádica (RAIS; VED; AHMAD *et al.*, 2022).

O modelo também apresenta uma disfunção colinérgica significativa, uma vez que a administração de STZ reduz a atividade da colina acetiltransferase (ChAT), enzima responsável pela síntese de ACh, e aumenta a atividade da AChE, promovendo uma depleção desse neurotransmissor essencial para a cognição (SILVA; TURECK; SOUZA *et al.*, 2023). Essa alteração está diretamente relacionada às dificuldades de memória e aprendizado observadas nos animais submetidos ao modelo ICV-STZ, tornando-o adequado para estudos que investigam estratégias terapêuticas voltadas para a modulação do sistema colinérgico (YULIANI; LOBENTANZER; KLEIN, 2021).

Embora a principal alteração induzida pelo modelo esteja relacionada ao metabolismo energético e à resistência à insulina, alguns estudos sugerem que a STZ também pode afetar a via amiloidogênica, promovendo um aumento na expressão da APP e facilitando a clivagem amiloidogênica, levando ao acúmulo de

oligômeros de A $\beta$  (GAO; LIU; JIANG *et al.*, 2014). Além disso, a neuroinflamação crônica e o estresse oxidativo induzido pela STZ estão associados à hiperfosforilação da proteína tau, um evento crítico na patogênese da DA. Esse efeito ocorre, em parte, devido à ativação da GSK-3 $\beta$ , uma quinase que desempenha um papel central na modulação da fosforilação da tau e no comprometimento da estabilidade dos microtúbulos neuronais (KAUNDAL; DESHMUKH; AKHTAR, 2018).

Desta forma, o modelo ICV-STZ se destaca por simular de maneira mais ampla a fisiopatologia da DA esporádica, pois não se limita a um único fator patológico, mas abrange múltiplos mecanismos inter-relacionados, como alterações no metabolismo da glicose cerebral, estresse oxidativo, inflamação crônica, disfunção sináptica, apoptose e disfunção colinérgica (MARTINI; REGIS LEITE; GONCALVES ROSA *et al.*, 2020). Isso contrasta com outros modelos, como o de injeção de A $\beta$ , que tendem a representar aspectos mais restritos da doença, centrando-se apenas na deposição de peptídeos A $\beta$  e seus efeitos locais, sem necessariamente reproduzir o conjunto completo de eventos patológicos (PARK; WON; SEO *et al.*, 2020).

### 3.4 Selênio

O Se é um elemento essencial para diversos processos biológicos, desempenhando um papel fundamental na homeostase celular e na proteção contra o estresse oxidativo (BARCHIELLI; CAPPERUCCI; TANINI, 2022). No organismo, ele está presente principalmente na forma de selenoproteínas, que incluem enzimas antioxidantes como a GPx e a tioredoxina redutase (TrxR), ambas essenciais para a defesa celular contra EROs. Além disso, o Se participa da regulação da inflamação e da sinalização redox, influenciando processos celulares críticos para a saúde neuronal (GENCHI; LAURIA; CATALANO *et al.*, 2023).

O Se protege as membranas celulares contra a peroxidação lipídica (YE; HUANG; WANG *et al.*, 2022), um processo altamente nocivo ao sistema nervoso dada a sua composição lipídica e grande demanda metabólica. Estudos sugerem que uma deficiência em Se pode estar associada ao declínio cognitivo e à piora dos sintomas em doenças neurodegenerativas, reforçando a importância desse

elemento para a neuroproteção (CHUAI; ZHANG; BAI *et al.*, 2021; KIELISZEK; BANO, 2022).

Além das funções antioxidantes, o Se também pode influenciar a neurotransmissão e a plasticidade sináptica. Ele participa da regulação de vias envolvidas na sinalização neuronal, incluindo aquelas mediadas pelo BDNF e pela via PI3K/Akt, que são essenciais para a manutenção da função sináptica e para a sobrevivência neuronal (ZHANG; CHEN; JIA *et al.*, 2021). Além disso, evidências indicam que compostos contendo Se podem modular a atividade de enzimas relacionadas à neurotransmissão, como a MAO-B e AChE (DE OLIVEIRA; VOSS; DA *et al.*, 2022; GONCALVES; RUSCH; ALVES *et al.*, 2024), ambas implicadas nos mecanismos fisiopatológicos da DA.

### 3.5 Compostos Diidrobenzofuranos

Os diidrobenzofuranos são uma classe de compostos heterocíclicos caracterizados por um sistema benzofurano parcialmente saturado, apresentando um anel benzofurano com a saturação nos carbonos da posição 2 e 3 (CHEN; PITCHAKUNTALA; JIA, 2019). Essa modificação estrutural influencia significativamente as propriedades físico-químicas e biológicas desses compostos, tornando-os versáteis para aplicações farmacológicas (CHOI; JO; PARK *et al.*, 2015).

A presença do núcleo diidrobenzofurano confere estabilidade estrutural e modulação da lipofilicidade, fatores importantes para a interação com alvos biológicos e para a biodisponibilidade dos compostos. Essa estrutura pode ser funcionalizada em diferentes posições, permitindo modificações químicas que podem otimizar suas atividades biológicas. A adição de grupos substituintes específicos, como halogênios, grupos metila, hidroxila ou heteroátomos, pode modular propriedades como solubilidade, permeabilidade e seletividade para alvos moleculares específicos (CHEN; PITCHAKUNTALA; JIA, 2019).

Dentro do contexto da neuroproteção, compostos derivados do diidrobenzofurano têm demonstrado efeitos positivos na modulação de enzimas associadas a processos neurodegenerativos (AZEVEDO; CORDEIRO; STRELOW *et al.*, 2023). Além disso, o núcleo diidrobenzofurano pode influenciar a interação

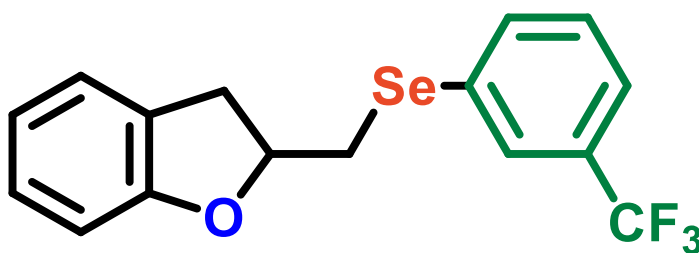


com biomoléculas envolvidas na sinalização oxidativa e inflamatória, características fundamentais para o desenvolvimento de terapias voltadas para doenças como a DA.

O composto TFSeB (Figura 6) combina a estrutura diidrobenzofurano com um grupo organosselênico e um anel aromático trifluorometilado, o que pode potencializar sua atividade biológica. A presença do grupo trifluorometila pode influenciar a estabilidade metabólica e a afinidade por alvos enzimáticos, enquanto a unidade de Se pode conferir propriedades antioxidantes e moduladoras do estresse oxidativo. Além disso, este composto foi capaz de inibir a atividade da enzima MAO-B cerebral *in vitro* (AZEVEDO; CORDEIRO; STRELOW *et al.*, 2023), revelando-se um potencial candidato terapêutico.

Dada a complexidade multifatorial da DA, compostos com capacidade de atuar em múltiplas vias fisiopatológicas vêm ganhando destaque como alternativas promissoras aos tratamentos atualmente disponíveis. Estruturas híbridas, como a do TFSeB, que reúnem diferentes grupos funcionais com potencial antioxidante, anti-inflamatório e capacidade de interação com enzimas-chave, representam uma estratégia de busca inovadora no desenvolvimento de novos fármacos.

Figura 6 - Estrutura química do composto TFSeB



Fonte: (AZEVEDO; CORDEIRO; STRELOW *et al.*, 2023)

#### **4. CAPÍTULO ÚNICO**

O desenvolvimento desta dissertação está organizado em um capítulo único, estruturado na forma de artigo científico publicado no periódico *ACS Chemical Neuroscience* (fator de impacto 4,2 – 2023). Informações complementares aos dados apresentados no artigo encontram-se no apêndice desta dissertação.

# Neuroprotective Effects of a Benzofuran-Containing Selenium in a Mouse Alzheimer's Disease Model: Molecular, Biochemical, and Behavioral Analyses

Tácia Katiane Hall, Mariana Parron Paim, Pâmella da Costa, Amanda Rebelo de Azevedo, Vanessa Nascimento, José Sebastião Santos Neto, Fernanda Severo Sabedra Sousa, Tiago Veiras Collares, Fabiana Kommling Seixas, César Augusto Brüning\* and Cristiani Folharini Bortolatto\*

Cite This: *ACS Chem. Neurosci.* 2025, 16, 2420–2434

Read Online

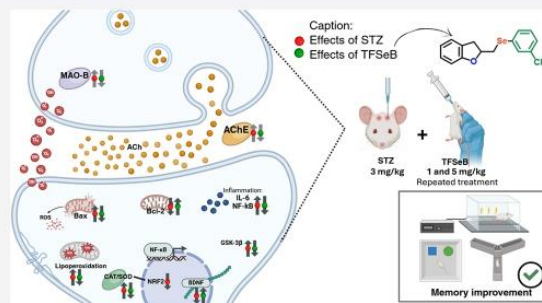
ACCESS |

Metrics & More

Article Recommendations

**ABSTRACT:** Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder mainly characterized by progressive cognitive decline, for which effective treatments remain limited, and selenium is known for its neuroprotective actions. Thus, this study evaluated the neuroprotective effects of the compound 2-((3-trifluoromethyl)-phenyl(selenyl)methyl)-2,3-dihydrobenzofuran (TFSeB) in a streptozotocin (STZ)-induced AD model in male Swiss mice. The animals received intracerebroventricular injections of STZ (3 mg/kg, a neurotoxic agent) to induce cognitive deficits, followed by treatment with TFSeB (1 and 5 mg/kg, intragastrically). Behavioral tests revealed that, like positive control (memantine), the compound TFSeB improved memory performance in the Y-maze, novel object recognition, and passive avoidance tests, suggesting its ability to counteract STZ-induced memory impairments. Biochemical analyses showed that the compound reduced oxidative stress markers in the prefrontal cortex and cerebellum of mice exposed to STZ, including TBARS, ROS, and nitrite levels while increasing NPSH. STZ induced an increase in monoamine oxidase B (MAO-B) activity in the hippocampus and cortex, as well as in acetylcholinesterase (AChE) activity in the cortex and cerebellum, which were reverted by TFSeB. Hippocampal RT-qPCR molecular analyses revealed that TFSeB modulated apoptosis-related proteins by increasing BCL-2 and decreasing BAX expression, favoring neuronal survival. Moreover, TFSeB increased brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nuclear factor erythroid 2 (NRF2), targets associated with neuroprotection. The compound also decreased key inflammatory and neurodegenerative markers, including nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B), interleukin-6 (IL-6), and glycogen synthase kinase 3 beta (GSK3B). In conclusion, the compound TFSeB demonstrates promising protective effects in a STZ-induced AD model by modulating key neurochemical, oxidative, and neuroinflammatory pathways.

**KEYWORDS:** selenium, memory, streptozotocin, oxidative damage, neuroinflammation



## 1. INTRODUCTION

Alzheimer's disease (AD) represents one of the greatest global public health challenges, affecting millions of people worldwide.<sup>1</sup> The social impact of the disease is significant, as it progressively compromises individuals' autonomy, leading to severe cognitive decline, memory loss, difficulties in communication, and impairments in daily activities.<sup>2</sup> Thus, the search for new therapeutic approaches to slow disease progression and improve patients' quality of life has become a priority in biomedical research.

AD is a progressive and irreversible neurodegenerative disorder that results from complex processes, including the accumulation of  $\beta$ -amyloid plaques, tau protein hyperphosphorylation, and neuroinflammation, which ultimately

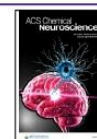
lead to synaptic dysfunction and neuronal death.<sup>3</sup> Moreover, oxidative stress plays a central role in AD pathophysiology, contributing to cellular damage and exacerbating neurodegeneration.<sup>4</sup> Evidence suggests that increased production of reactive oxygen species (ROS) and reduced cerebral antioxidant capacity contribute to disease progression,

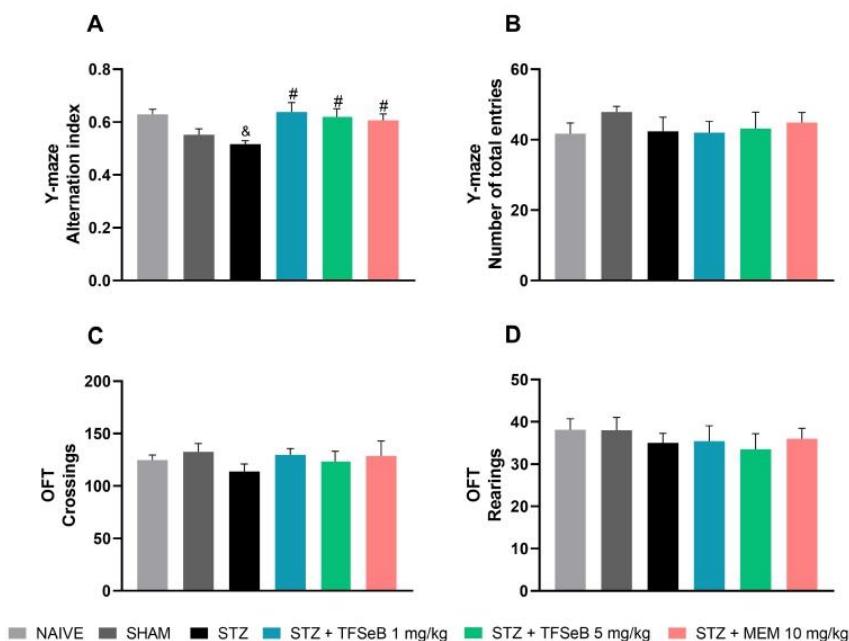
Received: February 24, 2025

Revised: June 6, 2025

Accepted: June 10, 2025

Published: June 16, 2025





**Figure 1.** Effects of the compound TFSeB on (A) correct alternation rate and (B) total number of arm entries in the Y-maze test, and (C) crossings and (D) rearings in the open field test (OFT). Values are expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean (S.E.M.),  $N = 7$ –8 animals per group. One-way ANOVA followed by Newman–Keuls post hoc test. (&)  $p < 0.05$  compared with the naive group. (#)  $p < 0.05$  compared with STZ group. Abbreviations: STZ—streptozotocin; MEM: memantine (positive control).

promoting inflammatory and apoptotic processes that result in brain atrophy and cognitive dysfunction.<sup>5</sup>

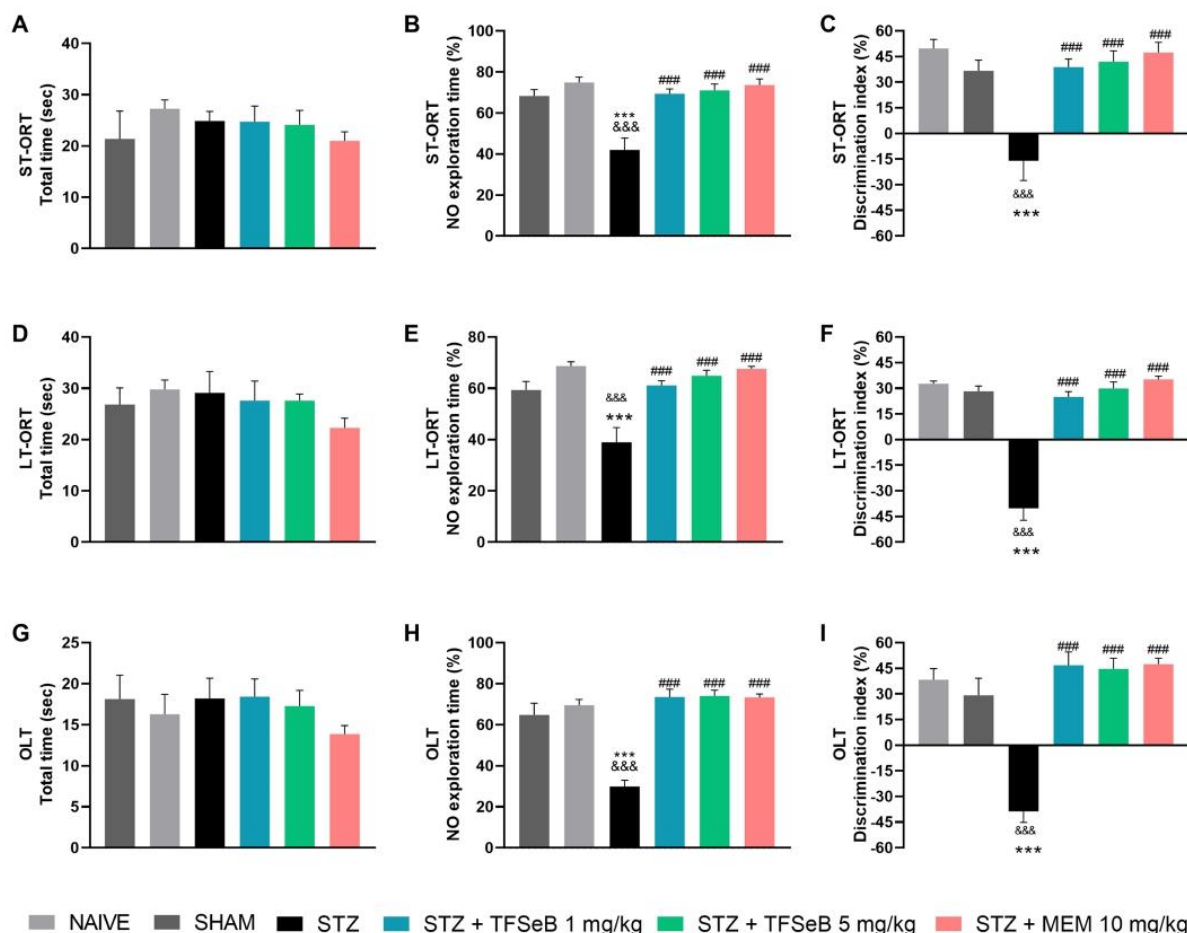
Among the available experimental models for studying AD, memory impairment induced by intracerebroventricular (ICV) injection of streptozotocin (STZ) has been widely used in rodents, as it mimics key aspects of the disease's pathophysiology, including cognitive deficits, exacerbated oxidative stress, neuroinflammation, and impaired cerebral energy metabolism.<sup>6,7</sup> STZ is a neurotoxin that disrupts insulin signaling in the brain, leading to metabolic deficits that favor neuronal degeneration.<sup>8</sup> This model enables the investigation of therapeutic strategies targeting oxidative stress and neuroinflammation, which are critical factors in AD progression.<sup>6</sup> Additionally, the reduction in cholinergic neurotransmitter levels and impairment of synaptic plasticity observed in this model further support its relevance for studying the disease and developing new therapeutic approaches.<sup>9</sup>

In recent years, compounds with antioxidant, anti-inflammatory, and neurotransmission-modulating properties have been explored as potential therapeutic strategies for AD.<sup>10</sup> Among these, selenium-containing compounds stand out due to their neuroprotective properties associated with their ability to reduce oxidative stress and regulate inflammatory pathways.<sup>11</sup> Selenium is an essential element involved in the activity of antioxidant enzymes, playing a fundamental role in protecting against oxidative damage and regulating cellular signaling.<sup>12,13</sup> In this sense, selenium has a crucial role in maintaining healthy brain activity. Studies have shown that organoselenium compounds can modulate neuroinflammation, attenuate  $\beta$ -amyloid accumulation, and preserve mitochondrial function, which are crucial characteristics for neuroprotection in AD.<sup>14</sup>

The compound 2-(((3-trifluoromethyl)phenyl(selenyl)methyl)-2,3-dihydrobenzofuran (TFSeB) features a benzofuran core, known for its antioxidant properties, and an organoselenium group, recognized for its role in modulating oxidative stress and neuroinflammation.<sup>12,15</sup> Although this is the first *in vivo* study of TFSeB in the context of AD, the compound was developed through the combination of compounds and structures known for their therapeutic relevance.<sup>16</sup> Organoselenium derivatives have demonstrated the ability to attenuate oxidative stress, regulate neuroinflammatory responses, and preserve mitochondrial function.<sup>17</sup> Similarly, dihydrobenzofuran structures are reported to possess antioxidant and antiapoptotic activities,<sup>18</sup> supporting the rationale for exploring this hybrid molecule (TFSeB) in neurodegenerative models. Some organoselenium compounds may also modulate the activity of enzymes relevant to neurotransmission, such as acetylcholinesterase (AChE) and monoamine oxidases (MAO).<sup>15</sup> Indeed, selenyl-2,3-dihydrobenzofurans effectively inhibited cerebral MAO-B activity *in vitro*, with compound TFSeB demonstrating the most pronounced effect.<sup>15</sup> Considering that MAO-B inhibitors act as therapeutic agents for AD, reducing oxidative damage and improving cognitive function, compound TFSeB emerges as a promising candidate for studies focused on developing more effective therapies for AD.

Given this context, the present study aimed to evaluate the therapeutic of compound TFSeB in a mouse AD model induced by STZ, seeking to understand its mechanisms of action. The investigation mainly focused on the modulation of oxidative stress, inflammation, and neurotransmission key aspects.





**Figure 2.** Effects of the compound TFSeB on short-term-object recognition test (ST-ORT), long-term-object recognition test (LT-ORT) and object location test (OLT). Total exploration time of both objects in ST-ORT (A), LT-ORT (D), and OLT (G), respectively. (B, E, H) Exploration time of the novel object in ST-ORT (B), LT-ORT (E) and OLT (H), respectively. Discrimination index in ORT (C), LT-ORT (F) and OLT (I), respectively. Values are expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean (S.E.M.), 7–8 animals per group. Statistical analysis was performed by one-way ANOVA followed by Newman–Keuls post hoc test. (&&&)  $p < 0.001$  compared with naive group; (\*\*\*)  $p < 0.001$  compared with sham group; (###)  $p < 0.001$  compared with STZ group. Abbreviations: STZ—streptozotocin; MEM: memantine (positive control).

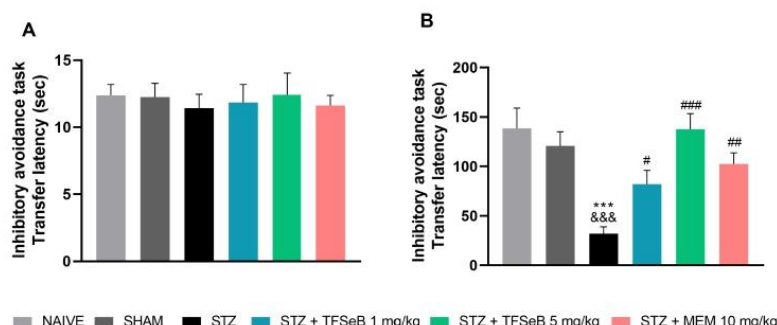
## 2. RESULTS AND DISCUSSION

**2.1. Compound TFSeB Enhances Spatial Memory in Mice Exposed to STZ in the Y-Maze Test without Affecting Locomotion.** The Y-maze is a behavioral test used in rodents to assess cognitive functions, especially working memory and spatial exploration.<sup>19</sup> As shown in Figure 1, the treatments triggered significant changes in the cognitive parameter assessed in the Y-maze test [ $F_{(5, 39)} = 4.247$ ,  $p = 0.0035$ ] (Figure 1A). STZ group exhibited a significant reduction of the percentage of correct alternations compared with the naive group, indicating deficits in spatial working memory. Importantly, the administration of compound TFSeB at both doses, as well as the positive control memantine (MEM), effectively reversed this impairment, restoring mouse memory performance to control levels. These findings suggest that compound TFSeB exerts a protective effect against STZ-induced cognitive deficits, particularly in spatial working memory, a domain highly associated with hippocampal

function, which has been previously seen in other studies with selenic compounds.<sup>20,21</sup> No significant differences were observed in the total number of entries [ $F_{(5, 39)} = 0.4377$ ,  $p = 0.8194$ ] (Figure 1B).

Memory tests may be influenced by the animals' physical health (sensory or motor functions) and motivation. Due to this reason, an open-field test (OFT) is commonly applied before memory tests, to avoid misinterpretation of results and validate memory tests findings. Our results show that locomotor function in the OFT remained intact in animals exposed to STZ, MEM and/or TFSeB compound with no significant differences in the number of crossings [ $F_{(5, 39)} = 0.2015$ ,  $p = 0.7506$ ] (Figure 1C) or rearings [ $F_{(5, 39)} = 0.3570$ ,  $p = 0.8746$ ] (Figure 1D). These findings corroborate the total entries observed in the Y-maze also used as a locomotion parameter.

**2.2. Compound TFSeB Restores Memory Deficits Caused by STZ in the Object Recognition and Location Tests.** Other widely used memory tasks in preclinical research



**Figure 3.** Effects of compound TFSeB on inhibitory avoidance task (A) Latency time to platform descent during training and (B) Latency time on the test day. Data are presented as the mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM), with 7–8 animals per group. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by Newman–Keuls post hoc test. (\*\*\*)  $p < 0.001$  compared with naive group; (&&&)  $p < 0.001$  compared with sham group; (#)  $p < 0.05$ , (##)  $p < 0.01$ , (###)  $p < 0.001$  compared with STZ group. Abbreviations: STZ—streptozotocin; MEM: memantine (positive control).

include the new object recognition (ORT) and location (OLT) tests, which assess recognition memory and spatial memory, respectively.<sup>22</sup> The ORT and OLT followed a similar pattern and are presented in Figure 2. In the training phase, no significant difference was observed in object exploration (data not shown). There were no significant differences between the experimental groups in the total object exploration time in any of the ST-ORT [ $F_{(5,39)} = 0.7066$ ,  $p = 0.6220$ ] (Figure 2A); LT-ORT [ $F_{(5,39)} = 0.8117$ ,  $p = 0.5486$ ] (Figure 2D); OLT [ $F_{(5,39)} = 0.5523$ ,  $p = 0.7356$ ] (Figure 2G), indicating that overall exploratory behavior remained unchanged. However, when assessing exploration time spent on novel object in ST-ORT [ $F_{(5,39)} = 10.02$ ,  $p < 0.0001$ ] (Figure 2B), LT-ORT [ $F_{(5,39)} = 12.28$ ,  $p < 0.0001$ ] (Figure 2E) and OLT [ $F_{(5,39)} = 25.77$ ,  $p < 0.0001$ ] (Figure 2H), differences among groups were detected by one-way analysis of variance (ANOVA). Post hoc demonstrated that STZ impaired animal memory, reducing the time spent exploring the object in all tasks. Notably, administration of compound TFSeB at both doses as well as the positive control (MEM) effectively reversed this impairment, restoring the exploration preference for the novel object or location.

From the data obtained in these tests it is possible to obtain the discrimination index (DI) that provides a more precise measure of memory performance. A positive DI indicates a preference for the novel object or location, reflecting intact recognition and spatial memory. A negative DI, on the other hand, suggests an inverse preference, meaning the subject explored the familiar object or location more than the novel one, which is indicative of memory impairment.<sup>22</sup> In the present study, significant alterations were detected by ANOVA for ST-ORT ( $F_{(5,39)} = 10.20$ ,  $p < 0.0001$ ) (Figure 2C), LT-ORT [ $F_{(5,39)} = 57.70$ ,  $p < 0.0001$ ] (Figure 2F), and OLT [ $F_{(5,39)} = 23.66$ ,  $p < 0.0001$ ] (Figure 2I). The STZ group exhibited a significantly negative DI across all tasks, confirming STZ-induced cognitive deficits. Like MEM, treatment with TFSeB at both doses restored the DI to positive values comparable to those of the control groups, indicating a clear reversal of the memory impairment in mice caused by STZ.

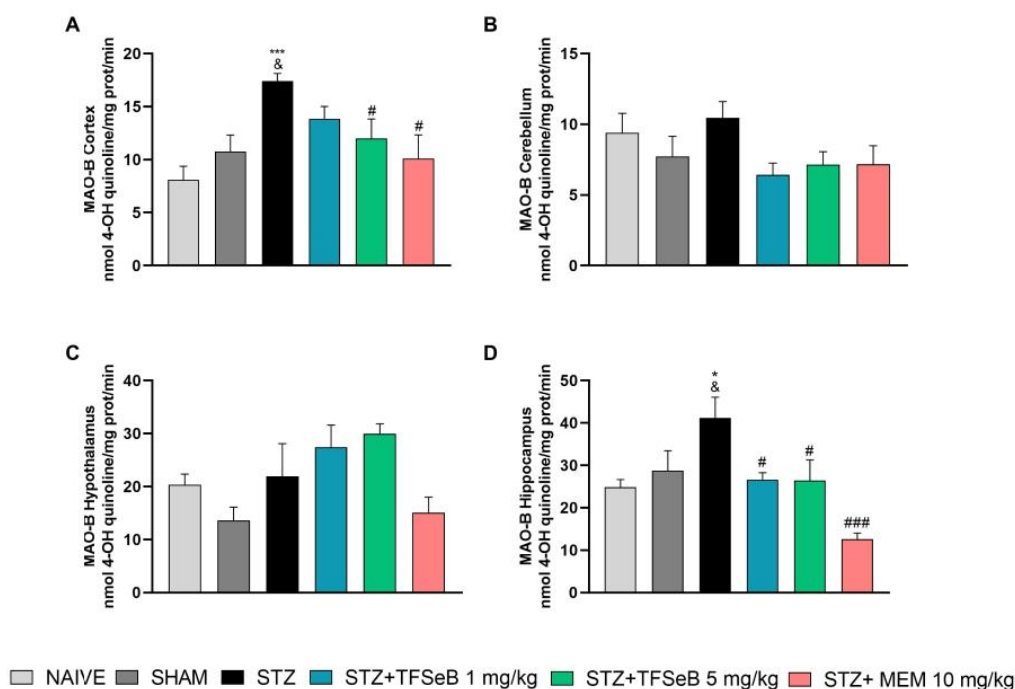
**2.3. Compound TFSeB Improves Memory Performance of STZ Mice in the Stepwise Reduction Inhibitory Avoidance Task.** The gradual reduction inhibitory avoidance task, a behavioral experiment used to evaluate learning and

fear-associated memory in rodents by assessing their ability to avoid a painful stimulus, was included in our battery of behavioral tests, with results presented in Figure 3. During the training session (Figure 3A), all animal groups exhibited similar behavior by stepping down from the platform, a normal response to the novel environment [ $F_{(5,39)} = 0.1402$ ,  $p = 0.9818$ ], indicating that learning was consistent across all groups. Upon stepping down, they received a mild electric shock, which served to associate the platform with an aversive stimulus.

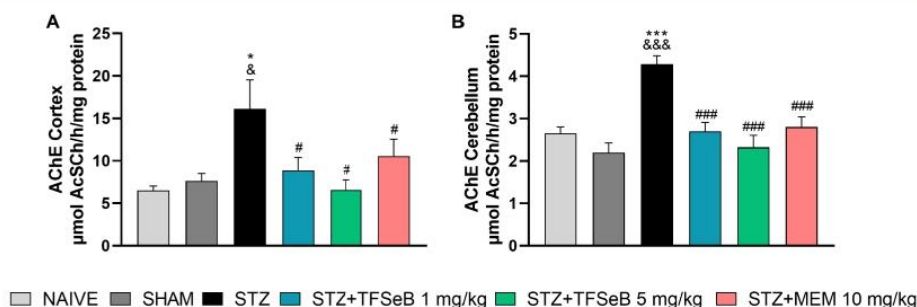
In the test session (Figure 3B), performed 24 h later, animals with intact memory would remember the shock and, as a result, avoid stepping down quickly from the platform. This was reflected in significantly longer step-down latencies observed in the naive and sham groups. Conversely, the group which had impaired memory due to the STZ-induced toxicity displayed a significantly shorter step-down latency, indicating that they failed to remember the previous aversive experience and descended the platform more rapidly. Treatment with compound TFSeB at both doses tested, as well as the positive control (MEM), effectively reversed this memory deficit, with the pharmacologically treated groups showing similar reduction latencies to the naive and sham groups [ $F_{(5,39)} = 8.226$ ,  $p < 0.0001$ ]. This suggests that TFSeB successfully mitigated the memory impairment induced by STZ, restoring the animals' ability to recall the previous aversive experience. In addition, the inhibitory avoidance task results were reliable, as all animals exhibited similar behavior during training, and there were no changes in locomotion in the OFT, similar to studies available in the literature with selenium-containing compounds.<sup>23</sup>

**2.4. Compound TFSeB Normalizes Cortical and Hippocampal MAO-B Activity in STZ Mice.** MAO-B plays a crucial role in the activity of monoamines, such as dopamine, and its increased activity is strongly associated with cognitive decline and neurodegenerative diseases. MAO-B inhibitors, such as selegiline and rasagiline, are widely used in the treatment of pathologies such as Alzheimer's and Parkinson's due to their ability to preserve dopaminergic neurotransmission and reduce oxidative stress.<sup>24</sup> Based on previous *in vitro* findings demonstrating that TFSeB inhibits cerebral MAO-B activity,<sup>15</sup> we extended our investigation to evaluate whether this effect would also occur in *ex vivo*





**Figure 4.** Effects of the compound TFSeB on MAO-B activity in different brain regions: (A) cortex, (B) cerebellum, (C) hypothalamus, and (D) hippocampus. Values are presented as the mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM), with 7–8 animals per group (A, B, and C) or 5 animals per group for (D). Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by Newman–Keuls post hoc test. (&)  $p < 0.05$  compared with the naive group; (\*)  $p < 0.05$  and (\*\*\*)  $p < 0.001$  compared with the sham group; (#)  $p < 0.05$  and (###)  $p < 0.001$  compared with the STZ group. Abbreviations: STZ—streptozotocin; MEM: memantine (positive control).



**Figure 5.** Effects of the compound TFSeB on AChE activity in the (A) cortex and (B) cerebellum. Values are expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM), with 7–8 animals per group. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by Newman–Keuls post hoc test. (&)  $p < 0.05$  and (&&&)  $p < 0.001$  compared with the naive group. (\*)  $p < 0.05$  and (\*\*\*)  $p < 0.001$  compared with the sham group. (#)  $p < 0.05$  and (###)  $p < 0.001$  compared with the STZ group. Abbreviations: STZ—streptozotocin; MEM: memantine (positive control).

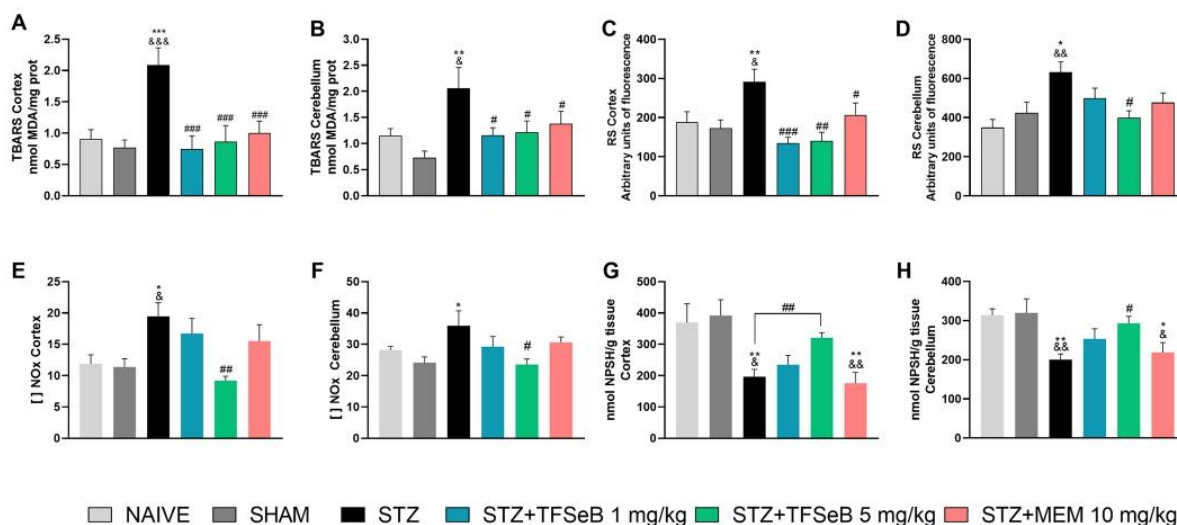
conditions of AD model. To this end, MAO-B activity was analyzed in selected brain regions of treated animals, allowing us to explore the compound's potential to modulate this enzyme in a physiologically relevant context.

The cortex and hippocampus were explored due to their central role in cognition and memory. The hippocampus is essential for memory consolidation, while the cortex is involved in executive functions and information storage.<sup>25</sup> Studies indicate severe alterations in these tissues, including dysfunctions in monoaminergic neurotransmission.<sup>26,27</sup>

The results show that STZ administration significantly increased MAO-B activity in the cortex [ $F_{(5,39)} = 4.924$ ,  $p = 0.0014$ ] (Figure 4A) and hippocampus [ $F_{(5,24)} = 6.42$ ,  $p =$

0.0006] (Figure 4D), demonstrating that STZ-induced neurotoxicity impacts the monoaminergic system. Treatment with TFSeB was effective in reversing this change, reducing enzyme activity in the hippocampus (1 and 5 mg/kg) and cortex (5 mg/kg) to levels close to those of the control group. The preservation of monoaminergic activity in these regions may be related to improved synaptic plasticity and memory recovery, given that MAO-B hyperactivity is associated with deficits in long-term potentiation, a fundamental mechanism for memory construction.

In contrast, no significant differences in MAO-B activity were detected in the cerebellum [ $F_{(5,39)} = 1.607$ ,  $p = 0.1811$ ] (Figure 4B) and hypothalamus [ $F_{(5,39)} = 3.000$ ,  $p = 0.0219$ ]



**Figure 6.** Effects of the compound TFSeB on redox markers (TBARS, ROS, NOx, and NPSH) in the cortex and cerebellum. (A) and (B) represent TBARS levels in the cortex and cerebellum, respectively. (C) and (D) show ROS levels in the cortex and cerebellum. (E) and (F) illustrate NOx levels in the cortex and cerebellum, while (G) and (H) depict NPSH levels in the cortex and cerebellum. Values are expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM), with 7–8 animals per group. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by the Newman–Keuls post hoc test. (&)  $p < 0.05$ , (&&)  $p < 0.01$ , and (&&&)  $p < 0.001$  compared with the naive group; (\*)  $p < 0.05$ , (\*\*)  $p < 0.01$ , and (\*\*\*)  $p < 0.001$  compared with the sham group; (#)  $p < 0.05$ , (##)  $p < 0.01$ , and (###)  $p < 0.001$  compared with the STZ group. Abbreviations STZ—streptozotocin; MEM—memantine (positive control).

(Figure 4C) after STZ administration. Although these regions also play cognitive regulatory roles, the lack of change may indicate that the neurotoxic effect of STZ is more pronounced in the hippocampus and cortex.<sup>17,28,29</sup>

In addition to manipulating neurotransmitters, MAO-B contributes to oxidative stress, as its activity generates hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), exacerbating neuronal damage.<sup>30</sup> STZ-induced MAO-B increase may therefore amplify oxidative stress and neuroinflammation, reinforcing neuronal impairment. The reduction of MAO-B activity by TFSeB suggests a dual neuroprotective effect: preservation of monoaminergic neurotransmission and mitigation of reactive oxygen species production. Furthermore, the results corroborate the previously published *in vitro* MAO-B inhibition results of this compound,<sup>15</sup> reinforcing the potential of TFSeB as a MAO-B modulator with therapeutic applications in neurodegenerative disorders.

## 2.5. Compound TFSeB Reverses Increased AChE Enzyme in the Cortex and Cerebellum in STZ Mice.

AChE is the enzyme responsible for the breakdown of acetylcholine (ACh) in the synaptic cleft, and its hyperactivity is neurotoxic and directly associated with impaired cholinergic neurotransmission—one of the key mechanisms involved in memory loss observed in neurodegenerative diseases.<sup>31</sup> Statistical analysis of AChE activity revealed a significant impact of the drugs on cortex [ $F_{(5,33)} = 3.717$ ,  $p = 0.0089$ ] (Figure 5A) and cerebellum [ $F_{(5,39)} = 11.98$ ,  $p < 0.0001$ ] (Figure 5B). STZ exposure caused increased AChE activity in both structures while treatment with compound TFSeB at both doses effectively normalized its activity. These findings suggest a potential neuroprotective effect of TFSeB, in line with the central role of the cholinergic system in cognition and memory.

The increase in AChE activity in the STZ group suggests an accelerated degradation of ACh, leading to lower availability of this essential neurotransmitter crucial for synaptic plasticity

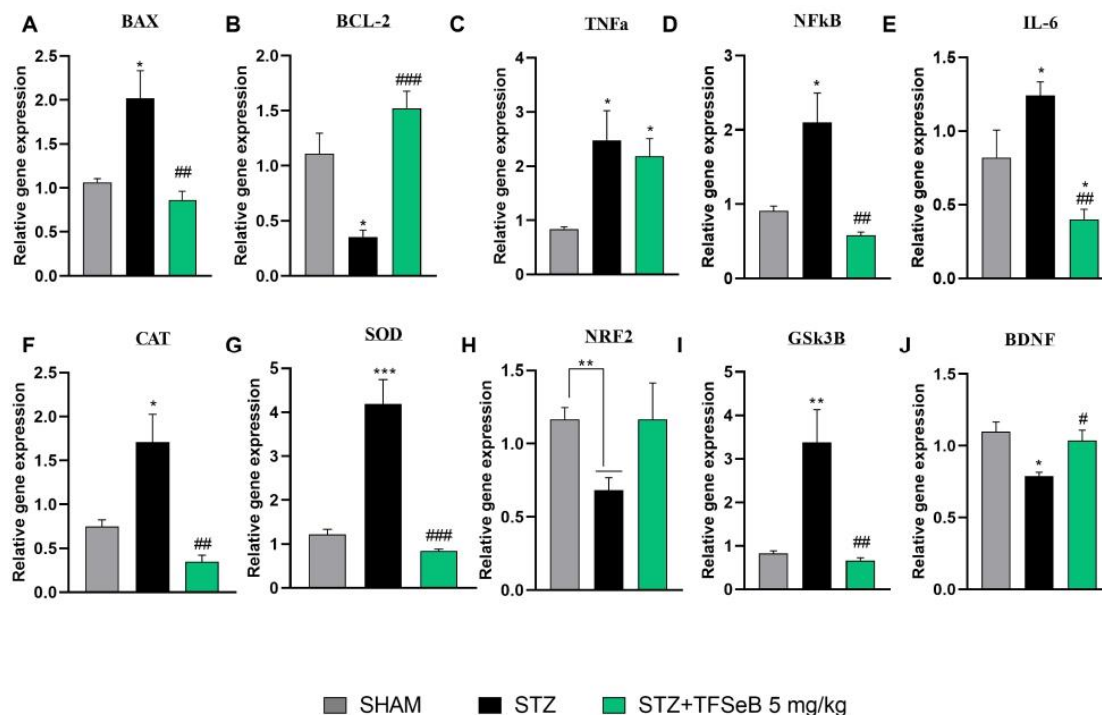
and learning and memory processes,<sup>32</sup> which appears to be related to cognitive deficits induced by STZ observed in behavior tests. On the other hand, a reduction in AChE activity observed in the groups treated with the TFSeB compound is a significant finding, as it suggests that this molecule may help restore cholinergic neurotransmission. This is particularly relevant because AChE inhibition is one of the most established therapeutic strategies for AD, forming the basis of drugs such as donepezil and rivastigmine.<sup>33</sup>

Another important aspect is that cholinergic dysfunction does not occur in isolation but rather interacts with other pathological mechanisms, such as oxidative stress and neuroinflammation.<sup>34,35</sup> In addition to increasing AChE activity, STZ also triggers a neurotoxic environment characterized by the accumulation of ROS and the activation of inflammatory pathways, including nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) and pro-inflammatory cytokines.<sup>36</sup> Therefore, the ability of TFSeB to reduce AChE activity may be associated with broader modulation of these neurodegenerative processes, ultimately contributing to improved synaptic function and cognitive performance, as observed in behavioral tests.

## 2.6. Compound TFSeB Improves Levels of Oxidative Stress Markers in STZ Mice.

The brain is highly susceptible to oxidative damage due to its high metabolic demand and lipid-rich composition, making lipid peroxidation a major contributor to neurodegeneration,<sup>37</sup> and oxidative stress that plays a significant role in the development and progression of AD by contributing to neuronal damage and dysfunction.<sup>4</sup> For this reason, here, redox parameters such as thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), reactive species (RS), NOx and NPSH levels were assessed in the cortex and cerebellum. As represented in Figure 6, statistical analyses revealed significant STZ-induced alterations and protective antioxidant effects of the TFSeB compound.





**Figure 7.** Effects of the compound TFSeB (5 mg/kg) on hippocampal gene expression: mRNA levels of (A) BAX, (B) BCL2, (C) TNF- $\alpha$ , (D) NF- $\kappa$ B, (E) IL-6, (F) CAT, (G) SOD, (H) NRF2, (I) GSK3B, and (J) BDNF. Data are presented as the mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM);  $n = 4$  per group. Statistical analysis was conducted using one-way ANOVA followed by the Newman–Keuls post hoc test (\*)  $p < 0.05$ , (\*\*)  $p < 0.01$ , and (\*\*\*)  $p < 0.001$  represent comparisons with the sham group; (#)  $p < 0.05$ , (##)  $p < 0.01$ , and (###)  $p < 0.001$  represent comparisons with the STZ group, except for NRF2, which was analyzed using an unpaired  $t$  test (\*\*)  $p < 0.01$ .

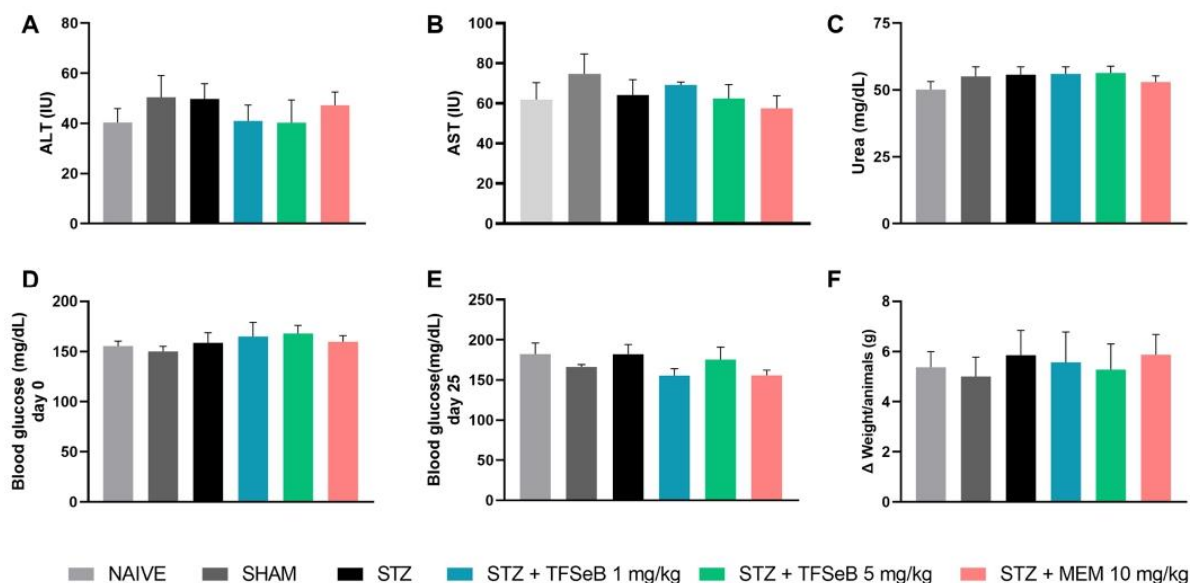
In the lipid peroxidation assay, the STZ group exhibited a pronounced increase of TBARS levels, indicating increased oxidative damage in the cortex [ $F_{(5, 39)} = 6.150$ ,  $p = 0.0003$ ] (Figure 6A) and cerebellum [ $F_{(5, 39)} = 3.727$ ,  $p = 0.0075$ ] (Figure 6B). On the other hand, treatment with TFSeB, at both doses, significantly reduced TBARS levels. This suggests that TFSeB effectively counteracted lipid peroxidation in these brain regions.

Regarding RS production, the STZ group showed a substantial increase in RS levels, potentially related to oxidative damage observed. In the cortex, both doses of TFSeB significantly reduced RS levels [ $F_{(5, 39)} = 5.325$ ,  $p = 0.0008$ ] (Figure 6C). However, in the cerebellum, only the 5 mg/kg dose of TFSeB was able to significantly decrease RS levels [ $F_{(5, 33)} = 4.244$ ,  $p = 0.0043$ ] (Figure 6D). MEM, a N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist, was effective in reducing TBARS and RS in both brain structures, which could be related with its glutamatergic mechanisms.

The observed increase in TBARS and RS levels in the STZ group is consistent with the well-documented role of STZ in inducing oxidative stress and lipid peroxidation in the brain.<sup>38</sup> STZ is known to generate RS through multiple pathways, including mitochondrial dysfunction, activation of pro-oxidant enzymes, and inhibition of antioxidant defense systems.<sup>6,35</sup> The resulting oxidative imbalance leads to lipid peroxidation, causing structural and functional damage to neuronal membranes.<sup>39</sup> The elevated TBARS levels observed in the STZ group provide direct evidence of this oxidative insult, reinforcing the link between STZ-induced neurotoxicity and

excessive lipid peroxidation. A key consequence of increased oxidative stress is neuronal dysfunction and apoptosis, particularly in regions critical for cognitive processing, such as the cortex and cerebellum.<sup>40</sup> The significant reduction in TBARS levels following TFSeB treatment suggests that this compound exerts a protective effect against lipid peroxidation, potentially by enhancing antioxidant defenses or directly scavenging RS. The decrease in RS levels observed in the cortex (both doses) and, to a lesser extent (5 mg/kg), in the cerebellum following TFSeB treatment highlights the region-specific nature of oxidative stress modulation. This suggests that different brain regions may exhibit varying susceptibility to oxidative stress and may require different thresholds of antioxidant intervention for effective protection.<sup>41</sup> The ability of TFSeB to lower RS levels is particularly relevant, as excessive RS production not only damages cellular structures but also activates inflammatory signaling pathways, further exacerbating neurotoxicity.<sup>42</sup> By reducing lipid peroxidation and RS accumulation, TFSeB may help preserve membrane integrity, sustain neuronal viability, and maintain synaptic function.

Complementing the oxidative stress analysis, NOx and NPSH levels were also measured in the prefrontal cortex and cerebellum. NO is synthesized by nitric oxide synthases (NOS), with inducible NOS (iNOS) playing a crucial role in neurodegenerative conditions and can be indirectly measured by nitrite and nitrate levels (NOx). Overproduction of NO leads to the formation of peroxynitrite, a highly reactive and neurotoxic species that exacerbates oxidative damage,



**Figure 8.** Effects of the compound TFSeB on (A) ALT, (B) AST, (C) Urea, (D) Blood glucose on day 0, (E) Blood glucose on day 25, and (F) Weight Variation. Data are presented as the mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM), with 7–8 animals per group. No significant differences were observed between groups. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by the Newman–Keuls post hoc test. Abbreviations: STZ—streptozotocin; MEM: memantine (positive control).

mitochondrial dysfunction, and neuronal loss.<sup>43</sup> In parallel, nonprotein sulfhydryl (NPSH) groups refer to free thiol (–SH) groups, mainly from compounds like glutathione (GSH) and cysteine, and are commonly measured as an indicator of antioxidant capacity and redox status.<sup>44</sup> The statistical analysis of nitric oxide metabolites (NOx) and NPSH in the cortex and cerebellum revealed significant alterations induced by STZ and the potential modulatory effects of TFSeB.

In the cortex [ $F_{(5, 39)} = 3.780$ ,  $p = 0.0069$ ] and cerebellum [ $F_{(5, 39)} = 2.719$ ,  $p = 0.0335$ ], NOx levels were significantly elevated in the STZ group compared with the naive group, while treatment with TFSeB at 5 mg/kg significantly reduced these levels, suggesting a protective effect against STZ-induced disruptions in nitric oxide homeostasis, as can be seen in Figure 6E,F. The increase in NOx levels in the STZ group is consistent with STZ's ability to induce neuroinflammation and oxidative stress, both of which contribute to excessive nitric oxide (NO) production.<sup>45</sup> The reduction in NOx levels by TFSeB suggests that this compound may counteract these pathological effects, potentially by inhibiting iNOS expression or enhancing the scavenging of NO-derived radicals, thereby limiting peroxynitrite formation. Given the interplay between NO signaling and neuroinflammation, this effect may also contribute to broader neuroprotective mechanisms.

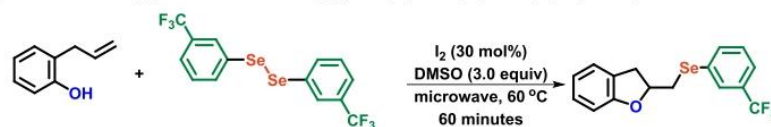
In addition, STZ administration significantly reduced NPSH levels in both the cortex and cerebellum, highlighting a depletion of endogenous antioxidant defenses. NPSH levels were significantly reduced by STZ in both the cortex and cerebellum compared to the naive and sham groups. However, treatment with TFSeB at 5 mg/kg restored these levels in the cortex ( $t = 4.204$ ,  $p = 0.001$ , unpaired  $t$ -test) and cerebellum [ $F_{(5, 39)} = 4.788$ ,  $p = 0.0017$ ], as illustrated in Figure 6G,H. These findings suggest that TFSeB may enhance cellular antioxidant capacity, counteracting the oxidative stress induced

by STZ. The depletion of NPSH in the STZ group aligns with its role in redox homeostasis, as nonprotein thiols, primarily represented by glutathione (GSH), are essential for neutralizing reactive oxygen and nitrogen species and maintaining cellular antioxidant defenses.<sup>44,46</sup> GSH plays a central role in peroxide detoxification and redox balance modulation through the glutathione peroxidase and glutathione reductase systems.<sup>44</sup> The observed NPSH reduction suggests impaired glutathione metabolism, which may exacerbate oxidative damage and contribute to neurodegeneration. This effect is particularly relevant in the context of neurodegenerative diseases, where GSH depletion is a hallmark of neuronal vulnerability.

**2.7. Compound TFSeB Regulates Gene Expression Markers in the Hippocampus of STZ Mice.** STZ-induced neurodegeneration has been widely associated with memory impairment and pathological processes similar to those observed in AD, emphasizing the importance of understanding the mechanisms by which TFSeB may mitigate these alterations. Figure 7 presents the analyses of gene expression of markers related to oxidative stress, neuroinflammation, neurotrophic support, and apoptosis, conducted on hippocampal samples to provide insights into the molecular effects of STZ and the potential neuroprotective properties of TFSeB (evaluated at 5 mg/kg).

Oxidative stress plays a critical role in neurodegeneration, and STZ administration led to a decrease in NRF2 expression<sup>47</sup> [ $F_{(2, 9)} = 3.099$ ,  $p = 0.0946$ ] (Figure 7H), suggesting an impaired antioxidant response. Although treatment with TFSeB increased NRF2 expression, this effect did not reach statistical significance. However, this does not exclude the possibility that a higher dose or prolonged exposure could enhance NRF2 activation to a significant level. In parallel, STZ induced a compensatory increase in the activity of antioxidant enzymes, CAT [ $F_{(2, 9)} = 13.29$ ,  $p =$



Scheme 1. General Synthesis of 2-(((3-Trifluoromethyl)phenyl)(selenyl)methyl)-2,3-dihydrobenzofuran (TFSeB)<sup>1</sup>

0.002] (Figure 7F) and SOD [ $F_{(2,9)} = 30.72$ ,  $p < 0.0001$ ] (Figure 7G), likely as a response to excessive ROS.<sup>45</sup> Treatment with TFSeB reduced the activity of both enzymes, bringing them closer to sham levels, suggesting a decrease in oxidative burden. These findings align with the hypothesis that TFSeB exerts antioxidant effects, possibly by modulating intracellular redox pathways such as NRF2/ARE or directly neutralizing ROS.<sup>45</sup>

Neuroinflammation is another key factor in AD pathology. STZ administration significantly increased NF- $\kappa$ B expression (Figure 7D), a major transcription factor mediating inflammatory responses<sup>48</sup> [ $F_{(2,9)} = 11.83$ ,  $p = 0.0030$ ], as well as IL-6 levels [ $F_{(2,9)} = 11.13$ ,  $p = 0.0037$ ] (Figure 7E). Treatment with TFSeB effectively attenuated these effects, reinforcing its anti-inflammatory potential. Similarly, TNF- $\alpha$ , a critical cytokine in AD progression,<sup>49,50</sup> was elevated in the STZ group [ $F_{(2,9)} = 5.653$ ,  $p = 0.0257$ ], and although TFSeB treatment led to a reduction, this decrease was modest (Figure 7C), suggesting that the compound's effects on neuroinflammation may be more selective or dependent on additional regulatory mechanisms.<sup>51–53</sup>

The inflammatory response triggered by STZ also impacted on neurotrophic support. BDNF expression, essential for synaptic plasticity and memory consolidation, was significantly reduced in the STZ group (Figure 7J), reflecting the cognitive impairments observed in AD models.<sup>54,55</sup> Treatment with TFSeB restored BDNF levels [ $F_{(2,9)} = 16.79$ ,  $p = 0.0009$ ], suggesting a potential role in promoting neuroplasticity. This effect may be linked to intracellular signaling pathways such as CREB and Akt, which regulate neuronal survival and have been explored as therapeutic targets in AD.<sup>55</sup>

Finally, apoptotic markers reflected the downstream consequences of oxidative and inflammatory stress. The pro-apoptotic protein BAX was significantly upregulated in the STZ group compared with the sham group, whereas TFSeB treatment effectively reduced its expression [ $F_{(2,9)} = 10.30$ ,  $p = 0.0047$ ] (Figure 7A). Conversely, BCL-2, an essential antiapoptotic protein, was downregulated in the STZ group but restored by TFSeB treatment [ $F_{(2,9)} = 16.79$ ,  $p = 0.0009$ ] (Figure 7B). These results indicate that TFSeB may help maintain mitochondrial integrity and inhibit apoptosis, further supporting its neuroprotective effects.<sup>56</sup>

Overall, these findings reinforce the hypothesis that TFSeB modulates oxidative stress, neuroinflammation, and apoptosis, key processes involved in AD-related neurodegeneration. The restoration of BDNF levels, along with the regulation of inflammatory and apoptotic markers, suggests that TFSeB contributes to neuronal survival and synaptic plasticity.

**2.8. Repeated Treatment with Compound TFSeB Does Not Induce Toxicity Effects.** Analysis of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) activities, as well as urea levels, indicated that chronic treatment with compound TFSeB did not cause significant changes in markers of liver and kidney function. The results for ALT [ $F_{(5,39)} = 0.4875$ ,  $p = 0.7835$ ] (Figure 8A) and AST

[ $F_{(5,39)} = 0.6271$ ,  $p = 0.6801$ ] (Figure 8B) showed no differences between the groups, which evidenced the absence of hepatotoxicity. Likewise, urea levels [ $F_{(5,47)} = 0.6941$ ,  $p = 0.6305$ ] remained unchanged, suggesting that the treatment did not negatively affect the kidneys (Figure 8C).

Furthermore, no significant changes were observed in blood glucose levels before [ $F_{(5,39)} = 1.146$ ,  $p = 0.3530$ ] (Figure 8D) and after treatment [ $F_{(5,39)} = 1.333$ ,  $p = 0.2707$ ] (Figure 8E) with TFSeB or in the body weight of the animals [ $F_{(5,39)} = 0.1468$ ,  $p = 0.9798$ ] (Figure 8F), reinforcing the safety of the TFSeB compound in relation to these parameters.

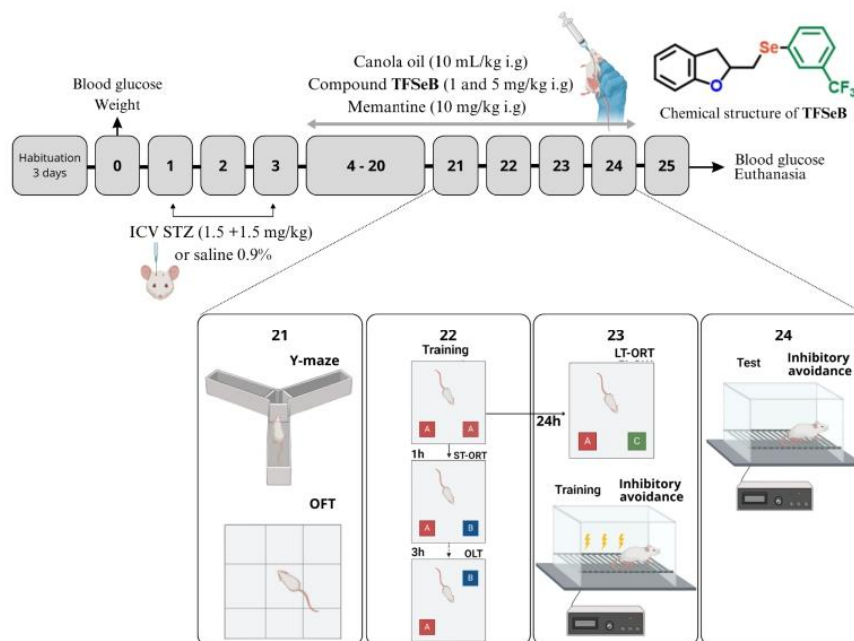
These findings are essential for assessing the safety of the compound TFSeB, especially in a chronic treatment context. Liver and kidney integrity are essential to ensure that the metabolism and elimination of the compound occur without adverse effects, while the stability of blood glucose levels and body weight indicates that the treatment did not interfere with the metabolic balance of the animals. Thus, the results reinforce the safe profile of TFSeB, with no evidence of relevant toxicity from repeated administrations at low doses that could compromise its potential therapeutic use. Additionally, future studies employing standardized protocols for acute oral toxicity at higher doses *in vivo* may provide further insights into the compound's safety profile and tolerability limits.

In addition to toxicity profile, the characterization of pharmacokinetic parameters represents a fundamental step in the drug development process, especially for compounds intended for oral administration, as these properties critically determine therapeutic efficacy, safety, and optimal dosing strategies. Key ADME properties, such as intestinal absorption, metabolic stability, distribution profile, and blood–brain barrier permeability, must be carefully characterized to ensure that the compound reaches its target site at appropriate concentrations without inducing systemic toxicity. Therefore, we acknowledge that the absence data on the pharmacokinetic properties of the compound TFSeB represents a limitation of the present study. In addition, we recognize the importance of studying the MAO selectivity, extending this investigation to both sexes, well as exploring AD comorbidities (e.g., psychiatric diseases). Together, these future findings may provide important preclinical support for the continued development of compound TFSeB as a neuroprotective candidate.

### 3. CONCLUSIONS

Through behavioral, biochemical and molecular approaches, this study demonstrated that the compound TFSeB exerted protective effects in a model of STZ-induced AD. Treatment with TFSeB modulated processes involved in STZ toxicity, including neuroinflammation, oxidative stress, synaptic dysfunction, in addition to restoring the levels of mRNA of proteins essential for neuroplasticity and cognitive function. These effects are in line with previous investigations on selenium compounds, reinforcing their therapeutic potential. Thus, TFSeB shows itself to be a promising candidate for the





**Figure 9.** Experimental design and chemical structure of the compound TFSeB. ICV: intracerebroventricular injection; STZ: streptozotocin; OFT: open field test; LT-ORT: long-term object recognition test; ST-ORT: short-term object recognition test; OLT: object location test.

development of new strategies in the treatment of neurodegenerative diseases. Additional studies evaluating the pharmacokinetic properties, additional oral safety as well as potential efficacy of TFSeB in the treatment of AD comorbidities such as anxiety and depression, will be crucial to advancing its therapeutic development.

#### 4. MATERIALS AND METHODS

**4.1. Drugs.** The compound 2-(((3-(trifluoromethyl)phenyl)selenyl)methyl)-2,3-dihydrobenzofuran (TFSeB) (Scheme 1 and Figure 9) was previously synthesized and characterized by the SupraSelen Laboratory of the Fluminense Federal University (UFF) using a solvent- and metal-free methodology, through a reaction between 2-allylphenol and diphenyl diselenide, catalyzed by  $I_2$ /DMSO under microwave-assisted heating (Scheme 1).<sup>1</sup> Due to its lipophilic nature, the compound TFSeB was dissolved in canola oil for intragastric (i.g.) administration.

Streptozotocin (STZ), purchased from Sigma-Aldrich, was prepared in a 0.9% saline solution and administered via intracerebroventricular (ICV) injection at a cumulative dose of 3 mg/kg, in a fixed volume of 3  $\mu$ L per ventricle. Memantine, obtained from commercial suppliers, was dissolved in a 0.9% saline solution and administered via i.g. In all experiments, treatments were administered daily in a constant volume of 10 mL/kg of body weight.

**4.2. Animals.** Male Swiss mice (25–35 g) were obtained from the Central Animal Facility of the Federal University of Pelotas (UFPEL) and housed under controlled conditions of temperature ( $22 \pm 1$  °C) and a 12 h light/dark cycle, with ad libitum access to water and standard chow. All experimental procedures were approved by the Animal Ethics Committee (CEUA) of UFPEL (approval number 032391/2023-84) and conducted in accordance with the guidelines of the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA).

**4.3. ICV Administration Procedure.** The solution (STZ or saline) was administered into the lateral ventricles via free-hand ICV injection using a 27-gauge hypodermic needle attached to a Hamilton microsyringe. To ensure accurate depth, the needle was marked and

fitted with a rubber stopper. The system was sterilized with 70% alcohol, and a caliper was used for precise measurement. Injections were performed on days 1 and 3 of the experimental protocol, following the anatomical coordinates from the Franklin and Paxinos atlas:<sup>57</sup> AP = −0.1 mm, ML = 1 mm, DV = 3 mm.

**4.4. Experimental Protocol (AD Induction Model).** After 3 days of acclimatization, male Swiss mice ( $n = 7$ –8 per group) were divided into six experimental groups:

- Naive (no procedures or treatments)
- Sham (ICV saline 0.9% + i.g., canola oil)
- STZ (ICV + canola oil)
- STZ + Compound TFSeB (1 mg/kg)
- STZ + Compound TFSeB (5 mg/kg)
- STZ + Memantine (10 mg/kg)

Experimental design is represented in Figure 9. On day 0, body weight and basal blood glucose levels were recorded. On days 1 and 3, the animals were anesthetized and received ICV injections of STZ (total: 3 mg/kg, administered as 1.5 mg/kg per day) or saline solution, in a volume of 3  $\mu$ L bilaterally.<sup>58</sup> The ICV-STZ route was selected since it is a well-established model for inducing cognitive deficits, providing direct access to the brain and ensuring the accurate reproduction of symptoms characteristic of sporadic AD, with minimal peripheral interference.

Between days 4 and 24, the animals received daily oral treatments (i.g.) with the compound TFSeB at doses of 1 and 5 mg/kg or memantine (10 mg/kg, a NMDA receptor blocker) which served as a positive control. TFSeB was administered orally (i.g.) to mimic a clinically relevant, noninvasive route, consistent with the oral administration of memantine in clinical settings. Sham and STZ groups received canola oil, the vehicle used for TFSeB, via i.g., administration to ensure uniform vehicle exposure across experimental conditions. The naive group did not receive any treatment, either oral or ICV.

Behavioral tests were performed between days 21 and 24 to assess locomotor and exploratory activity, as well as the learning and memory capabilities of each group. On day 25, the mice were euthanized with isoflurane followed by cervical dislocation, and their brains were dissected for cortex, cerebellum, hippocampus, and



hypothalamus collection which were intended for subsequent biochemical analysis (Figure 9).

Due to tissue limitations, the hippocampal structure samples were divided between the MAO-B activity assay and RT-qPCR analyses only, while the hypothalamus was used exclusively for the MAO-B activity assay. The cortex and cerebellum were processed for all biochemical analyses, except for RT-qPCR.

**4.5. Behavioral Tests.** **4.5.1. Open Field Test.** The mice were subjected to the OFT in a wooden apparatus (30 × 30 × 15 cm) divided into nine equal quadrants, for a period of 5 min. Locomotor activity was quantified by the number of quadrants crossed with all four paws (crossings), while exploration was measured by the frequency of rearing on the hind limbs.<sup>59</sup> In addition to behavioral assessment, this test also served as a habituation phase for the subsequent novel object recognition test (ORT).

**4.5.2. Y-Maze Test.** Mice were subjected to the Y-maze test to assess spatial memory and decision-making.<sup>19</sup> The apparatus consists of three arms arranged at 120° from each other. Each animal was placed in one of the arms of the maze and had 6 min to explore freely. The total number of entries into the arms and the sequence of alternations between them were recorded. Memory was assessed based on spontaneous alternation rates, defined as successive entry into three distinct arms, without consecutive repetitions.

**4.5.3. New Object Recognition Test.** Mice first underwent a training phase in which two identical objects were placed in a corner of the arena, providing the animals with an opportunity to explore freely for 5 min.<sup>22</sup> After the training session, after a time interval of 1 h (for ST-ORT) or 24 h (for LT-ORT), one of the original objects was replaced with a novel object, and the mice were returned to the arena for a second 5 min exploration period. The time spent exploring each object was recorded. The amount of time spent exploring the novel object compared to the familiar object was used as an indicator of preserved memory. An increased preference for the novel object was interpreted as evidence of intact recognition memory, suggesting that the animal was able to distinguish between the familiar and novel objects.

**4.5.4. Object Location Test.** The OLT was performed on the same day as the ST-ORT, with a 4 h interval following the training phase. One of the identical objects was relocated to a new position, and the time spent exploring each object was recorded. Greater exploration of the displaced object indicated preserved spatial memory.<sup>22</sup>

**4.5.5. Gradual Reduction Inhibitory Avoidance Task.** Mice were initially subjected to passive avoidance training, an aversive task designed to assess learning. During training, animals were placed on a platform and, upon stepping down, received a mild electric shock (0.6 mA for 2 s), thereby associating the platform context with the aversive stimulus.<sup>60</sup> The time taken to step down from the platform was recorded during the training session. Twenty-four h after training, animals were re-exposed to the same environment without the shock to assess contextual memory. The latency to step down was measured during this re-exposure. An increase in the latency to step down indicated that animals had learned to associate the environment with the aversive stimulus, reflecting acquired contextual memory. The cutoff time for stepping down from the platform was 300 s.

**4.6. Biochemical Analysis.** **4.6.1. MAO-B Activity Assay.** MAO-B activity was assessed in samples from the hippocampus, hypothalamus, cortex, and cerebellum. Measurement of MAO-B activity was performed according to previous methodology,<sup>61</sup> with adaptations.<sup>62</sup> Tissues were homogenized manually in a homogenization buffer (0.0168 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.0106 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.32 M sucrose, pH 7.4) in a 1:4 ratio (w/v) to obtain the mitochondrial fraction. Homogenization was followed by centrifugation at 900g at 4 °C for 5 min, and the supernatant was subjected to a second centrifugation at 12,500g at 4 °C for 15 min. The resulting pellet was resuspended in the homogenization buffer and centrifuged again under the same conditions. The final pellet was solubilized in buffer (0.0168 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.0106 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.0036 M KCl, pH 7.4) and stored appropriately (−80 °C) until further analysis. For the assay, the protein concentration was determined by the Bradford method.<sup>63</sup>

For determination of enzymatic activity, the samples were incubated at 37 °C for 5 min in a buffer solution containing 250 nM clorgyline, a selective MAO-A inhibitor, allowing specific quantification of MAO-B activity. Subsequently, 60 μM kynuramine dihydrobromide was added as substrate, and the reaction was maintained at 37 °C for 30 min. The reaction was stopped by the addition of 10% trichloroacetic acid (TCA), followed by centrifugation at 16,000g for 5 min. The supernatant was mixed with 2 mL of 1 M NaOH, and the fluorescence intensity was measured using a spectrofluorometer (excitation: 315 nm; emission: 380 nm). Enzyme activity was expressed as nmol of 4-hydroxyquinoline/mg protein.

**4.6.2. AChE Activity Assay.** AChE activity was determined according to the method described by Ellman et al. (1961).<sup>64</sup> Cortex and cerebellum samples were homogenized in Tris-HCl buffer (50 mM, pH 7.4) in a 1:5 ratio (w/v) to obtain the mitochondrial fraction and centrifuged at 900g at 4 °C for 10 min. The supernatant was collected for enzymatic analysis. The reaction was conducted in sodium phosphate buffer (0.1 M, pH 7.4) containing 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) as a chromogenic agent and acetylthiocholine iodide (AcSCh) as the substrate. The change in absorbance was measured spectrophotometrically at 412 nm over 2 min, reflecting the hydrolysis of AcSCh into the thiocholine, which reacts with DTNB to form a chromogenic complex. AChE activity was expressed as μmol AcSCh/h/mg protein.

**4.6.3. Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS).** Lipid peroxidation was evaluated by measuring thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) levels, following the method described by Ohkawa et al. (1979),<sup>65</sup> with slight modifications. Cortex and cerebellum samples were homogenized in Tris-HCl buffer (50 mM, pH 7.4) in a 1:5 ratio (w/v) and the homogenate was centrifuged at 900g for 10 min at 4 °C. The resulting supernatant was used for the analysis. An aliquot of the supernatant was incubated with a reaction mixture containing thiobarbituric acid (0.8%), sodium dodecyl sulfate (8.1%), and acetic acid (pH 3.4) at 95 °C for 2 h. After cooling, absorbance was measured at 532 nm using a spectrophotometer. TBARS levels were expressed as nmol of malondialdehyde (MDA) per mg of protein (nmol MDA/mg protein).

**4.6.4. Reactive Species (RS) Assay.** Quantification of reactive species (RS) was performed by a spectrofluorimetric method using the 2',7'-dichlorofluorescein (DCFH) assay. This fluorescent marker is widely used due to its ability to cross cell membranes and detect the formation of oxidative products. For analysis, an aliquot of the cortex and cerebellum supernatant prepared in a 1:5 ratio (w/v) was incubated in Tris-HCl buffer (10 mM, pH 7.4), adding DCFH. The resulting fluorescence was recorded 30 min after the addition of the dye, using a spectrofluorometer with excitation at 488 nm and emission at 520 nm. The results were expressed in fluorescence units, reflecting the RS levels in the tissues analyzed.<sup>66</sup>

**4.6.5. Nonprotein Thiols (NPSH) Levels.** NPSH levels were determined following the method described by Ellman (1959).<sup>67</sup> The supernatant (S1) of cortex and cerebellum was mixed in a 1:1 ratio (v/v) with 10% TCA to precipitate proteins. The samples were then centrifuged at 900g for 10 min, and the pellet was discarded. The resulting supernatant (S2) was used for the quantification of free thiol groups. To initiate the reaction, an aliquot of S2 was added to a solution containing potassium phosphate buffer (1 M, pH 7.4) and 10 mM 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB). The mixture was incubated at room temperature, and absorbance was measured at 412 nm using a spectrophotometer. NPSH levels were expressed as nmol NPSH per gram of tissue.

**4.6.6. NOx Levels.** The quantification of nitrates and nitrites (NOx) was performed in cortical and cerebellar samples prepared in a 1:5 (w/v) ratio using a colorimetric reaction based on the reduction of nitrates to nitrites.<sup>68</sup> Samples were incubated in a reactive solution containing 2% vanadium chloride (dissolved in 5% HCl), 2% sulfanilamide (dissolved in 5% HCl), and 0.1% N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride. The mixture was maintained at 37 °C for 1 h to allow color development. Absorbance was then measured at 540 nm using a spectrophotometer. NOx concentration was expressed as nmol NOx/mg of protein.



**4.6.7. Toxicity Parameters.** The analysis of plasma levels of AST and ALT enzymes, as well as urea concentration, was performed using colorimetric enzymatic methods according to the instructions provided in the commercial kits from Labtest Diagnóstica. Blood glucose levels on days 0 and 25 were measured using an Accu-Chek Active glucometer, and body weight was monitored throughout the study.

**4.6.8. Protein Determination.** For all analyses requiring protein quantification, protein levels were determined using the Bradford method,<sup>63</sup> a widely established colorimetric assay based on the binding of Coomassie Brilliant Blue G-250 dye to proteins. Briefly, samples were diluted as necessary and mixed with the Bradford reagent, followed by incubation at room temperature. Absorbance was measured at 595 nm using a spectrophotometer, and protein concentrations were calculated based on a standard curve generated with bovine serum albumin (BSA).

**4.7. RNA Isolation and Quantitative Real-Time PCR (RT-qPCR).** Total mRNA was extracted from the hippocampus using TRIzol followed by mRNA quantification. The cDNA synthesis was performed using a High-Capacity cDNA Reverse Transcription kit according to the manufacturer's protocol. The amplification was made with the GoTaq qPCR Master Mix using the Stratagene Mx3005P real-time PCR. Gene expressions were normalized using  $\beta$ -actin primer as a reference gene. The genes provided in Table 1 were analyzed.

**Table 1. Primer Sequences Used**

Gene	Sequence 5'–3'
$\beta$ -actin	F: GTCCCTCACCTCCCAAAAG R: GCTGCCTCAACACCTCAACCC
BAX	F: CCACCAGCTCTGAACAGATC R: CAGCTTCTGTGGACGCAT
BCL-2	F: TGGGATGCCTTTGTGGAAC R: GAGACAGCCAGGAGAAATCA
BDNF	F: TAACGGCGGCAGACAAAAGACT R: GTGTCTATCCTTATGAATCACCAGCCAA
CAT	F: GAACGAGGAGGAGGAAAC R: TGAATTCCTTGACCGCTTTC
GSK3 $\beta$	F: CGGGACCCAAATGTCAAAC R: TCCGAGCATGTGGAGGGATA
IL-6	F: CCAGAAACCGCTATGAAG R: CACCAGCATCAGTCCCAAGA
NF $\kappa$ B	F: GCTTTCGAGGAGCATTAAC R: CCGAAGCAGGAGCTATCAAC
NRF-2	F: GACGCAGACCTCTCTTGTC R: TAAGCGAACCAAGCTCCT
SOD	F: TGGTGGTCCATGAGAAACAA R: GTTACTGCGCAATCCCAAT
TNF- $\alpha$	F: CATCTTCTCAAAATTCGAGTGACAA R: TGGGAGTAGACAAGGTACAACCC

**4.8. Statistical Analysis.** The experimental results were analyzed using GraphPad Prism software version 8.0.1 and expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). One-way ANOVA was employed to detect significant within-experiment effects, followed by the application of Newman–Keuls multiple comparisons. For analysis of toxicity data, a *t*-test was applied. Probability values less than or equal to 0.05 ( $p \leq 0.05$ ) were considered significant.

## AUTHOR INFORMATION

### Corresponding Authors

**Cristiani Folharini Bortolatto** – Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Graduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Chemical, Pharmaceutical, and Food Sciences

Center (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel), Pelotas, Rio Grande do Sul 96010-900, Brazil; [orcid.org/0000-0002-9509-4446](https://orcid.org/0000-0002-9509-4446); Email: [cbortolatto@gmail.com](mailto:cbortolatto@gmail.com)

**César Augusto Brüning** – Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Graduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Chemical, Pharmaceutical, and Food Sciences Center (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel), Pelotas, Rio Grande do Sul 96010-900, Brazil; [orcid.org/0000-0003-0814-0203](https://orcid.org/0000-0003-0814-0203); Email: [cabruning@yahoo.com.br](mailto:cabruning@yahoo.com.br)

### Authors

**Tácia Katiane Hall** – Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Graduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Chemical, Pharmaceutical, and Food Sciences Center (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel), Pelotas, Rio Grande do Sul 96010-900, Brazil

**Mariana Parron Paim** – Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Graduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Chemical, Pharmaceutical, and Food Sciences Center (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel), Pelotas, Rio Grande do Sul 96010-900, Brazil

**Pâmella da Costa** – Laboratory of Biochemistry and Molecular Neuropharmacology (LABIONEM), Graduate Program in Biochemistry and Bioprospecting (PPGBBio), Chemical, Pharmaceutical, and Food Sciences Center (CCQFA), Federal University of Pelotas (UFPel), Pelotas, Rio Grande do Sul 96010-900, Brazil

**Amanda Rebelo de Azevedo** – SupraSelen Laboratory, Department of Organic Chemistry, Institute of Chemistry, Federal Fluminense University, Niterói, Rio de Janeiro 24020-141, Brazil

**Vanessa Nascimento** – SupraSelen Laboratory, Department of Organic Chemistry, Institute of Chemistry, Federal Fluminense University, Niterói, Rio de Janeiro 24020-141, Brazil; [orcid.org/0000-0001-9413-7638](https://orcid.org/0000-0001-9413-7638)

**José Sebastião Santos Neto** – LabRMN, Chemistry Institute, Federal University of Goiás, Goiânia, Goiás 74690-900, Brazil

**Fernanda Severo Sabedra Sousa** – Laboratory of Cancer Biotechnology, Biotechnology Graduate Program, Technology Development Center, Federal University of Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul 96010-610, Brazil

**Tiago Veiras Collares** – Laboratory of Cancer Biotechnology, Biotechnology Graduate Program, Technology Development Center, Federal University of Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul 96010-610, Brazil

**Fabiana Kommling Seixas** – Laboratory of Cancer Biotechnology, Biotechnology Graduate Program, Technology Development Center, Federal University of Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul 96010-610, Brazil

Complete contact information is available at:

<https://pubs.acs.org/10.1021/acschemneuro.5c00139>

### Author Contributions

Conception of the work: T.K.H., C.A.B. and C.F.B. Compound synthesis and characterization: A.R.A. and J.S.S.N. Supervision of project: C.F.B. Resources: C.F.B., C.A.B., V.N., T.V.C. and F.K.S. Investigation and Methodology: T.K.H., M.P.P., P.C. and F.S.S.S. Statistical analysis of data: T.K.H. and C.F.B. Writing of the original draft



manuscript: T.K.H. Writing—review and editing: T.K.H., M.P.P., P.C., F.S.S.S., T.V.C., F.K.S., A.R.A., V.N., J.S.S.N., C.A.B. and C.F.B. All the authors have read and approved the final version of the manuscript.

### Funding

This research was supported by the Federal University of Pelotas (UFPEL), Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES, Finance Code 001) and Research Support Foundation of the State of Rio Grande do Sul (FAPERGS, grant numbers 21/2551-0000614-5 and 21/2551-0000728-1). We would also like to thank the Research Support Foundation of the State of Rio de Janeiro, FAPERJ (E-26/202.911/2019, E-26/210.325/2022, and E-26/200.235/2023), and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq 310656/2021-4). The Article Processing Charge for the publication of this research was funded by the Coordenacao de Aperfeicoamento de Pessoal de Nivel Superior (CAPES), Brazil (ROR identifier: 00x0ma614).

### Notes

The authors declare no competing financial interest.

## REFERENCES

- (1) Monteiro, A. R.; Barbosa, D. J.; Remiao, F.; Silva, R. Alzheimer's disease: Insights and new prospects in disease pathophysiology, biomarkers and disease-modifying drugs. *Biochem. Pharmacol.* **2023**, *211*, 115522.
- (2) Belfort, T.; Simoes, J. P.; Santos, R. L.; Lacerda, I.; Dourado, M. C. N. Social cognition: Patterns of impairments in mild and moderate Alzheimer's disease. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **2020**, *35* (11), 1385–1392.
- (3) Knopman, D. S.; Amieva, H.; Petersen, R. C.; Chetelat, G.; Holtzman, D. M.; Hyman, B. T.; Nixon, R. A.; Jones, D. T. Alzheimer disease. *Nat. Rev. Dis. Primers* **2021**, *7* (1), 33.
- (4) Buccellato, F. R.; D'Anca, M.; Fenoglio, C.; Scarpini, E.; Galimberti, D. Role of Oxidative Damage in Alzheimer's Disease and Neurodegeneration: From Pathogenic Mechanisms to Biomarker Discovery. *Antioxidants* **2021**, *10* (9), 1353.
- (5) Bai, R.; Guo, J.; Ye, X. Y.; Xie, Y.; Xie, T. Oxidative stress: The core pathogenesis and mechanism of Alzheimer's disease. *Ageing Res. Rev.* **2022**, *77*, 101619.
- (6) da Silva, E. M. G.; Fischer, J. S. G.; Souza, I. D. L. S.; Andrade, A. C. C.; Souza, L. D. C. E.; de Andrade, M. K.; Carvalho, P. C.; Souza, R. L. R.; Vital, M. A. B. F.; Passetti, F. Proteomic Analysis of a Rat Streptozotocin Model Shows Dysregulated Biological Pathways Implicated in Alzheimer's Disease. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25* (5), 2772.
- (7) Fan, M.; Liu, S.; Sun, H. M.; Ma, M. D.; Gao, Y. J.; Qi, C. C.; Xia, Q. R.; Ge, J. F. Bilateral intracerebroventricular injection of streptozotocin induces AD-like behavioral impairments and neuro-pathological features in mice: Involved with the fundamental role of neuroinflammation. *Biomed. Pharmacother.* **2022**, *153*, 113375.
- (8) Soni, N. D.; Ramesh, A.; Roy, D.; Patel, A. B. Brain energy metabolism in intracerebroventricularly administered streptozotocin mouse model of Alzheimer's disease: A (1)H-[(13)C]-NMR study. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **2021**, *41* (9), 2344–2355.
- (9) Yuliani, T.; Lobentanzer, S.; Klein, J. Central cholinergic function and metabolic changes in streptozotocin-induced rat brain injury. *J. Neurochem.* **2021**, *158* (6), 1307–1319.
- (10) Plascencia-Villa, G.; Perry, G. Preventive and Therapeutic Strategies in Alzheimer's Disease: Focus on Oxidative Stress, Redox Metals, and Ferroptosis. *Antioxid. Redox Signaling* **2021**, *34* (8), 591–610.
- (11) Juszczak, G.; Mikulska, J.; Kasperek, K.; Pietrzak, D.; Mrozek, W.; Herbet, M. Chronic Stress and Oxidative Stress as Common Factors of the Pathogenesis of Depression and Alzheimer's Disease: The Role of Antioxidants in Prevention and Treatment. *Antioxidants* **2021**, *10* (9), 1439.
- (12) Barbosa, F. A. R.; Canto, R. F. S.; Teixeira, K. F.; de Souza, A. S.; de Oliveira, A. S.; Braga, A. L. Selenium-Derivative Compounds: A Review of New Perspectives in the Treatment of Alzheimer's Disease. *Curr. Med. Chem.* **2023**, *30* (6), 689–700.
- (13) Birmann, P. T.; Casaril, A. M.; Abenante, L.; Pentead, F.; Bruning, C. A.; Savegnago, L.; Lenardao, E. J. Neuropharmacology of Organoselenium Compounds in Mental Disorders and Degenerative Diseases. *Curr. Med. Chem.* **2023**, *30* (21), 2357–2395.
- (14) Li, C.; Wang, N.; Zheng, G.; Yang, L. Oral Administration of Resveratrol-Selenium-Peptide Nanocomposites Alleviates Alzheimer's Disease-like Pathogenesis by Inhibiting Abeta Aggregation and Regulating Gut Microbiota. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2021**, *13* (39), 46406–46420.
- (15) Azevedo, A. R.; Cordeiro, P.; Strelow, D. N.; de Andrade, K. N.; Neto, M. R. S.; Goetze Fiorot, R.; Bruning, C. A.; Braga, A. L.; Liao, L. M.; Bortolatto, C. F.; et al. Green Approach for the Synthesis of Chalcogenyl-2,3-dihydrobenzofuran Derivatives Through Allyl-phenols/ Naphthols and Their Potential as MAO-B Inhibitors. *Chem. - Asian J.* **2023**, *18* (24), No. e202300586.
- (16) Pinz, M. P.; de Oliveira, R. L.; da Fonseca, C. A. R.; Voss, G. T.; da Silva, B. P.; Duarte, L. F. B.; Domingues, W. B.; Ortiz, H. G.; Savall, A. S. P.; Meotti, F. C.; Alves, D.; Campos, V. F.; Pinton, S.; Wilhelm, E. A.; Luchese, C. A. Purine Derivative Containing an Organoselenium Group Protects Against Memory Impairment, Sensitivity to Nociception, Oxidative Damage, and Neuroinflammation in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Mol. Neurobiol.* **2023**, *60* (3), 1214–1231.
- (17) Pyka, P.; Garbo, S.; Fioravanti, R.; Jacob, C.; Hittinger, M.; Handzlik, J.; Zwergel, C.; Battistelli, C. Selenium-containing compounds: a new hope for innovative treatments in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Drug Discovery Today* **2024**, *29* (8), 104062.
- (18) Ayoub, A. J.; El-Achkar, G. A.; Ghayad, S. E.; Hariss, L.; Haidar, R. H.; Antar, L. M.; Mallah, Z. I.; Badran, B.; Gree, R.; Hachem, A.; et al. Fluorinated Benzofuran and Dihydrobenzofuran as Anti-Inflammatory and Potential Anticancer Agents. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24* (12), 10399.
- (19) Sarter, M.; Bodewitz, G.; Stephens, D. N. Attenuation of scopolamine-induced impairment of spontaneous alteration behaviour by antagonist but not inverse agonist and agonist beta-carbolines. *Psychopharmacology* **1988**, *94* (4), 491–495.
- (20) Goncalves, L. D. S.; Rusch, G.; Alves, A. G.; Kruger, L. D.; Paim, M. P.; Martins, C. C.; da Motta, K. P.; Neto, J. S. S.; Luchese, C.; Wilhelm, E. A.; Bruning, C. A.; Bortolatto, C. F. Acute 2-phenyl-3-(phenylselenanyl)benzofuran treatment reverses the neurobehavioral alterations induced by sleep deprivation in mice. *Biochem. Pharmacol.* **2024**, *226*, 116339.
- (21) Strelow, D. N.; Magalhaes, L. S.; Paim, M. P.; Kruger, L. D.; Neto, J. S. S.; Bruning, C. A.; Bortolatto, C. F. Depressive-like behavior and cognitive impairment induced by acute administration of dexamethasone: Pharmacological effects of 2-phenyl-3-(phenylselenanyl)benzofuran in female Swiss mice. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* **2023**, *125*, 110772.
- (22) Ennaceur, A.; Delacour, J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behav. Brain Res.* **1988**, *31* (1), 47–59.
- (23) Rodrigues, K. C.; Bortolatto, C. F.; da Motta, K. P.; de Oliveira, R. L.; Paltian, J. J.; Kruger, R.; Roman, S. S.; Boeira, S. P.; Alves, D.; Wilhelm, E. A.; Luchese, C. The neurotherapeutic role of a selenium-functionalized quinoline in hypothalamic obese rats. *Psychopharmacology* **2021**, *238* (7), 1937–1951.
- (24) Jones, D. N.; Raghanti, M. A. The role of monoamine oxidase enzymes in the pathophysiology of neurological disorders. *J. Chem. Neuroanat.* **2021**, *114*, 101957.
- (25) Lakshmisha Rao, Y.; Ganaraja, B.; Murlimanju, B. V.; Joy, T.; Krishnamurthy, A.; Agrawal, A. Hippocampus and its involvement in Alzheimer's disease: a review. *3 Biotech* **2022**, *12* (2), 55.



- (26) Jobson, D. D.; Hase, Y.; Clarkson, A. N.; Kalaria, R. N. The role of the medial prefrontal cortex in cognition, ageing and dementia. *Brain Commun.* **2021**, *3* (3), fcab125.
- (27) Friedman, N. P.; Robbins, T. W. The role of prefrontal cortex in cognitive control and executive function. *Neuropsychopharmacology* **2022**, *47* (1), 72–89.
- (28) Acar, M.; Seker, B.; Ugur, S. Radio-Anatomical Assessment of Cerebellum Volume in Individuals with Alzheimer's Disease. *Curr. Alzheimer Res.* **2025**, *21* (8), 599–606.
- (29) Tyczynska, M.; Gedek, M.; Brachet, A.; Strek, W.; Flieger, J.; Teresinski, G.; Baj, J. Trace Elements in Alzheimer's Disease and Dementia: The Current State of Knowledge. *J. Clin. Med.* **2024**, *13* (8), 2381.
- (30) Antonucci, S.; Di Sante, M.; Tonolo, F.; Pontarollo, L.; Scalco, V.; Alanova, P.; Menabo, R.; Carpi, A.; Bindoli, A.; Rigobello, M. P.; Giorgio, M.; Kaludercic, N.; Di Lisa, F. The Determining Role of Mitochondrial Reactive Oxygen Species Generation and Monoamine Oxidase Activity in Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *Antioxid. Redox Signaling* **2021**, *34* (7), 531–550.
- (31) Sivaraman, B.; Raji, V.; Velmurugan, B. A.; Natarajan, R. Acetylcholinesterase Enzyme Inhibitor Molecules with Therapeutic Potential for Alzheimer's Disease. *CNS Neurol. Disord.: Drug Targets* **2022**, *21* (5), 427–449.
- (32) Silva, S. S. L.; Turek, L. V.; Souza, L. C.; Mello-Hortega, J. V.; Piombini, A. L.; Teixeira, M. D.; Furtado-Alle, L.; Vital, M.; Souza, R. L. R. Animal model of Alzheimer's disease induced by streptozotocin: New insights about cholinergic pathway. *Brain Res.* **2023**, *1799*, 148175.
- (33) Sharma, P.; Tripathi, M. K.; Shrivastava, S. K. Cholinesterase as a Target for Drug Development in Alzheimer's Disease. *Methods Mol. Biol.* **2020**, *2089*, 257–286.
- (34) Zou, D.; Liu, R.; Lv, Y.; Guo, J.; Zhang, C.; Xie, Y. Latest advances in dual inhibitors of acetylcholinesterase and monoamine oxidase B against Alzheimer's disease. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2023**, *38* (1), 2270781.
- (35) Yamini, P.; Ray, R. S.; Yadav, S.; Dhaliwal, J.; Yadav, M.; Kondepudi, K. K.; Chopra, K.  $\alpha 7$ nAChR activation protects against oxidative stress, neuroinflammation and central insulin resistance in ICV-STZ. induced sporadic Alzheimer's disease. *Pharmacol., Biochem. Behav.* **2022**, *217*, 173402.
- (36) Sanci, E.; Koksai Karayildirim, C.; Dagdeviren, M.; Yigiturk, G.; Buhur, A.; Erbas, O.; Yavasoglu, A.; Karabay Yavasoglu, N. U. Oxidative stress and inflammatory markers in streptozotocin-induced acute and subacute toxicity response. *Drug Chem. Toxicol.* **2024**, *47* (6), 933–948.
- (37) Perluigi, M.; Di Domenico, F.; Butterfield, D. A. Oxidative damage in neurodegeneration: roles in the pathogenesis and progression of Alzheimer disease. *Physiol. Rev.* **2024**, *104* (1), 103–197.
- (38) Ansari, M. A.; Rao, M. S.; Al-Jarallah, A. Insights into early pathogenesis of sporadic Alzheimer's disease: role of oxidative stress and loss of synaptic proteins. *Front. Neurosci.* **2023**, *17*, 1273626.
- (39) Sienes Bairo, P.; Llorente Martin, E.; Calmarza, P.; Montolio Brea, S.; Bravo Gomez, A.; Pozo Giraldez, A.; Sanchez-Pascuala Callau, J. J.; Vaquer Santamaria, J. M.; Dayaldasani Khialani, A.; Cerda Mico, C.; et al. The role of oxidative stress in neurodegenerative diseases and potential antioxidant therapies. *Adv. Lab Med.* **2022**, *3* (4), 342–360.
- (40) Rahmati, M.; Keshvari, M.; Mirnasouri, R.; Chehelcheraghi, F. Exercise and Urtica dioica extract ameliorate hippocampal insulin signaling, oxidative stress, neuroinflammation, and cognitive function in STZ-induced diabetic rats. *Biomed. Pharmacother.* **2021**, *139*, 111577.
- (41) Speckaert, R.; Speckaert, M. M.; van Geel, N. The Multifaceted Aspects of Oxidative Stress in the Skin and Other Tissues. *Antioxidants* **2024**, *13* (9), 1081.
- (42) Zhang, W.; Xiao, D.; Mao, Q.; Xia, H. Role of neuroinflammation in neurodegeneration development. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2023**, *8* (1), 267.
- (43) Iova, O. M.; Marin, G. E.; Lazar, I.; Stanescu, I.; Dogaru, G.; Nicula, C. A.; Bulboacă, A. E. Nitric Oxide/Nitric Oxide Synthase System in the Pathogenesis of Neurodegenerative Disorders—An Overview. *Antioxidants* **2023**, *12* (3), 753.
- (44) Chen, T. H.; Wang, H. C.; Chang, C. J.; Lee, S. Y. Mitochondrial Glutathione in Cellular Redox Homeostasis and Disease Manifestation. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25* (2), 1314.
- (45) Kısacım, M. A.; Kocamuftuoglu, G. O.; Ufat, H.; Ozan, S. T. The evaluation of early stage oxidative status in streptozotocin induced diabetes in rats. *Arch. Physiol. Biochem.* **2022**, *128* (6), 1474–1478.
- (46) Labarrere, C. A.; Kassab, G. S. Glutathione: A Samsonian life-sustaining small molecule that protects against oxidative stress, ageing and damaging inflammation. *Front. Nutr.* **2022**, *9*, 1007816.
- (47) Kaur, K.; Narang, R. K.; Singh, S. Role of Nrf2 in Oxidative Stress, Neuroinflammation and Autophagy in Alzheimer's Disease: Regulation of Nrf2 by Different Signaling Pathways. *Curr. Mol. Med.* **2025**, *25*, 372–387.
- (48) Anilkumar, S.; Wright-Jin, E. NF- $\kappa$ B as an Inducible Regulator of Inflammation in the Central Nervous System. *Cells* **2024**, *13* (6), 485.
- (49) Kumari, S.; Dhapola, R.; Sharma, P.; Singh, S. K.; Reddy, D. H. Implicative role of Cytokines in Neuroinflammation mediated AD and associated signaling pathways: Current Progress in molecular signaling and therapeutics. *Ageing Res. Rev.* **2023**, *92*, 102098.
- (50) Serafini, S.; Ferretti, G.; Monterosso, P.; Angiolillo, A.; Di Costanzo, A.; Matrone, C. TNF- $\alpha$  Levels Are Increased in Patients with Subjective Cognitive Impairment and Are Negatively Correlated with  $\beta$  Amyloid-42. *Antioxidants* **2024**, *13* (2), 216.
- (51) Gholizadeh, M.; Khalili, A.; Roodi, P. B.; Saeedy, S. A. G.; Najafi, S.; Keshavarz Mohammadian, M.; Djafarian, K. Selenium supplementation decreases CRP and IL-6 and increases TNF- $\alpha$ : A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2023**, *79*, 127199.
- (52) Razaghi, A.; Poorebrahim, M.; Sarhan, D.; Bjornstedt, M. Selenium stimulates the antitumour immunity: Insights to future research. *Eur. J. Cancer* **2021**, *155*, 256–267.
- (53) Gulmammadli, N.; Konukoglu, D.; Merve Kurtulus, E.; Tezen, D.; Ibrahim Erbay, M.; Bozulolcay, M. Serum Sirtuin-1 HMGB1-TLR4, NF-KB and IL-6 Levels in Alzheimer's: The Relation Between Neuroinflammatory Pathway and Severity of Dementia. *Curr. Alzheimer Res.* **2022**, *19* (12), 841–848.
- (54) Gao, L.; Zhang, Y.; Sterling, K.; Song, W. Brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer's disease and its pharmaceutical potential. *Transl. Neurodegener.* **2022**, *11* (1), 4.
- (55) Martini, F.; Regis Leite, M.; Goncalves Rosa, S.; Pregardier Klann, I.; Wayne Nogueira, C. Strength exercise suppresses STZ-induced spatial memory impairment and modulates BDNF/ERK-CAMKII/CREB signalling pathway in the hippocampus of mice. *Cell Biochem. Funct.* **2020**, *38* (2), 213–221.
- (56) Callens, M.; Kraskovskaya, N.; Derevtsova, K.; Annaert, W.; Bultynck, G.; Bezprozvanny, I.; Vervliet, T. The role of Bcl-2 proteins in modulating neuronal Ca(2+) signaling in health and in Alzheimer's disease. *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Res.* **2021**, *1868* (6), 118997.
- (57) Paxinos, F. *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates*; Academic Press, 1997.
- (58) Fronza, M. G.; Baldinotti, R.; Sacramento, M.; Gutierrez, J.; Carvalho, F. B.; Fernandes, M. D. C.; Sousa, F. S. S.; Seixas, F. K.; Collares, T.; Alves, D.; Pratico, D.; Savegnago, L. Effect of QTC-4-MeObnE Treatment on Memory, Neurodegeneration, and Neurogenesis in a Streptozotocin-Induced Mouse Model of Alzheimer's Disease. *ACS Chem. Neurosci.* **2021**, *12* (1), 109–122.
- (59) Walsh, R. N.; Cummins, R. A. The Open-Field Test: a critical review. *Psychol. Bull.* **1976**, *83* (3), 482–504.
- (60) Sakaguchi, M.; Koseki, M.; Wakamatsu, M.; Matsumura, E. Effects of systemic administration of beta-casomorphin-5 on learning and memory in mice. *Eur. J. Pharmacol.* **2006**, *530* (1–2), 81–87.
- (61) Krajl, M. A rapid microfluorimetric determination of monoamine oxidase. *Biochem. Pharmacol.* **1965**, *14* (11), 1684–1686.



- (62) Soto-Otero, R.; Mendez-Alvarez, E.; Hermida-Ameijeiras, A.; Sanchez-Sellero, I.; Cruz-Landeira, A.; Lamas, M. L. Inhibition of brain monoamine oxidase activity by the generation of hydroxyl radicals: potential implications in relation to oxidative stress. *Life Sci.* **2001**, *69* (8), 879–889.
- (63) Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **1976**, *72*, 248–254.
- (64) Ellman, G. L.; Courtney, K. D.; Andres, V., Jr.; Feather-Stone, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* **1961**, *7*, 88–95.
- (65) Ohkawa, H.; Ohishi, N.; Yagi, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **1979**, *95* (2), 351–358.
- (66) Hempel, S. L.; Buettner, G. R.; O'Malley, Y. Q.; Wessels, D. A.; Flaherty, D. M. Dihydrofluorescein diacetate is superior for detecting intracellular oxidants: comparison with 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, 5-(and 6)-carboxy-2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, and dihydrorhodamine 123. *Free Radical Biol. Med.* **1999**, *27* (1–2), 146–159.
- (67) Ellman, G. L. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* **1959**, *82* (1), 70–77.
- (68) Green, L. C.; Wagner, D. A.; Glogowski, J.; Skipper, P. L.; Wishnok, J. S.; Tannenbaum, S. R. Analysis of nitrate, nitrite, and [<sup>15</sup>N]nitrate in biological fluids. *Anal. Biochem.* **1982**, *126* (1), 131–138.

## 5. DISCUSSÃO

A DA é uma desordem neurodegenerativa progressiva caracterizada por disfunções sinápticas, acúmulo de placas de A $\beta$ , formação de emaranhados neurofibrilares e um estado de neuroinflamação exacerbada (KNOPMAN; AMIEVA; PETERSEN *et al.*, 2021). Esses processos levam a um declínio cognitivo progressivo, tornando a DA uma das principais causas de demência na população idosa (KONIG; STOGMANN, 2021). Para compreender os mecanismos subjacentes à doença e explorar novas abordagens terapêuticas, diversos modelos experimentais têm sido empregados. Entre eles, a administração ICV-STZ tem se destacado como um modelo amplamente validado, pois mimetiza aspectos críticos da neurodegeneração observada na DA, especialmente aqueles relacionados à resistência à insulina no cérebro e ao estresse oxidativo (KELLINY; LIN; DENG *et al.*, 2021).

Nesse contexto, a investigação do composto TFSeB do modelo experimental de DA induzido por ICV-STZ revelou seu potencial neuroprotetor, uma vez que ele modulou diversos parâmetros bioquímicos e comportamentais associados à DA. A capacidade do TFSeB de reduzir o impacto de processos neurodegenerativos o torna um candidato promissor para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas voltadas à mitigação do estresse oxidativo e da disfunção sináptica na DA. O estresse oxidativo é um dos principais fatores envolvidos na fisiopatologia da DA, pois o desequilíbrio entre a produção de EROs e a capacidade antioxidante celular resulta em peroxidação lipídica, oxidação de proteínas e danos ao DNA, comprometendo a viabilidade neuronal (BAI; GUO; YE *et al.*, 2022). Evidências sugerem que a modulação do estresse oxidativo pode representar uma estratégia eficaz para retardar a progressão da DA, reforçando a importância da avaliação de compostos com propriedades antioxidantes (PERLUIGI; DI DOMENICO; BUTTERFIELD, 2024).

No presente estudo, o composto TFSeB demonstrou um efeito antioxidante significativo ao reduzir biomarcadores do estresse oxidativo, como substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, espécies reativas e nitrato/nitrito (NO $x$ ). Essa atividade pode estar relacionada à presença do Se em sua estrutura química, uma vez que compostos contendo esse elemento são amplamente descritos na literatura por sua capacidade de neutralizar EROs e ativar mecanismos endógenos de defesa

antioxidante (ANGHINONI; BIRMANN; DA ROCHA *et al.*, 2023; SINGH; KUNWAR, 2021).

Uma das principais vias envolvidas na resposta antioxidante celular é a via NRF2-ARE, que regula a expressão de enzimas protetoras, incluindo heme oxigenase-1 (HO-1) e SOD (SHAW; CHATTOPADHYAY, 2020). A ativação do fator de transcrição NRF2 tem sido amplamente associada à neuroproteção, pois promove a expressão de genes antioxidantes e reduz o impacto dos danos oxidativos no córtex e hipocampo (THIRUVENGADAM; VENKIDASAMY; SUBRAMANIAN *et al.*, 2021). O aumento na expressão de RNAm das enzimas SOD e CAT, observado no grupo induzido, pode representar uma resposta compensatória (alostática) do organismo frente ao estresse oxidativo causado por STZ. Por outro lado, tal aumento não foi observado no grupo tratado com TFSeB, o que sugere que o composto pode ter atenuado o estresse oxidativo de maneira eficaz, reduzindo a necessidade de ativação dessas defesas enzimáticas endógenas.

Estudos prévios com derivados de Se, como o disseleneto de difenila, demonstraram que esses compostos podem aumentar a atividade de SOD e CAT, reduzindo a peroxidação lipídica e conferindo proteção neuronal (BICCA OBETINE BAPTISTA; ARANTES; MACHADO *et al.*, 2020; BIRMANN; CASARIL; ABENANTE *et al.*, 2023). Esses achados reforçam a hipótese de que compostos antioxidantes contendo Se podem representar uma abordagem terapêutica promissora para mitigar o estresse oxidativo e seus impactos na DA (BARBOSA; CANTO; TEIXEIRA *et al.*, 2023; JUSZCZYK; MIKULSKA; KASPEREK *et al.*, 2021).

A neuroinflamação desempenha um papel central na fisiopatologia da DA, sendo impulsionada pela ativação exacerbada de micróglia e astrócitos, que liberam mediadores inflamatórios, como TNF- $\alpha$ , IL-6 e NF- $\kappa$ B (AMELIMOJARAD; AMELIMOJARAD, 2024). Essa resposta inflamatória persistente agrava a neurodegeneração ao intensificar o estresse oxidativo e desencadear processos apoptóticos, comprometendo a viabilidade neuronal (SI; ZOU; MEI *et al.*, 2023). Evidências sugerem que a ativação crônica dessas vias inflamatórias contribui para a progressão da DA, tornando o controle da neuroinflamação um alvo terapêutico relevante (FERNANDO; WIJAYASINGHE, 2021; KWON; KOH, 2020). Nossos resultados mostraram que o composto TFSeB foi capaz de modular significativamente os níveis de IL-6 e NF- $\kappa$ B em animais expostos à STZ, sugerindo

um efeito imunomodulador que pode mitigar o impacto da neuroinflamação sobre a função neuronal.

Pesquisas anteriores demonstram que compostos contendo Se possuem propriedades anti-inflamatórias, em grande parte devido à sua capacidade de inibir a ativação da via NF- $\kappa$ B, um dos principais reguladores da resposta inflamatória no SNC (HOU; XU, 2022; RAZA; JOHNSON; SINGH *et al.*, 2022). Essa inibição reduz a expressão de citocinas pró-inflamatórias e limita o recrutamento de células imunes, minimizando a perpetuação da neuroinflamação (BARCHIELLI; CAPPERUCCI; TANINI, 2022). O presente estudo reforça esses achados, indicando que o TFSeB pode exercer um efeito neuroprotetor ao atenuar a resposta inflamatória exacerbada, possivelmente interferindo na ativação de NF- $\kappa$ B e na regulação de vias inflamatórias associadas à DA. Essa atividade anti-inflamatória é particularmente relevante, pois a persistência do processo inflamatório não apenas contribui para a degeneração neuronal, mas também interage com outras vias patológicas, como o estresse oxidativo e a disfunção mitocondrial, criando um ciclo de retroalimentação que acelera a progressão da doença (KALTSCHMIDT; CZANIERA; SCHULTEN *et al.*, 2024).

O BDNF desempenha um papel fundamental na plasticidade sináptica, sobrevivência neuronal e processos cognitivos, como aprendizado e memória (GAO; ZHANG; STERLING *et al.*, 2022). Evidências demonstram que níveis reduzidos de BDNF estão associados à neurodegeneração e a déficits cognitivos observados em modelos de DA (AZMAN; ZAKARIA, 2022; NUMAKAWA; ODAKA, 2021). Aqui, investigamos a expressão do BDNF no hipocampo, uma região crítica para a memória, a fim de avaliar o impacto do tratamento com o composto TFSeB sobre as alterações induzidas por STZ. Os resultados obtidos indicam que o STZ reduziu significativamente a expressão do BDNF, corroborando estudos anteriores que associam essa toxina à disfunção sináptica e ao comprometimento da neuroplasticidade (TIWARI; MISHRA; SINGH *et al.*, 2021; ZBOROWSKI; HECK; MARQUES *et al.*, 2021). O tratamento com TFSeB, no entanto, parece ter atenuado essa redução, sugerindo um possível efeito neuroprotetor. Esse achado é particularmente relevante, pois a manutenção dos níveis de BDNF pode contribuir para a preservação da função sináptica e retardar o avanço da neurodegeneração.

A GSK-3 $\beta$  é uma enzima essencial na regulação da fosforilação da proteína tau, sendo considerada um alvo terapêutico para a DA (MANDLIK; MANDLIK; S,

2024). Nessa investigação, observou-se uma modulação da expressão de GSK-3 $\beta$  pelo TFSeB, o que pode indicar um efeito na prevenção da hiperfosforilação de tau e na formação de emaranhados neurofibrilares. Estudos recentes sugerem que compostos contendo Se podem interferir na atividade da GSK-3 $\beta$ , reduzindo a fosforilação aberrante de tau e promovendo a estabilidade do citoesqueleto neuronal (ZHANG; PENG; CHEN *et al.*, 2023). Dessa forma, o TFSeB pode apresentar um potencial efeito neuroprotetor adicional ao atuar nessa via, prevenindo alterações estruturais que comprometem a função sináptica e contribuem para o declínio cognitivo na DA.

O desequilíbrio entre mecanismos apoptóticos e antiapoptóticos representa outro fator crítico na DA, contribuindo para a perda progressiva de neurônios (OGUNMOKUN; DEWANJEE; CHAKRABORTY *et al.*, 2021). No presente estudo, verificou-se que o TFSeB modulou a expressão de proteína associada ao gene Bcl-2 (BAX) e proteína 2 do linfoma de células B (BCL-2), favorecendo a sobrevivência celular. A regulação desses marcadores está diretamente relacionada ao controle da apoptose, um processo de morte celular programada que desempenha um papel essencial na neurodegeneração (RAJESH; KANNEGANTI, 2022). O aumento da expressão de BAX leva à permeabilização da membrana mitocondrial e à liberação de citocromo c, desencadeando a ativação de caspases e resultando na morte neuronal. Em contrapartida, a expressão de BCL-2 exerce um efeito protetor ao inibir esse processo, promovendo a manutenção da integridade celular (CHOI; KWON; KIM *et al.*, 2023).

Estudos anteriores indicam que compostos de Se podem interferir nas vias apoptóticas ao aumentar a expressão de BCL-2 e reduzir a atividade de caspases, conferindo neuroproteção em diferentes modelos experimentais de neurodegeneração (TUROVSKY; MAL'TSEVA; SARIMOV *et al.*, 2022). Os achados do presente estudo corroboram essa hipótese, sugerindo que o TFSeB pode atuar como um regulador da apoptose neuronal, protegendo os neurônios contra a ativação exacerbada de vias pró-apoptóticas. Esse efeito, associado à capacidade do TFSeB de reduzir a neuroinflamação e o estresse oxidativo, fortalece a ideia de que compostos contendo Se podem representar uma abordagem terapêutica promissora para retardar a progressão da DA e preservar a função neuronal no SNC (NICHOLSON; TOH; ALFULAIJ *et al.*, 2022).

A enzima MAO-B desempenha um papel essencial no metabolismo de monoaminas no SNC, particularmente na degradação de neurotransmissores como a dopamina (JONES; RAGHANTI, 2021). A dopamina é um neurotransmissor crítico para a regulação de funções motoras e cognitivas, e sua disfunção está associada a várias doenças neurodegenerativas, incluindo a Doença de Parkinson e a DA (NAM; SA; JU *et al.*, 2022; RAHMAN; UDDIN; RAHMAN *et al.*, 2021). A MAO-B é responsável pela oxidação das aminas biogênicas, com a dopamina sendo uma das principais monoaminas submetidas a esse processo (BAWEJA; GUPTA; KUMAR *et al.*, 2024). Contudo, em condições patológicas, como na DA, a atividade excessiva da MAO-B leva a uma degradação acelerada da dopamina e à produção de subprodutos tóxicos, como o  $H_2O_2$ , um radical livre altamente reativo que pode promover estresse oxidativo e danos celulares (NAM; SA; JU *et al.*, 2022). A hiperatividade da MAO-B tem sido associada ao agravamento dos processos neurodegenerativos. Isso ocorre porque o  $H_2O_2$  gerado pela MAO-B não apenas causa estresse oxidativo diretamente, mas também pode levar à formação de EROs, que danificam as células nervosas e contribuem para a morte neuronal (ZHOU; YI; WANG *et al.*, 2023). Esses danos estão particularmente envolvidos na degeneração dos neurônios dopaminérgicos, o que pode agravar os déficits cognitivos e motores observados em doenças como a DA (HE; ZHU; WANG *et al.*, 2020).

No contexto deste estudo, foi observado que o composto TFSeB foi capaz de inibir a atividade da MAO-B nas regiões cerebrais do hipocampo e córtex pré-frontal, o que corrobora os achados do estudo prévio, o qual revelou sua ação inibitória sobre a MAO-B cerebral *in vitro* (AZEVEDO; CORDEIRO; STRELOW *et al.*, 2023). A inibição da MAO-B pode ser considerada uma estratégia neuroprotetora, uma vez que ela pode reduzir a produção de  $H_2O_2$  e, conseqüentemente, atenuar os efeitos do estresse oxidativo, que é um fator-chave na progressão da DA (BEHL; KAUR; SEHGAL *et al.*, 2021). Ao reduzir a atividade dessa enzima, o TFSeB pode ajudar a preservar os níveis de dopamina, promovendo a estabilidade da neurotransmissão dopaminérgica e reduzindo os danos celulares associados ao excesso de radical livre. Cabe destacar que as regiões onde foi observada a inibição da MAO-B, hipocampo e córtex pré-frontal, são amplamente reconhecidas por seu envolvimento direto na modulação de processos cognitivos, especialmente memória e aprendizado, os quais são comprometidos na DA (HUANG; WANG; WANG *et al.*, 2022). Essa associação reforça a importância funcional dos efeitos observados.

O papel da MAO-B no metabolismo da dopamina é de particular interesse para tratamentos de doenças neurodegenerativas, e a literatura científica já reconhece o potencial terapêutico de inibidores da MAO-B, como a selegilina e a rasagilina (PLASCENCIA-VILLA; PERRY, 2021; TAN; JENNER; CHEN, 2022). Estes inibidores têm mostrado capacidade de aumentar os níveis de dopamina no cérebro, o que pode levar a uma melhora nos sintomas motores e cognitivos (OZDEMIR; ALAGOZ; BAHCECIOGLU *et al.*, 2021). Além disso, ao inibir a produção de radicais livres, esses medicamentos também reduzem a neurotoxicidade mediada por compostos reativos, um dos principais mecanismos de dano neuronal nas doenças neurodegenerativas (IARKOV; MENDOZA; ECHEVERRIA, 2021). Compostos contendo Se, como os análogos de selenocisteína, têm atraído atenção devido ao seu potencial para modular a atividade da MAO-B (TORRES; ALFULAIJ; BERRY, 2021). O Se é conhecido por suas propriedades antioxidantes, que podem atuar de forma complementar na proteção contra o estresse oxidativo. Estudos anteriores sugerem que outros compostos contendo Se podem regular a atividade da MAO-B de maneira a melhorar a neurotransmissão dopaminérgica e reduzir os danos associados ao estresse oxidativo (BIRMANN; CASARIL; ABENANTE *et al.*, 2023; SAMPAIO; BILHERI; ZENI *et al.*, 2020).

No caso do composto TFSeB, é possível que a presença do Se em sua estrutura contribua para suas propriedades biológicas, possivelmente relacionadas à modulação da atividade enzimática. No entanto, o fato de conter Se não garante, por si só, a capacidade de inibir a MAO-B, sendo necessário considerar outros fatores estruturais e mecanismos envolvidos. Assim, o composto TFSeB pode apresentar um mecanismo de ação semelhante ao dos inibidores da MAO-B já utilizados na clínica, mas com um perfil potencialmente mais amplo, uma vez que seus efeitos podem se estender à modulação de outros alvos envolvidos na neurodegeneração. Além disso, o TFSeB pode oferecer benefícios adicionais ao atuar como um agente antioxidante, combatendo o estresse oxidativo e reduzindo a formação de radicais livres.

O sistema colinérgico, que envolve a ACh como neurotransmissor principal, desempenha um papel fundamental na regulação de funções cognitivas, como aprendizado, memória e atenção (CHEN; HUANG; YANG *et al.*, 2022). A ACh é sintetizada nos neurônios colinérgicos e liberada na fenda sináptica, onde exerce seus efeitos em diversas regiões cerebrais, incluindo o córtex e o hipocampo

(NAGORI; PRADHAN; SHARMA *et al.*, 2024). A AChE é a enzima responsável pela degradação da ACh após a sua liberação, encerrando rapidamente sua ação sináptica (BEKDASH, 2021). A diminuição da atividade colinérgica é uma das características marcantes da DA. O acúmulo de ACh na fenda sináptica é crucial para a manutenção da função cognitiva, e o bloqueio da AChE pode melhorar a neurotransmissão colinérgica e mitigar os déficits cognitivos observados na DA (FRONZA; ALVES; PRATICO *et al.*, 2023).

Neste estudo, observou-se que o composto TFSeB foi capaz de modular a atividade da AChE no córtex e cerebelo, sugerindo um efeito positivo na preservação da neurotransmissão colinérgica. O TFSeB pode ter uma ação inibidora sobre a AChE, resultando na redução da degradação da ACh e, portanto, na manutenção ou aumento da sua concentração na fenda sináptica. Esse aumento da ACh disponível pode contribuir para a melhora da comunicação neuronal, especialmente em áreas do cérebro que estão prejudicadas na DA, como o córtex, área chave para o processamento de memória e aprendizado (MOSS; PEREZ, 2021). Embora classicamente relacionado à coordenação motora, o cerebelo também participa de circuitos neurais que influenciam a cognição e a memória, especialmente em condições patológicas, o que pode justificar a relevância de seus resultados neste contexto (LIN; KUO, 2024).

A inibição da AChE é um dos mecanismos terapêuticos fundamentais para o tratamento da DA. Fármacos como donepezila e galantamina, que são inibidores da AChE, têm mostrado eficácia na melhoria dos sintomas cognitivos da DA, uma vez que aumentam a concentração de ACh disponível para a transmissão sináptica (MORETA; BURGOS-ALONSO; TORRECILLA *et al.*, 2021). Esses medicamentos têm sido utilizados para tratar pacientes com DA, proporcionando alívio temporário dos déficits cognitivos. Os inibidores de AChE são frequentemente considerados como um tratamento paliativo, não modificando a progressão da doença, mas melhorando a função cognitiva a curto prazo (MORETA; BURGOS-ALONSO; TORRECILLA *et al.*, 2021). A presença de Se em compostos como o TFSeB é particularmente interessante, pois o Se tem propriedades antioxidantes e pode interagir com a AChE. O Se pode influenciar a estrutura da enzima, afetando seus resíduos catalíticos e, assim, modulando sua atividade (KUMAWAT; RAHEEM; ALI *et al.*, 2021).



A avaliação da toxicidade e farmacocinética é uma etapa crucial no desenvolvimento de novos compostos bioativos, pois garante a segurança e eficácia dos mesmos antes de qualquer aplicação clínica (LI; PICARD, 2023). No caso do composto TFSeB, a maior parte dos testes realizados, tanto em predições *in silico* quanto nas análises *in vivo* e *ex vivo* do protocolo de toxicidade oral aguda em altas doses (resultados complementares) e do tratamento repetido em baixas doses (resultados do artigo científico), não indicaram toxicidade significativa nos parâmetros analisados. A toxicidade oral aguda do TFSeB demonstrou ser mínima, com apenas uma pequena redução nos níveis de AST na dose de 300 mg/kg. No entanto, esse efeito foi um achado isolado, uma vez que nenhum outro parâmetro bioquímico apresentou alterações relevantes, reforçando a relativa segurança do composto em exposição aguda.

Além disso, o tratamento repetido com doses baixas não induziu mudanças nos níveis de ALT, AST, ureia, glicemia ou no peso corporal dos animais, indicando ausência de toxicidade hepática, renal e metabólica ao longo do período avaliado. Esses achados corroboram o potencial do TFSeB como uma molécula promissora, com um perfil toxicológico favorável para futuras investigações pré-clínicas. A análise detalhada dos parâmetros *in silico* de absorção, distribuição, metabolismo e excreção também revelou um perfil favorável para o composto, sugerindo que ele possui as características necessárias para alcançar os alvos terapêuticos de forma eficiente no organismo (resultados complementares).

O TFSeB não apenas apresenta um perfil de segurança promissor, mas também se destaca por seu potencial terapêutico multifacetado. Os resultados indicam que o composto atua em várias frentes relacionadas à patofisiologia da DA, incluindo a modulação do estresse oxidativo, controle da neuroinflamação, prevenção da apoptose neuronal e melhoria da neurotransmissão colinérgica e dopaminérgica. A capacidade de atuar em múltiplas vias patológicas é uma característica essencial para qualquer tratamento voltado para doenças neurodegenerativas complexas como a DA, já que esta envolve uma série de mecanismos interconectados que contribuem para sua progressão (MAYO; PASCUAL; CRISMAN *et al.*, 2024).

Diante desses achados, as próximas etapas desta linha de pesquisa poderão incluir a avaliação dos efeitos do TFSeB frente a comorbidades frequentemente associadas à DA, como a depressão, além da ampliação dos testes para modelos

com fêmeas, considerando as diferenças sexuais na incidência e progressão da doença. Também se destaca a importância de explorar sua eficácia em outros modelos experimentais que envolvam diferentes tipos de comprometimento cognitivo, a fim de consolidar o perfil terapêutico e estabelecer a robustez dos efeitos observados. Essas abordagens poderão contribuir para uma caracterização mais abrangente do composto e para o avanço na busca por estratégias terapêuticas mais eficazes e integrativas na busca de agentes nootrópicos e no tratamento da DA.

## **6. CONCLUSÃO**

Os achados deste estudo demonstram que a administração oral do composto TFSeB apresenta potencial terapêutico em um modelo experimental de DA esporádica induzido pela administração central STZ em camundongos Swiss machos. O TFSeB foi capaz de atenuar os déficits de memória sem comprometer a locomoção dos animais, além de modular a atividade de enzimas neuroquímicas e reduzir o estresse oxidativo no sistema nervoso. Além disso, o composto mostrou-se capaz de influenciar a expressão de genes relacionados à plasticidade sináptica, sobrevivência neuronal, neuroinflamação e apoptose. Tais achados terapêuticos foram acompanhados por evidências pré-clínicas de segurança. A partir disso, estudos futuros poderão explorar com maior detalhamento o impacto do TFSeB em diferentes sistemas neurotransmissores e sua interação com alvos celulares específicos, permitindo uma compreensão mais ampla de seu potencial terapêutico.

## 7. REFÊRENCIAS

ABEYSINGHE, A.; DESHAPRIYA, R.; UDAWATTE, C. Alzheimer's disease; a review of the pathophysiological basis and therapeutic interventions. **Life Sci**, 256, p. 117996, Sep 1 2020.

AKHTAR, A.; SAH, S. P. Insulin signaling pathway and related molecules: Role in neurodegeneration and Alzheimer's disease. **Neurochem Int**, 135, p. 104707, May 2020.

AL-GHRAIYBAH, N. F.; WANG, J.; ALKHALIFA, A. E.; ROBERTS, A. B. *et al.* Glial Cell-Mediated Neuroinflammation in Alzheimer's Disease. **Int J Mol Sci**, 23, n. 18, Sep 12 2022.

AL-KURASHY, H. M.; JABIR, M. S.; AL-GAREEB, A. I.; ALBUHADILY, A. K. *et al.* Evaluation and targeting of amyloid precursor protein (APP)/amyloid beta (Abeta) axis in amyloidogenic and non-amyloidogenic pathways: A time outside the tunnel. **Ageing Res Rev**, 92, p. 102119, Dec 2023.

ALDRICH, S. **The Streptozotocin-Induced Diabetic Nude Mouse Model: Differences between Animals from Different Sources.** Journal of Separation Science, 742-743 (2016), 2016. Acesso em: 29 June 2025.

ALQUEZAR, C.; ARYA, S.; KAO, A. W. Tau Post-translational Modifications: Dynamic Transformers of Tau Function, Degradation, and Aggregation. **Front Neurol**, 11, p. 595532, 2020.

AMELIMOJARAD, M.; AMELIMOJARAD, M. The neuroinflammatory role of microglia in Alzheimer's disease and their associated therapeutic targets. **CNS Neurosci Ther**, 30, n. 7, p. e14856, Jul 2024.

AMRO, Z.; YOOL, A. J.; COLLINS-PRAINO, L. E. The potential role of glial cells in driving the prion-like transcellular propagation of tau in tauopathies. **Brain Behav Immun Health**, 14, p. 100242, Jul 2021.

ANDERSEN, J. V.; SCHOUSBOE, A.; VERKHRATSKY, A. Astrocyte energy and neurotransmitter metabolism in Alzheimer's disease: Integration of the glutamate/GABA-glutamine cycle. **Prog Neurobiol**, 217, p. 102331, Oct 2022.

ANDRADE-GUERRERO, J.; SANTIAGO-BALMASEDA, A.; JERONIMO-AGUILAR, P.; VARGAS-RODRIGUEZ, I. *et al.* Alzheimer's Disease: An Updated Overview of Its Genetics. **Int J Mol Sci**, 24, n. 4, Feb 13 2023.

ANGELOVA, P. R.; ESTERAS, N.; ABRAMOV, A. Y. Mitochondria and lipid peroxidation in the mechanism of neurodegeneration: Finding ways for prevention. **Med Res Rev**, 41, n. 2, p. 770-784, Mar 2021.

ANGHINONI, J. M.; BIRMANN, P. T.; DA ROCHA, M. J.; GOMES, C. S. *et al.* Recent Advances in the Synthesis and Antioxidant Activity of Low Molecular Mass Organoselenium Molecules. **Molecules**, 28, n. 21, Oct 30 2023.

ANSARI, M. A.; AL-JARALLAH, A.; BABIKER, F. A. Impaired Insulin Signaling Alters Mediators of Hippocampal Synaptic Dynamics/Plasticity: A Possible Mechanism of Hyperglycemia-Induced Cognitive Impairment. **Cells**, 12, n. 13, Jun 27 2023.

ASSOCIATION, A. s. Alzheimer's Disease Facts and Figures. **Alzheimers Dement**, 17(3), 2021.

ATLANTE, A.; VALENTI, D. Mitochondrial Complex I and beta-Amyloid Peptide Interplay in Alzheimer's Disease: A Critical Review of New and Old Little Regarded Findings. **Int J Mol Sci**, 24, n. 21, Nov 3 2023.

AYYUBOVA, G. Dysfunctional microglia and tau pathology in Alzheimer's disease. **Rev Neurosci**, 34, n. 4, p. 443-458, Jun 27 2023.

AZEVEDO, A. R.; CORDEIRO, P.; STRELOW, D. N.; DE ANDRADE, K. N. *et al.* Green Approach for the Synthesis of Chalcogenyl- 2,3-dihydrobenzofuran Derivatives Through Allyl-phenols/ Naphthols and Their Potential as MAO-B Inhibitors. **Chem Asian J**, 18, n. 24, p. e202300586, Dec 14 2023.

AZMAN, K. F.; ZAKARIA, R. Recent Advances on the Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Neurodegenerative Diseases. **Int J Mol Sci**, 23, n. 12, Jun 19 2022.

BABAEI, P. NMDA and AMPA receptors dysregulation in Alzheimer's disease. **Eur J Pharmacol**, 908, p. 174310, Oct 5 2021.

BAI, R.; GUO, J.; YE, X. Y.; XIE, Y. *et al.* Oxidative stress: The core pathogenesis and mechanism of Alzheimer's disease. **Ageing Res Rev**, 77, p. 101619, May 2022.

BARACALDO-SANTAMARIA, D.; AVENDANO-LOPEZ, S. S.; ARIZA-SALAMANCA, D. F.; RODRIGUEZ-GIRALDO, M. *et al.* Role of Calcium Modulation in the Pathophysiology and Treatment of Alzheimer's Disease. **Int J Mol Sci**, 24, n. 10, May 22 2023.

BARBOSA, F. A. R.; CANTO, R. F. S.; TEIXEIRA, K. F.; DE SOUZA, A. S. *et al.* Selenium-Derivative Compounds: A Review of New Perspectives in the Treatment of Alzheimer's Disease. **Curr Med Chem**, 30, n. 6, p. 689-700, 2023.

BARCIELLI, G.; CAPPERUCCI, A.; TANINI, D. The Role of Selenium in Pathologies: An Updated Review. **Antioxidants (Basel)**, 11, n. 2, Jan 27 2022.

BASHEER, N.; SMOLEK, T.; HASSAN, I.; LIU, F. *et al.* Does modulation of tau hyperphosphorylation represent a reasonable therapeutic strategy for Alzheimer's disease? From preclinical studies to the clinical trials. **Mol Psychiatry**, 28, n. 6, p. 2197-2214, Jun 2023.

BAWEJA, G. S.; GUPTA, S.; KUMAR, B.; PATEL, P. *et al.* Recent updates on structural insights of MAO-B inhibitors: a review on target-based approach. **Mol Divers**, 28, n. 3, p. 1823-1845, Jun 2024.

BEAR, M. F. C., B.W.; PARADISO, M.A. **Neurociências: desvendando o sistema nervoso**. 2017. 978-85-8271-433-1. .

BEHL, T.; KAUR, D.; SEHGAL, A.; SINGH, S. *et al.* Role of Monoamine Oxidase Activity in Alzheimer's Disease: An Insight into the Therapeutic Potential of Inhibitors. **Molecules**, 26, n. 12, Jun 18 2021.

BEKDASH, R. A. The Cholinergic System, the Adrenergic System and the Neuropathology of Alzheimer's Disease. **Int J Mol Sci**, 22, n. 3, Jan 28 2021.

BELFORT, T.; SIMOES, J. P.; SANTOS, R. L.; LACERDA, I. *et al.* Social cognition: Patterns of impairments in mild and moderate Alzheimer's disease. **Int J Geriatr Psychiatry**, 35, n. 11, p. 1385-1392, Nov 2020.

BHATT, S.; PULI, L.; PATIL, C. R. Role of reactive oxygen species in the progression of Alzheimer's disease. **Drug Discov Today**, 26, n. 3, p. 794-803, Mar 2021.

BICCA OBETINE BAPTISTA, F.; ARANTES, L. P.; MACHADO, M. L.; DA SILVA, A. F. *et al.* Diphenyl diselenide protects a *Caenorhabditis elegans* model for Huntington's disease by activation of the antioxidant pathway and a decrease in protein aggregation. **Metallomics**, 12, n. 7, p. 1142-1158, Jul 22 2020.

BIRMANN, P. T.; CASARIL, A. M.; ABENANTE, L.; PENTEADO, F. *et al.* Neuropharmacology of Organoselenium Compounds in Mental Disorders and Degenerative Diseases. **Curr Med Chem**, 30, n. 21, p. 2357-2395, 2023.

BOTTO, R.; CALLAI, N.; CERMELLI, A.; CAUSARANO, L. *et al.* Anxiety and depression in Alzheimer's disease: a systematic review of pathogenetic mechanisms and relation to cognitive decline. **Neurol Sci**, 43, n. 7, p. 4107-4124, Jul 2022.

BRANDES, M. S.; GRAY, N. E. NRF2 as a Therapeutic Target in Neurodegenerative Diseases. **ASN Neuro**, 12, p. 1759091419899782, Jan-Dec 2020.

BUCCELLATO, F. R.; D'ANCA, M.; FENOGLIO, C.; SCARPINI, E. *et al.* Role of Oxidative Damage in Alzheimer's Disease and Neurodegeneration: From Pathogenic Mechanisms to Biomarker Discovery. **Antioxidants (Basel)**, 10, n. 9, Aug 26 2021.

BUSCHE, M. A.; HYMAN, B. T. Synergy between amyloid-beta and tau in Alzheimer's disease. **Nat Neurosci**, 23, n. 10, p. 1183-1193, Oct 2020.

CACABELOS, R.; MARTINEZ-IGLESIAS, O.; CACABELOS, N.; CARRERA, I. *et al.* Therapeutic Options in Alzheimer's Disease: From Classic Acetylcholinesterase Inhibitors to Multi-Target Drugs with Pleiotropic Activity. **Life (Basel)**, 14, n. 12, Nov 26 2024.

CAI, Y.; LIU, J.; WANG, B.; SUN, M. *et al.* Microglia in the Neuroinflammatory Pathogenesis of Alzheimer's Disease and Related Therapeutic Targets. **Front Immunol**, 13, p. 856376, 2022.

CASTRO, T. G.; FERREIRA, T.; MATAMA, T.; MUNTEANU, F. D. *et al.* Acetylation and phosphorylation processes modulate Tau's binding to microtubules: A molecular dynamics study. **Biochim Biophys Acta Gen Subj**, 1867, n. 2, p. 130276, Feb 2023.

CHANG, C. W.; SHAO, E.; MUCKE, L. Tau: Enabler of diverse brain disorders and target of rapidly evolving therapeutic strategies. **Science**, 371, n. 6532, Feb 26 2021.

CHAUHAN, N.; PALIWAL, S.; JAIN, S.; VERMA, K. *et al.* GSK-3 $\beta$  and its Inhibitors in Alzheimer's Disease: A Recent Update. **Mini Rev Med Chem**, 22, n. 22, p. 2881-2895, 2022.

CHEN, W. N.; YEONG, K. Y. Scopolamine, a Toxin-Induced Experimental Model, Used for Research in Alzheimer's Disease. **CNS Neurol Disord Drug Targets**, 19, n. 2, p. 85-93, 2020.

CHEN, Y.; YU, Y. Tau and neuroinflammation in Alzheimer's disease: interplay mechanisms and clinical translation. **J Neuroinflammation**, 20, n. 1, p. 165, Jul 14 2023.

CHEN, Z.; PITCHAKUNTALA, M.; JIA, Y. Synthetic approaches to natural products containing 2,3-dihydrobenzofuran skeleton. **Nat Prod Rep**, 36, n. 4, p. 666-690, Apr 17 2019.

CHEN, Z. R.; HUANG, J. B.; YANG, S. L.; HONG, F. F. Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. **Molecules**, 27, n. 6, Mar 10 2022.

CHENG, Y. J.; LIN, C. H.; LANE, H. Y. Involvement of Cholinergic, Adrenergic, and Glutamatergic Network Modulation with Cognitive Dysfunction in Alzheimer's Disease. **Int J Mol Sci**, 22, n. 5, Feb 25 2021.

CHILUKURI, S.; BURELA, N. Memantine for Prevention of Brain Irradiation-Induced Cognitive Toxicity: A Tale of an Underappreciated and Underused Intervention. **JCO Glob Oncol**, 6, p. 1384-1388, Sep 2020.

CHOI, M.; JO, H.; PARK, H. J.; SATEESH KUMAR, A. *et al.* Design, synthesis, and biological evaluation of benzofuran- and 2,3-dihydrobenzofuran-2-carboxylic acid N-(substituted)phenylamide derivatives as anticancer agents and inhibitors of NF-kappaB. **Bioorg Med Chem Lett**, 25, n. 12, p. 2545-2549, Jun 15 2015.

CHOI, S. B.; KWON, S.; KIM, J. H.; AHN, N. H. *et al.* The Molecular Mechanisms of Neuroinflammation in Alzheimer's Disease, the Consequence of Neural Cell Death. **Int J Mol Sci**, 24, n. 14, Jul 21 2023.

CHUAI, H.; ZHANG, S. Q.; BAI, H.; LI, J. *et al.* Small molecule selenium-containing compounds: Recent development and therapeutic applications. **Eur J Med Chem**, 223, p. 113621, Nov 5 2021.

COLLINS, A. E.; SALEH, T. M.; KALISCH, B. E. Naturally Occurring Antioxidant Therapy in Alzheimer's Disease. **Antioxidants (Basel)**, 11, n. 2, Jan 23 2022.

CONWAY, M. E. Alzheimer's disease: targeting the glutamatergic system. **Biogerontology**, 21, n. 3, p. 257-274, Jun 2020.

CZAPSKI, G. A.; STROSZNAJDER, J. B. Glutamate and GABA in Microglia-Neuron Cross-Talk in Alzheimer's Disease. **Int J Mol Sci**, 22, n. 21, Oct 28 2021.

D'MELLO, S. R. When Good Kinases Go Rogue: GSK3, p38 MAPK and CDKs as Therapeutic Targets for Alzheimer's and Huntington's Disease. **Int J Mol Sci**, 22, n. 11, May 31 2021.

DE OLIVEIRA, R. L.; VOSS, G. T.; DA, C. R. K.; PINZ, M. P. *et al.* Prospecting for a quinoline containing selenium for comorbidities depression and memory impairment



induced by restriction stress in mice. **Psychopharmacology (Berl)**, 239, n. 1, p. 59-81, Jan 2022.

DE PLANO, L. M.; CALABRESE, G.; RIZZO, M. G.; ODDO, S. *et al.* The Role of the Transcription Factor Nrf2 in Alzheimer's Disease: Therapeutic Opportunities. **Biomolecules**, 13, n. 3, Mar 17 2023.

DEJANOVIC, B.; WU, T.; TSAI, M. C.; GRAYKOWSKI, D. *et al.* Complement C1q-dependent excitatory and inhibitory synapse elimination by astrocytes and microglia in Alzheimer's disease mouse models. **Nat Aging**, 2, n. 9, p. 837-850, Sep 2022.

DEVOUS, M. D., Sr.; FLEISHER, A. S.; PONTECORVO, M. J.; LU, M. *et al.* Relationships Between Cognition and Neuropathological Tau in Alzheimer's Disease Assessed by 18F Flortaucipir PET. **J Alzheimers Dis**, 80, n. 3, p. 1091-1104, 2021.

DHAPOLA, R.; KUMARI, S.; SHARMA, P.; HARIKRISHNAREDDY, D. Insight into the emerging and common experimental in-vivo models of Alzheimer's disease. **Lab Anim Res**, 39, n. 1, p. 33, Dec 11 2023.

DU, F.; YU, Q.; KANAAN, N. M.; YAN, S. S. Mitochondrial oxidative stress contributes to the pathological aggregation and accumulation of tau oligomers in Alzheimer's disease. **Hum Mol Genet**, 31, n. 15, p. 2498-2507, Aug 17 2022.

DUJARDIN, S.; COMMINS, C.; LATHUILIERE, A.; BEEREPOOT, P. *et al.* Tau molecular diversity contributes to clinical heterogeneity in Alzheimer's disease. **Nat Med**, 26, n. 8, p. 1256-1263, Aug 2020.

FANLO-UCAR, H.; PICON-PAGES, P.; HERRERA-FERNANDEZ, V.; ILL-RAGA, G. *et al.* The Dual Role of Amyloid Beta-Peptide in Oxidative Stress and Inflammation: Unveiling Their Connections in Alzheimer's Disease Etiopathology. **Antioxidants (Basel)**, 13, n. 10, Oct 8 2024.

FENG, Y.; QIU, W. L.; YU, X. X.; ZHANG, Y. *et al.* Characterizing pancreatic beta-cell heterogeneity in the streptozotocin model by single-cell transcriptomic analysis. **Mol Metab**, 37, p. 100982, Jul 2020.

FERNANDO, K. K. M.; WIJAYASINGHE, Y. S. Sirtuins as Potential Therapeutic Targets for Mitigating Neuroinflammation Associated With Alzheimer's Disease. **Front Cell Neurosci**, 15, p. 746631, 2021.

FRONZA, M. G.; ALVES, D.; PRATICO, D.; SAVEGNAGO, L. The neurobiology and therapeutic potential of multi-targeting beta-secretase, glycogen synthase kinase 3beta and acetylcholinesterase in Alzheimer's disease. **Ageing Res Rev**, 90, p. 102033, Sep 2023.

GANGULY, U.; KAUR, U.; CHAKRABARTI, S. S.; SHARMA, P. *et al.* Oxidative Stress, Neuroinflammation, and NADPH Oxidase: Implications in the Pathogenesis and Treatment of Alzheimer's Disease. **Oxid Med Cell Longev**, 2021, p. 7086512, 2021.

GAO, C.; LIU, Y.; JIANG, Y.; DING, J. *et al.* Geniposide ameliorates learning memory deficits, reduces tau phosphorylation and decreases apoptosis via GSK3beta pathway in streptozotocin-induced alzheimer rat model. **Brain Pathol**, 24, n. 3, p. 261-269, Apr 2014.

GAO, L.; ZHANG, Y.; STERLING, K.; SONG, W. Brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer's disease and its pharmaceutical potential. **Transl Neurodegener**, 11, n. 1, p. 4, Jan 28 2022.

GENCHI, G.; LAURIA, G.; CATALANO, A.; SINICROPI, M. S. *et al.* Biological Activity of Selenium and Its Impact on Human Health. **Int J Mol Sci**, 24, n. 3, Jan 30 2023.

GHASEMI, A.; JEDDI, S. Streptozotocin as a tool for induction of rat models of diabetes: a practical guide. **EXCLI J**, 22, p. 274-294, 2023.

GHIT, A.; ASSAL, D.; AL-SHAMI, A. S.; HUSSEIN, D. E. E. GABA(A) receptors: structure, function, pharmacology, and related disorders. **J Genet Eng Biotechnol**, 19, n. 1, p. 123, Aug 21 2021.

GHOSH, S.; ALI, R.; VERMA, S. Abeta-oligomers: A potential therapeutic target for Alzheimer's disease. **Int J Biol Macromol**, 239, p. 124231, Jun 1 2023.

GIORGI, F. S.; GALGANI, A.; PUGLISI-ALLEGRA, S.; BUSCETI, C. L. *et al.* The connections of Locus Coeruleus with hypothalamus: potential involvement in Alzheimer's disease. **J Neural Transm (Vienna)**, 128, n. 5, p. 589-613, May 2021.

GONCALVES, L. D. S.; RUSCH, G.; ALVES, A. G.; KRUGER, L. D. *et al.* Acute 2-phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran treatment reverses the neurobehavioral alterations induced by sleep deprivation in mice. **Biochem Pharmacol**, 226, p. 116339, Aug 2024.

GUO, Y.; WANG, Q.; CHEN, S.; XU, C. Functions of amyloid precursor protein in metabolic diseases. **Metabolism**, 115, p. 154454, Feb 2021.

GYPARAKI, M. T.; ARAB, A.; SOROKINA, E. M.; SANTIAGO-RUIZ, A. N. *et al.* Tau forms oligomeric complexes on microtubules that are distinct from tau aggregates. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 118, n. 19, May 11 2021.

HAMPEL, H.; HARDY, J.; BLENNOW, K.; CHEN, C. *et al.* The Amyloid-beta Pathway in Alzheimer's Disease. **Mol Psychiatry**, 26, n. 10, p. 5481-5503, Oct 2021.

HATAMI, M.; MORTAZAVI, M.; BASERI, Z.; KHANI, B. *et al.* Antioxidant Compounds in the Treatment of Alzheimer's Disease: Natural, Hybrid, and Synthetic Products. **Evid Based Complement Alternat Med**, 2023, p. 8056462, 2023.

HE, J.; ZHU, G.; WANG, G.; ZHANG, F. Oxidative Stress and Neuroinflammation Potentiate Each Other to Promote Progression of Dopamine Neurodegeneration. **Oxid Med Cell Longev**, 2020, p. 6137521, 2020.

HERNANDEZ-FRAUSTO, M.; BILASH, O. M.; MASURKAR, A. V.; BASU, J. Local and long-range GABAergic circuits in hippocampal area CA1 and their link to Alzheimer's disease. **Front Neural Circuits**, 17, p. 1223891, 2023.

HOOGMARTENS, J.; CACACE, R.; VAN BROECKHOVEN, C. Insight into the genetic etiology of Alzheimer's disease: A comprehensive review of the role of rare variants. **Alzheimers Dement (Amst)**, 13, n. 1, p. e12155, 2021.

HOU, W.; XU, H. Incorporating Selenium into Heterocycles and Natural Products horizontal line From Chemical Properties to Pharmacological Activities. **J Med Chem**, 65, n. 6, p. 4436-4456, Mar 24 2022.

HUANG, Z. H.; WANG, H.; WANG, D. M.; ZHAO, X. Y. *et al.* Identification of core genes in prefrontal cortex and hippocampus of Alzheimer's disease based on mRNA-miRNA network. **J Cell Mol Med**, 26, n. 23, p. 5779-5793, Dec 2022.

IARKOV, A.; MENDOZA, C.; ECHEVERRIA, V. Cholinergic Receptor Modulation as a Target for Preventing Dementia in Parkinson's Disease. **Front Neurosci**, 15, p. 665820, 2021.

INESTROSA, N. C.; TAPIA-ROJAS, C.; CERPA, W.; CISTERNAS, P. *et al.* WNT Signaling Is a Key Player in Alzheimer's Disease. **Handb Exp Pharmacol**, 269, p. 357-382, 2021.

ISKUSNYKH, I. Y.; ZAKHAROVA, A. A.; PATHAK, D. Glutathione in Brain Disorders and Aging. **Molecules**, 27, n. 1, Jan 5 2022.

JOMOVA, K.; ALOMAR, S. Y.; ALWASEL, S. H.; NEPOVIMOVA, E. *et al.* Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. **Arch Toxicol**, 98, n. 5, p. 1323-1367, May 2024.

JONES, D. N.; RAGHANTI, M. A. The role of monoamine oxidase enzymes in the pathophysiology of neurological disorders. **J Chem Neuroanat**, 114, p. 101957, Jul 2021.

JOSHUA, B. G. d. L., Jane Carissa Sutedja Akt signaling pathway: a potential therapy for Alzheimer's disease through glycogen synthase kinase 3 beta inhibition. . **Egypt J Neurol Psychiatry Neurosurg**, 59, n. 147, 2023.

JUSZCZYK, G.; MIKULSKA, J.; KASPEREK, K.; PIETRZAK, D. *et al.* Chronic Stress and Oxidative Stress as Common Factors of the Pathogenesis of Depression and Alzheimer's Disease: The Role of Antioxidants in Prevention and Treatment. **Antioxidants (Basel)**, 10, n. 9, Sep 9 2021.

KALTSCHMIDT, B.; CZANIERA, N. J.; SCHULTEN, W.; KALTSCHMIDT, C. NF-kappaB in Alzheimer's Disease: Friend or Foe? Opposite Functions in Neurons and Glial Cells. **Int J Mol Sci**, 25, n. 21, Oct 22 2024.

KAUNDAL, M.; DESHMUKH, R.; AKHTAR, M. Protective effect of betulinic acid against intracerebroventricular streptozotocin induced cognitive impairment and neuronal damage in rats: Possible neurotransmitters and neuroinflammatory mechanism. **Pharmacol Rep**, 70, n. 3, p. 540-548, Jun 2018.

KELLINY, S.; LIN, L.; DENG, I.; XIONG, J. *et al.* A New Approach to Model Sporadic Alzheimer's Disease by Intracerebroventricular Streptozotocin Injection in APP/PS1 Mice. **Mol Neurobiol**, 58, n. 8, p. 3692-3711, Aug 2021.

KENT, S. A.; SPIRES-JONES, T. L.; DURRANT, C. S. The physiological roles of tau and Abeta: implications for Alzheimer's disease pathology and therapeutics. **Acta Neuropathol**, 140, n. 4, p. 417-447, Oct 2020.

KEPKA, A.; OCHOCINSKA, A.; BORZYM-KLUCZYK, M.; CHOJNOWSKA, S. *et al.* Healthy Food Pyramid as Well as Physical and Mental Activity in the Prevention of Alzheimer's Disease. **Nutrients**, 14, n. 8, Apr 7 2022.

KIELISZEK, M.; BANO, I. Selenium as an important factor in various disease states - a review. **EXCLI J**, 21, p. 948-966, 2022.

KIM, S.; JUNG, U. J.; KIM, S. R. The Crucial Role of the Blood-Brain Barrier in Neurodegenerative Diseases: Mechanisms of Disruption and Therapeutic Implications. **J Clin Med**, 14, n. 2, Jan 9 2025.

KNOPMAN, D. S.; AMIEVA, H.; PETERSEN, R. C.; CHETELAT, G. *et al.* Alzheimer disease. **Nat Rev Dis Primers**, 7, n. 1, p. 33, May 13 2021.

KONIG, T.; STOGMANN, E. Genetics of Alzheimer's disease. **Wien Med Wochenschr**, 171, n. 11-12, p. 249-256, Sep 2021.

KUMAWAT, A.; RAHEEM, S.; ALI, F.; DAR, T. A. *et al.* Organoselenium Compounds as Acetylcholinesterase Inhibitors: Evidence and Mechanism of Mixed Inhibition. **J Phys Chem B**, 125, n. 6, p. 1531-1541, Feb 18 2021.

KUSHWAHA, V.; SAHU, K. K. A Comprehensive Review on Preclinical Alzheimer's Disease Models: Evaluating their Clinical Relevance. **Curr Pharm Biotechnol**, 26, n. 2, p. 186-207, 2025.

KWON, H. S.; KOH, S. H. Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: the roles of microglia and astrocytes. **Transl Neurodegener**, 9, n. 1, p. 42, Nov 26 2020.

LAURETTI, E.; DINCER, O.; PRATICO, D. Glycogen synthase kinase-3 signaling in Alzheimer's disease. **Biochim Biophys Acta Mol Cell Res**, 1867, n. 5, p. 118664, May 2020.

LAWRENCE, J. M.; SCHARDIEN, K.; WIGDAHL, B.; NONNEMACHER, M. R. Roles of neuropathology-associated reactive astrocytes: a systematic review. **Acta Neuropathol Commun**, 11, n. 1, p. 42, Mar 13 2023.

LEE, K. H.; CHA, M.; LEE, B. H. Neuroprotective Effect of Antioxidants in the Brain. **Int J Mol Sci**, 21, n. 19, Sep 28 2020.

LI, S.; SELKOE, D. J. A mechanistic hypothesis for the impairment of synaptic plasticity by soluble A $\beta$  oligomers from Alzheimer's brain. **J Neurochem**, 154, n. 6, p. 583-597, Sep 2020.

LI, W.; PICARD, F. Toxicokinetics in preclinical drug development of small-molecule new chemical entities. **Biomed Chromatogr**, 37, n. 7, p. e5553, Jul 2023.

LICHTENTHALER, S. F.; TSCHIRNER, S. K.; STEINER, H. Secretases in Alzheimer's disease: Novel insights into proteolysis of APP and TREM2. **Curr Opin Neurobiol**, 72, p. 101-110, Feb 2022.

LIN, Y.; KUO, S. H. The emerging role of the cerebellum in neurodegeneration linked to cognitive impairment. **J Alzheimers Dis**, 102, n. 1, p. 30-32, Nov 2024.

LONG, J. M.; HOLTZMAN, D. M. Alzheimer Disease: An Update on Pathobiology and Treatment Strategies. **Cell**, 179, n. 2, p. 312-339, Oct 3 2019.

LUCHENA, C.; ZUAZO-IBARRA, J.; VALERO, J.; MATUTE, C. *et al.* A Neuron, Microglia, and Astrocyte Triple Co-culture Model to Study Alzheimer's Disease. **Front Aging Neurosci**, 14, p. 844534, 2022.

MA, C.; HONG, F.; YANG, S. Amyloidosis in Alzheimer's Disease: Pathogeny, Etiology, and Related Therapeutic Directions. **Molecules**, 27, n. 4, Feb 11 2022.

MADHU, P.; MUKHOPADHYAY, S. Distinct types of amyloid-beta oligomers displaying diverse neurotoxicity mechanisms in Alzheimer's disease. **J Cell Biochem**, 122, n. 11, p. 1594-1608, Nov 2021.

MANDLIK, D. S.; MANDLIK, S. K.; S, A. Therapeutic implications of glycogen synthase kinase-3beta in Alzheimer's disease: a novel therapeutic target. **Int J Neurosci**, 134, n. 6, p. 603-619, Jun 2024.

MARI, M.; DE GREGORIO, E.; DE DIOS, C.; ROCA-AGUJETAS, V. *et al.* Mitochondrial Glutathione: Recent Insights and Role in Disease. **Antioxidants (Basel)**, 9, n. 10, Sep 24 2020.

MARTINEZ, M.; INESTROSA, N. C. The transcriptional landscape of Alzheimer's disease and its association with Wnt signaling pathway. **Neurosci Biobehav Rev**, 128, p. 454-466, Sep 2021.

MARTINI, F.; REGIS LEITE, M.; GONCALVES ROSA, S.; PREGARDIER KLANN, I. *et al.* Strength exercise suppresses STZ-induced spatial memory impairment and modulates BDNF/ERK-CAMKII/CREB signalling pathway in the hippocampus of mice. **Cell Biochem Funct**, 38, n. 2, p. 213-221, Mar 2020.

MASURKAR, A. V.; MARSH, K.; MORGAN, B.; LEITNER, D. *et al.* Factors Affecting Resilience and Prevention of Alzheimer's Disease and Related Dementias. **Ann Neurol**, 96, n. 4, p. 633-649, Oct 2024.

MAYO, P.; PASCUAL, J.; CRISMAN, E.; DOMINGUEZ, C. *et al.* Innovative pathological network-based multitarget approaches for Alzheimer's disease treatment. **Med Res Rev**, 44, n. 6, p. 2367-2419, Nov 2024.

MCNAY, E. C.; PEARSON-LEARY, J. GluT4: A central player in hippocampal memory and brain insulin resistance. **Exp Neurol**, 323, p. 113076, Jan 2020.

MEFTAH, S.; GAN, J. Alzheimer's disease as a synaptopathy: Evidence for dysfunction of synapses during disease progression. **Front Synaptic Neurosci**, 15, p. 1129036, 2023.

MERCERON-MARTINEZ, D.; IBACETA-GONZALEZ, C.; SALAZAR, C.; ALMAGUER-MELIAN, W. *et al.* Alzheimer's Disease, Neural Plasticity, and Functional Recovery. **J Alzheimers Dis**, 82, n. s1, p. S37-S50, 2021.

MERIGHI, S.; NIGRO, M.; TRAVAGLI, A.; GESSI, S. Microglia and Alzheimer's Disease. **Int J Mol Sci**, 23, n. 21, Oct 27 2022.

MICULAS, D. C.; NEGRU, P. A.; BUNGAU, S. G.; BEHL, T. *et al.* Pharmacotherapy Evolution in Alzheimer's Disease: Current Framework and Relevant Directions. **Cells**, 12, n. 1, Dec 28 2022.

MISRANI, A.; TABASSUM, S.; YANG, L. Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress in Alzheimer's Disease. **Front Aging Neurosci**, 13, p. 617588, 2021.

MORETA, M. P.; BURGOS-ALONSO, N.; TORRECILLA, M.; MARCO-CONTELLES, J. *et al.* Efficacy of Acetylcholinesterase Inhibitors on Cognitive Function in Alzheimer's Disease. Review of Reviews. **Biomedicines**, 9, n. 11, Nov 15 2021.

MOSS, D. E.; PEREZ, R. G. Anti-Neurodegenerative Benefits of Acetylcholinesterase Inhibitors in Alzheimer's Disease: Nexus of Cholinergic and Nerve Growth Factor Dysfunction. **Curr Alzheimer Res**, 18, n. 13, p. 1010-1022, 2021.

NADERI, M.; PUAR, P.; ZONOUZI-MARAND, M.; CHIVERS, D. P. *et al.* A comprehensive review on the neuropathophysiology of selenium. **Sci Total Environ**, 767, p. 144329, May 1 2021.

NAGORI, K.; PRADHAN, M.; SHARMA, M.; AJAZUDDIN *et al.* Current Progress on Central Cholinergic Receptors as Therapeutic Targets for Alzheimer's Disease. **Curr Alzheimer Res**, 21, n. 1, p. 50-68, 2024.

NAM, M. H.; SA, M.; JU, Y. H.; PARK, M. G. *et al.* Revisiting the Role of Astrocytic MAOB in Parkinson's Disease. **Int J Mol Sci**, 23, n. 8, Apr 18 2022.

NGUYEN, A. T.; WANG, K.; HU, G.; WANG, X. *et al.* APOE and TREM2 regulate amyloid-responsive microglia in Alzheimer's disease. **Acta Neuropathol**, 140, n. 4, p. 477-493, Oct 2020.

NICHOLSON, J. L.; TOH, P.; ALFULAIJ, N.; BERRY, M. J. *et al.* New insights on selenoproteins and neuronal function. **Free Radic Biol Med**, 190, p. 55-61, Sep 2022.

NIEWIADOMSKA, G.; NIEWIADOMSKI, W.; STECZKOWSKA, M.; GASIOROWSKA, A. Tau Oligomers Neurotoxicity. **Life (Basel)**, 11, n. 1, Jan 6 2021.

NOVOA, C.; SALAZAR, P.; CISTERNAS, P.; GHERARDELLI, C. *et al.* Inflammation context in Alzheimer's disease, a relationship intricate to define. **Biol Res**, 55, n. 1, p. 39, Dec 23 2022.

NUMAKAWA, T.; ODAKA, H. Brain-Derived Neurotrophic Factor Signaling in the Pathophysiology of Alzheimer's Disease: Beneficial Effects of Flavonoids for Neuroprotection. **Int J Mol Sci**, 22, n. 11, May 27 2021.

OGUNMOKUN, G.; DEWANJEE, S.; CHAKRABORTY, P.; VALUPADAS, C. *et al.* The Potential Role of Cytokines and Growth Factors in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. **Cells**, 10, n. 10, Oct 18 2021.

OLUFUNMILAYO, E. O.; GERKE-DUNCAN, M. B.; HOLSINGER, R. M. D. Oxidative Stress and Antioxidants in Neurodegenerative Disorders. **Antioxidants (Basel)**, 12, n. 2, Feb 18 2023.

ONO, K.; TSUJI, M. Protofibrils of Amyloid-beta are Important Targets of a Disease-Modifying Approach for Alzheimer's Disease. **Int J Mol Sci**, 21, n. 3, Jan 31 2020.

ORTIZ-ISLAS, E.; MONTES, P.; RODRIGUEZ-PEREZ, C. E.; RUIZ-SANCHEZ, E. *et al.* Evolution of Alzheimer's Disease Therapeutics: From Conventional Drugs to Medicinal Plants, Immunotherapy, Microbiotherapy and Nanotherapy. **Pharmaceutics**, 17, n. 1, Jan 17 2025.

OSTADKARAMPOUR, M.; PUTNINS, E. E. Monoamine Oxidase Inhibitors: A Review of Their Anti-Inflammatory Therapeutic Potential and Mechanisms of Action. **Front Pharmacol**, 12, p. 676239, 2021.

OZDEMIR, Z.; ALAGOZ, M. A.; BAHCECIOGLU, O. F.; GOK, S. Monoamine Oxidase-B (MAO-B) Inhibitors in the Treatment of Alzheimer's and Parkinson's Disease. **Curr Med Chem**, 28, n. 29, p. 6045-6065, 2021.

PARK, J.; WON, J.; SEO, J.; YEO, H. G. *et al.* Streptozotocin Induces Alzheimer's Disease-Like Pathology in Hippocampal Neuronal Cells via CDK5/Drp1-Mediated Mitochondrial Fragmentation. **Front Cell Neurosci**, 14, p. 235, 2020.

PELUCCHI, S.; GARDONI, F.; DI LUCA, M.; MARCELLO, E. Synaptic dysfunction in early phases of Alzheimer's Disease. **Handb Clin Neurol**, 184, p. 417-438, 2022.

PENKE, B.; SZUCS, M.; BOGAR, F. Oligomerization and Conformational Change Turn Monomeric beta-Amyloid and Tau Proteins Toxic: Their Role in Alzheimer's Pathogenesis. **Molecules**, 25, n. 7, Apr 3 2020.



PERLUIGI, M.; DI DOMENICO, F.; BUTTERFIELD, D. A. Oxidative damage in neurodegeneration: roles in the pathogenesis and progression of Alzheimer disease. **Physiol Rev**, 104, n. 1, p. 103-197, Jan 1 2024.

PETRALLA, S.; PANAYOTOVA, M.; FRANCHINA, E.; FRICKER, G. *et al.* Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 1 as a Potential Therapeutic Target in Alzheimer's Disease. **Pharmaceutics**, 16, n. 7, Jul 17 2024.

PFUNDSTEIN, G.; NIKONENKO, A. G.; SYTNYK, V. Amyloid precursor protein (APP) and amyloid beta (Abeta) interact with cell adhesion molecules: Implications in Alzheimer's disease and normal physiology. **Front Cell Dev Biol**, 10, p. 969547, 2022.

PICCA, A.; CALVANI, R.; COELHO-JUNIOR, H. J.; LANDI, F. *et al.* Mitochondrial Dysfunction, Oxidative Stress, and Neuroinflammation: Intertwined Roads to Neurodegeneration. **Antioxidants (Basel)**, 9, n. 8, Jul 22 2020.

PLASCENCIA-VILLA, G.; PERRY, G. Preventive and Therapeutic Strategies in Alzheimer's Disease: Focus on Oxidative Stress, Redox Metals, and Ferroptosis. **Antioxid Redox Signal**, 34, n. 8, p. 591-610, Mar 10 2021.

PLASCENCIA-VILLA, G.; PERRY, G. Roles of Oxidative Stress in Synaptic Dysfunction and Neuronal Cell Death in Alzheimer's Disease. **Antioxidants (Basel)**, 12, n. 8, Aug 17 2023.

PRICE, B. R.; JOHNSON, L. A.; NORRIS, C. M. Reactive astrocytes: The nexus of pathological and clinical hallmarks of Alzheimer's disease. **Ageing Res Rev**, 68, p. 101335, Jul 2021.

PRITAM, P.; DEKA, R.; BHARDWAJ, A.; SRIVASTAVA, R. *et al.* Antioxidants in Alzheimer's Disease: Current Therapeutic Significance and Future Prospects. **Biology (Basel)**, 11, n. 2, Jan 28 2022.

RAHMAN, M. H.; AKTER, R.; BHATTACHARYA, T.; ABDEL-DAIM, M. M. *et al.* Resveratrol and Neuroprotection: Impact and Its Therapeutic Potential in Alzheimer's Disease. **Front Pharmacol**, 11, p. 619024, 2020.

RAHMAN, M. S.; UDDIN, M. S.; RAHMAN, M. A.; SAMSUZZAMAN, M. *et al.* Exploring the Role of Monoamine Oxidase Activity in Aging and Alzheimer's Disease. **Curr Pharm Des**, 27, n. 38, p. 4017-4029, 2021.

RAIS, N.; VED, A.; AHMAD, R.; PARVEEN, K. *et al.* Model of Streptozotocin-nicotinamide Induced Type 2 Diabetes: a Comparative Review. **Curr Diabetes Rev**, 18, n. 8, p. e171121198001, 2022.

RAJESH, Y.; KANNEGANTI, T. D. Innate Immune Cell Death in Neuroinflammation and Alzheimer's Disease. **Cells**, 11, n. 12, Jun 10 2022.

RATAN, Y.; RAJPUT, A.; MALEYSM, S.; PAREEK, A. *et al.* An Insight into Cellular and Molecular Mechanisms Underlying the Pathogenesis of Neurodegeneration in Alzheimer's Disease. **Biomedicines**, 11, n. 5, May 8 2023.

RAWAT, P.; SEHAR, U.; BISHT, J.; SELMAN, A. *et al.* Phosphorylated Tau in Alzheimer's Disease and Other Tauopathies. **Int J Mol Sci**, 23, n. 21, Oct 25 2022.

RAZA, A.; JOHNSON, H.; SINGH, A.; SHARMA, A. K. Impact of selenium nanoparticles in the regulation of inflammation. **Arch Biochem Biophys**, 732, p. 109466, Dec 15 2022.

REISS, A. B.; GULKAROV, S.; JACOB, B.; SRIVASTAVA, A. *et al.* Mitochondria in Alzheimer's Disease Pathogenesis. **Life (Basel)**, 14, n. 2, Jan 30 2024.

ROBBINS, M.; CLAYTON, E.; KAMINSKI SCHIERLE, G. S. Synaptic tau: A pathological or physiological phenomenon? **Acta Neuropathol Commun**, 9, n. 1, p. 149, Sep 9 2021.

SALEEM, U.; SABIR, S.; NIAZI, S. G.; NAEEM, M. *et al.* Role of Oxidative Stress and Antioxidant Defense Biomarkers in Neurodegenerative Diseases. **Crit Rev Eukaryot Gene Expr**, 30, n. 4, p. 311-322, 2020.

SAMPAIO, T. B.; BILHERI, F. N.; ZENI, G. R.; NOGUEIRA, C. W. Dopaminergic system contribution to the antidepressant-like effect of 3-phenyl-4-(phenylseleno) isoquinoline in mice. **Behav Brain Res**, 386, p. 112602, May 27 2020.

SEHAR, U.; RAWAT, P.; REDDY, A. P.; KOPEL, J. *et al.* Amyloid Beta in Aging and Alzheimer's Disease. **Int J Mol Sci**, 23, n. 21, Oct 26 2022.

SHARMA, C.; KIM, S. R. Linking Oxidative Stress and Proteinopathy in Alzheimer's Disease. **Antioxidants (Basel)**, 10, n. 8, Jul 30 2021.

SHARMA, K. Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review). **Mol Med Rep**, 20, n. 2, p. 1479-1487, Aug 2019.

SHARMA, M.; CHAN, H. K.; LAVILLA, C. A., Jr.; UY, M. M. *et al.* Induction of a single dose of streptozotocin (50 mg) in rat model causes insulin resistance with type 2 diabetes mellitus. **Fundam Clin Pharmacol**, 37, n. 4, p. 769-778, Aug 2023.

SHAW, P.; CHATTOPADHYAY, A. Nrf2-ARE signaling in cellular protection: Mechanism of action and the regulatory mechanisms. **J Cell Physiol**, 235, n. 4, p. 3119-3130, Apr 2020.

SI, Z. Z.; ZOU, C. J.; MEI, X.; LI, X. F. *et al.* Targeting neuroinflammation in Alzheimer's disease: from mechanisms to clinical applications. **Neural Regen Res**, 18, n. 4, p. 708-715, Apr 2023.

SIDIROPOULOU, G. A.; METAXAS, A.; KOURTI, M. Natural antioxidants that act against Alzheimer's disease through modulation of the NRF2 pathway: a focus on their molecular mechanisms of action. **Front Endocrinol (Lausanne)**, 14, p. 1217730, 2023.

SILVA, S. S. L.; TURECK, L. V.; SOUZA, L. C.; MELLO-HORTEGA, J. V. *et al.* Animal model of Alzheimer's disease induced by streptozotocin: New insights about cholinergic pathway. **Brain Res**, 1799, p. 148175, Jan 15 2023.

SIMPSON, D. S. A.; OLIVER, P. L. ROS Generation in Microglia: Understanding Oxidative Stress and Inflammation in Neurodegenerative Disease. **Antioxidants (Basel)**, 9, n. 8, Aug 13 2020.

SINGH, B. G.; KUNWAR, A. Redox reactions of organoselenium compounds: Implication in their biological activity. **Free Radic Res**, 55, n. 6, p. 641-654, Jun 2021.

SINGH, D. Astrocytic and microglial cells as the modulators of neuroinflammation in Alzheimer's disease. **J Neuroinflammation**, 19, n. 1, p. 206, Aug 17 2022.

SINHA, S.; WAL, P.; GOUDANAVAR, P.; DIVYA, S. *et al.* Research on Alzheimer's Disease (AD) Involving the Use of In vivo and In vitro Models and Mechanisms. **Cent Nerv Syst Agents Med Chem**, May 27 2024.

SIVARAMAN, B.; RAJI, V.; VELMURUGAN, B. A.; NATARAJAN, R. Acetylcholinesterase Enzyme Inhibitor Molecules with Therapeutic Potential for Alzheimer's Disease. **CNS Neurol Disord Drug Targets**, 21, n. 5, p. 427-449, 2022.

SKARIA, A. P. The economic and societal burden of Alzheimer disease: managed care considerations. **Am J Manag Care**, 28, n. 10 Suppl, p. S188-S196, Sep 2022.

ST-ONGE, F.; CHAPLEAU, M.; BREITNER, J. C.; VILLENEUVE, S. *et al.* Tau accumulation and its spatial progression across the Alzheimer's disease spectrum. **medRxiv**, Jun 5 2023.

STORCK, S. E.; HARTZ, A. M. S.; PIETRZIK, C. U. The Blood-Brain Barrier in Alzheimer's Disease. **Handb Exp Pharmacol**, 273, p. 247-266, 2022.

TAHAMI MONFARED, A. A.; BYRNES, M. J.; WHITE, L. A.; ZHANG, Q. Alzheimer's Disease: Epidemiology and Clinical Progression. **Neurol Ther**, 11, n. 2, p. 553-569, Jun 2022.

TAKATA, F.; NAKAGAWA, S.; MATSUMOTO, J.; DOHGU, S. Blood-Brain Barrier Dysfunction Amplifies the Development of Neuroinflammation: Understanding of Cellular Events in Brain Microvascular Endothelial Cells for Prevention and Treatment of BBB Dysfunction. **Front Cell Neurosci**, 15, p. 661838, 2021.

TAN, Y. Y.; JENNER, P.; CHEN, S. D. Monoamine Oxidase-B Inhibitors for the Treatment of Parkinson's Disease: Past, Present, and Future. **J Parkinsons Dis**, 12, n. 2, p. 477-493, 2022.

TELEANU, D. M.; NICULESCU, A. G.; LUNGU, II; RADU, C. I. *et al.* An Overview of Oxidative Stress, Neuroinflammation, and Neurodegenerative Diseases. **Int J Mol Sci**, 23, n. 11, May 25 2022.

THAL, D. R.; TOME, S. O. The central role of tau in Alzheimer's disease: From neurofibrillary tangle maturation to the induction of cell death. **Brain Res Bull**, 190, p. 204-217, Nov 2022.

THIRUVENGADAM, M.; VENKIDASAMY, B.; SUBRAMANIAN, U.; SAMYNATHAN, R. *et al.* Bioactive Compounds in Oxidative Stress-Mediated Diseases: Targeting the NRF2/ARE Signaling Pathway and Epigenetic Regulation. **Antioxidants (Basel)**, 10, n. 12, Nov 23 2021.

TIWARI, V.; MISHRA, A.; SINGH, S.; MISHRA, S. K. *et al.* Protriptyline improves spatial memory and reduces oxidative damage by regulating NFkappaB-BDNF/CREB signaling axis in streptozotocin-induced rat model of Alzheimer's disease. **Brain Res**, 1754, p. 147261, Mar 1 2021.

TORAL-RIOS, D.; PICHARDO-ROJAS, P. S.; ALONSO-VANEGAS, M.; CAMPOS-PENA, V. GSK3beta and Tau Protein in Alzheimer's Disease and Epilepsy. **Front Cell Neurosci**, 14, p. 19, 2020.

TORRES, A. K.; RIVERA, B. I.; POLANCO, C. M.; JARA, C. *et al.* Phosphorylated tau as a toxic agent in synaptic mitochondria: implications in aging and Alzheimer's disease. **Neural Regen Res**, 17, n. 8, p. 1645-1651, Aug 2022.

TORRES, D. J.; ALFULAIJ, N.; BERRY, M. J. Stress and the Brain: An Emerging Role for Selenium. **Front Neurosci**, 15, p. 666601, 2021.

TSUBOI, D.; NAGAI, T.; YOSHIMOTO, J.; KAIBUCHI, K. Neuromodulator regulation and emotions: insights from the crosstalk of cell signaling. **Front Mol Neurosci**, 17, p. 1376762, 2024.

TUROVSKY, E. A.; MAL'TSEVA, V. N.; SARIMOV, R. M.; SIMAKIN, A. V. *et al.* Features of the cytoprotective effect of selenium nanoparticles on primary cortical neurons and astrocytes during oxygen-glucose deprivation and reoxygenation. **Sci Rep**, 12, n. 1, p. 1710, Feb 2 2022.

VECCHIO, I.; SORRENTINO, L.; PAOLETTI, A.; MARRA, R. *et al.* The State of The Art on Acetylcholinesterase Inhibitors in the Treatment of Alzheimer's Disease. **J Cent Nerv Syst Dis**, 13, p. 11795735211029113, 2021.

VERMA, M.; LIZAMA, B. N.; CHU, C. T. Excitotoxicity, calcium and mitochondria: a triad in synaptic neurodegeneration. **Transl Neurodegener**, 11, n. 1, p. 3, Jan 25 2022.

WANG, C.; FAN, L.; KHAWAJA, R. R.; LIU, B. *et al.* Microglial NF-kappaB drives tau spreading and toxicity in a mouse model of tauopathy. **Nat Commun**, 13, n. 1, p. 1969, Apr 12 2022.

WANG, L.; YIN, Y. L.; LIU, X. Z.; SHEN, P. *et al.* Current understanding of metal ions in the pathogenesis of Alzheimer's disease. **Transl Neurodegener**, 9, p. 10, 2020.

WEBERS, A.; HENEKA, M. T.; GLEESON, P. A. The role of innate immune responses and neuroinflammation in amyloid accumulation and progression of Alzheimer's disease. **Immunol Cell Biol**, 98, n. 1, p. 28-41, Jan 2020.

WEGMANN, S.; BIERNAT, J.; MANDELKOW, E. A current view on Tau protein phosphorylation in Alzheimer's disease. **Curr Opin Neurobiol**, 69, p. 131-138, Aug 2021.

WILLIAMS, T.; BORCHELT, D. R.; CHAKRABARTY, P. Therapeutic approaches targeting Apolipoprotein E function in Alzheimer's disease. **Mol Neurodegener**, 15, n. 1, p. 8, Jan 31 2020.

WU, Y. H.; HSIEH, H. L. Effects of Redox Homeostasis and Mitochondrial Damage on Alzheimer's Disease. **Antioxidants (Basel)**, 12, n. 10, Sep 30 2023.

XIANG, X.; WANG, X.; WU, Y.; HU, J. *et al.* Activation of GPR55 attenuates cognitive impairment, oxidative stress, neuroinflammation, and synaptic dysfunction in a streptozotocin-induced Alzheimer's mouse model. **Pharmacol Biochem Behav**, 214, p. 173340, Mar 2022.

XU, Y.; ZHAO, M.; HAN, Y.; ZHANG, H. GABAergic Inhibitory Interneuron Deficits in Alzheimer's Disease: Implications for Treatment. **Front Neurosci**, 14, p. 660, 2020.

YANG, Z.; ZOU, Y.; WANG, L. Neurotransmitters in Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease. **Int J Mol Sci**, 24, n. 4, Feb 14 2023.

YE, R.; HUANG, J.; WANG, Z.; CHEN, Y. *et al.* The Role and Mechanism of Essential Selenoproteins for Homeostasis. **Antioxidants (Basel)**, 11, n. 5, May 15 2022.

YOKOYAMA, M.; KOBAYASHI, H.; TATSUMI, L.; TOMITA, T. Mouse Models of Alzheimer's Disease. **Front Mol Neurosci**, 15, p. 912995, 2022.

YULIANI, T.; LOBENTANZER, S.; KLEIN, J. Central cholinergic function and metabolic changes in streptozotocin-induced rat brain injury. **J Neurochem**, 158, n. 6, p. 1307-1319, Sep 2021.

ZBOROWSKI, V. A.; HECK, S. O.; MARQUES, L. S.; BASTOS, N. K. *et al.* Memory impairment and depressive-like phenotype are accompanied by downregulation of hippocampal insulin and BDNF signaling pathways in prediabetic mice. **Physiol Behav**, 237, p. 113346, Aug 1 2021.

ZHANG, W.; XIONG, B. R.; ZHANG, L. Q.; HUANG, X. *et al.* The Role of the GABAergic System in Diseases of the Central Nervous System. **Neuroscience**, 470, p. 88-99, Aug 21 2021.

ZHANG, Y. L.; WANG, J.; ZHANG, Z. N.; SU, Q. *et al.* The relationship between amyloid-beta and brain capillary endothelial cells in Alzheimer's disease. **Neural Regen Res**, 17, n. 11, p. 2355-2363, Nov 2022.

ZHANG, Z. H.; CHEN, C.; JIA, S. Z.; CAO, X. C. *et al.* Selenium Restores Synaptic Deficits by Modulating NMDA Receptors and Selenoprotein K in an Alzheimer's Disease Model. **Antioxid Redox Signal**, 35, n. 11, p. 863-884, Oct 10 2021.

ZHANG, Z. H.; PENG, J. Y.; CHEN, Y. B.; WANG, C. *et al.* Different Effects and Mechanisms of Selenium Compounds in Improving Pathology in Alzheimer's Disease. **Antioxidants (Basel)**, 12, n. 3, Mar 12 2023.

ZHANG, Z. H.; SONG, G. L. Roles of Selenoproteins in Brain Function and the Potential Mechanism of Selenium in Alzheimer's Disease. **Front Neurosci**, 15, p. 646518, 2021.

ZHOU, Z. D.; YI, L. X.; WANG, D. Q.; LIM, T. M. *et al.* Role of dopamine in the pathophysiology of Parkinson's disease. **Transl Neurodegener**, 12, n. 1, p. 44, Sep 18 2023.

## **8. APÊNDICE**

### **Material complementar**

O material complementar ao artigo apresentado nesta dissertação está redigido em inglês e organizado nas seções: 1. Materiais e Métodos, 2. Resultados e Discussão, e 3. Referências.

#### **1. Materials and methods**

##### **1.1 Prediction of ADMET Properties**

The pharmacokinetic profile of compound TFSeB, including its absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity (ADMET), was predicted using the pkCSM ADMET algorithm developed by Accelrys Software, Inc. (San Diego, CA, USA) (PIRES; BLUNDELL; ASCHER, 2015). Absorption was analyzed based on factors such as membrane permeability (using the Caco-2 colon cancer cell model), intestinal absorption, skin penetration, and interactions with P-glycoprotein as a substrate or inhibitor. Distribution parameters included blood-brain barrier penetration, central nervous system (CNS) permeability, and volume of distribution (VDss). Metabolism was assessed using CYP models to determine whether the compound acts as a substrate or inhibitor of specific enzymes. Excretion was estimated using a total clearance model, which also considered whether the compounds function as renal substrates for the organic cation transporter 2 (OCT2). Toxicity predictions included assessments of mutagenic potential (AMES test), inhibition of the hERG (human ether-a-go-go gene) potassium channel, hepatotoxicity, and skin sensitization.

##### **1.2 Acute oral toxicity study (OECD)**

The acute oral toxicity test was performed following OECD guideline 423. Female Swiss mice were divided into groups of six animals: the control group received the vehicle compound (canola oil) and the treatment groups received compound TFSeB at doses of 50 mg/kg and 300 mg/kg. A single oral dose was administered individually to each animal. The animals were monitored for 4 hours after administration and then every 48 hours for 14 days to observe possible

behavioral and physiological changes, such as changes in motor activity, tremors, altered guarding patterns, posture, and signs of lethargy or convulsions.

The choice of doses followed the OECD guideline 423, which recommends an initial dose of 300 mg/kg in cases where there is no prior information about the substance, as a measure to reduce the number of animals used. However, to ensure animal welfare and allow a gradual assessment of potential toxicity, an initial dose of 50 mg/kg was tested. The higher dose of 300 mg/kg was only administered after confirming the absence of lethality at the lower dose. This stepwise approach aligns with the guideline's recommendation to delay administration of higher doses until the survival of animals at the previous dose level is assured.

During the observation period, body weight gain and food and water consumption were recorded. After 14 days of observation, the animals were evaluated in the open field test (OFT) to measure their locomotion and exploration of the environment. Subsequently, they were sedated for blood collection and subsequent analysis of plasma levels of the enzymes AST and ALT, in addition to the concentration of urea. The analyses were conducted using colorimetric enzymatic methods, according to the instructions of the commercial kits from Labtest Diagnóstica.

## **2. Results and Discussion**

### **2.1 Prediction of ADMET Properties**

The results of the analysis of absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity (ADMET) of the compound TFSeB are shown in Table 1.

The predictive analysis of the ADMET properties of compound TFSeB revealed a favorable pharmacokinetic profile, indicating its suitability as a potential candidate for further studies. The compound exhibited high permeability in the Caco-2 cell monolayer, with a value of 1.794 log Papp ( $10^{-6}$  cm/s), exceeding the threshold of 0.90, and demonstrated an estimated intestinal absorption of 94.55%, suggesting excellent oral bioavailability. Additionally, its interaction with P-glycoprotein (P-gp) was minimal, as it was not identified as a substrate or an inhibitor of this efflux protein, favoring its absorption and systemic distribution without the risk of premature elimination through the intestinal tract.



**Table 1.** Predicted pharmacokinetic and toxicity profiles (ADMET) of the compound TFSeB.

Property	Model name	Predicted value	Unit
Absorption	Caco2 permeability	1.794	log Papp in 10 <sup>-6</sup> cm/s
Absorption	Intestinal absorption (human)	94.547	% Absorbed
Absorption	P-glycoprotein substrate	No	Yes/No
Absorption	P-glycoprotein I inhibitor	No	Yes/No
Absorption	P-glycoprotein II inhibitor	No	Yes/No
Distribution	VDss (human)	0.429	log L/kg
Distribution	BBB permeability	0.748	log BB
Distribution	CNS permeability	-1.287	log PS
Metabolism	CYP2D6 substrate	No	Yes/No
Metabolism	CYP2C9 inhibitor	Yes	Yes/No
Metabolism	CYP2D6 inhibitor	No	Yes/No
Metabolism	CYP3A4 inhibitor	No	Yes/No
Excretion	Total Clearance	1.551	log ml/min/kg
Excretion	Renal OCT2 substrate	Yes	Yes/No
Toxicity	AMES toxicity	Yes	Yes/No
Toxicity	Max. tolerated dose (human)	0.401	log mg/kg/day
Toxicity	hERG I inhibitor	No	Yes/No
Toxicity	hERG II inhibitor	No	Yes/No
Toxicity	Oral Rat Acute Toxicity (LD <sub>50</sub> )	2.288	mol/kg
Toxicity	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	1.191	log mg/kg bw/day
Toxicity	Hepatotoxicity	No	Yes/No
Toxicity	Skin Sensitization	No	Yes/No

The distribution profile of compound TFSeB was also favorable, with a volume of distribution (VD) of 0.429 log L/kg, falling within the optimal range to prevent both rapid elimination and excessive tissue accumulation. Regarding its ability to cross the blood-brain barrier (BBB), the predicted brain permeability was 0.748 log BB, well above the threshold of 0.3, while the predicted central nervous system (CNS) permeability was -1.287, surpassing the cutoff value of -2. These findings reinforce the compound's potential to reach effective concentrations in the brain, a crucial factor for its neuroprotective effects in CNS-related disorders.

Metabolic predictions indicated that TFSeB is not a substrate of CYP2D6, reducing the influence of interindividual variability on its biotransformation. However, it exhibited inhibition of CYP2C9, suggesting a possible risk of drug-drug interactions with medications metabolized by this pathway. On the other hand, the compound did not inhibit CYP3A4 or CYP2D6, indicating a lower impact on other critical metabolic routes. Predicted excretion data revealed a total clearance of 1.551 log mL/min/kg, suggesting a moderate elimination rate.

Toxicological evaluation suggested a safe profile for the compound. It was not identified as hepatotoxic and showed no potential for skin sensitization. Moreover, it did not inhibit hERG I and II cardiac channels, minimizing the risk of cardiotoxicity. Acute toxicity was considered low, with a predicted LD<sub>50</sub> of 2.288 mol/kg, while the estimated LOAEL was 1.191 log mg/kg bw/day, highlighting the need for long-term monitoring in chronic studies to assess potential adverse effects.

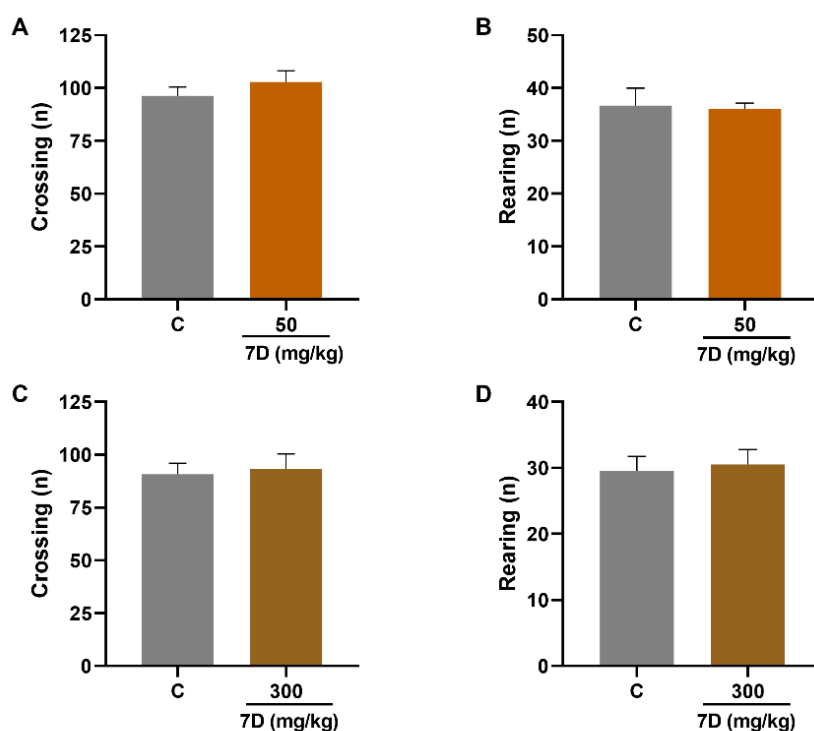
Pharmacokinetic predictions indicated that TFSeB has high intestinal absorption and ideal blood-brain barrier permeability. In addition, it presents a favorable safety profile, with no hepatotoxicity and cardiotoxicity detected, showing a safe toxicity profile, with potential as a therapeutic candidate for AD.

## **2.2 Compound TFSeB has low potential for acute oral toxicity**

The acute oral toxicity test followed the OECD 423 guidelines, which recommend the use of female Swiss mice due to their increased sensitivity to toxic substances. The acute oral toxicity assessment of compound TFSeB was conducted at doses of 50 and 300 mg/kg, and the animals were monitored for 14 days to assess potential toxic effects. Several parameters were analyzed, including locomotor

activity in the open field test (crosses and rearings), food and water intake, body weight variation, and biochemical markers of liver and kidney function, specifically alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and urea levels measured after euthanasia.

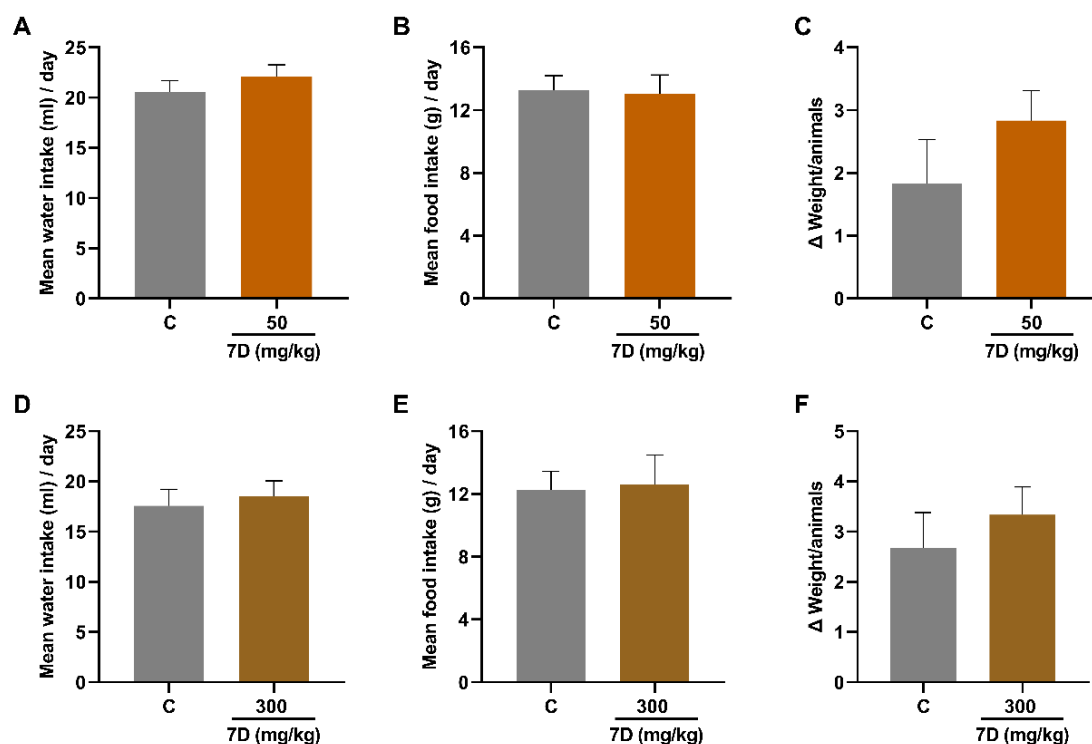
During the 14-day observation period, no overt signs of toxicity, distress, or abnormal behavior were observed. As seen in Figure 1, assessment of exploratory and locomotor activity in the open field test revealed no significant differences in the number of crossings or rearings between the treated and control groups at either dose tested, suggesting that compound TFS<sub>2</sub>B did not impair spontaneous locomotion or exploratory behavior.



**Figure 1.** Toxicity parameters in the open field test in female mice exposed to single doses of 50 and 300 mg/kg, (i.g.). Statistical analyses were performed using an unpaired t-test. Values are expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean (S.E.M.) of six animals per group.

Regarding food and water intake, consumption remained stable during the experimental period, and no significant variation in body weight was recorded,

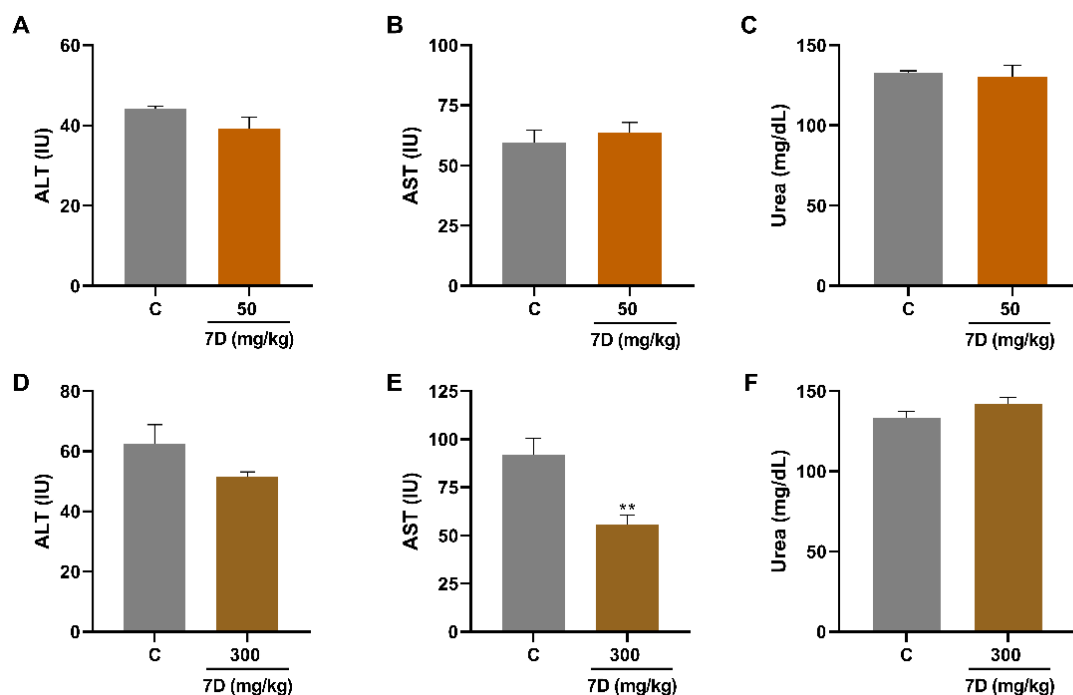
indicating that the treatment did not interfere with the nutritional status or general well-being of the animals (Figure 2).



**Figure 2.** Toxicity parameters in female mice exposed to single doses of 50 and 300 mg/kg, (i.g.). Water and food consumption refer to data obtained from 2 cages per group with three animals per cage. Statistical analyses were performed using an unpaired t-test. Values are expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean (S.E.M.) of six animals per group.

Figure 3 shows the results of ALT, AST and Urea. As observed, the analysis showed no significant changes in the animals that received the 50mg/kg dose, suggesting the absence of hepatic or renal impairment. However, AST levels were decreased in the group treated with TFSeB at the 300mg/kg dose compared to controls. It is important to highlight that the tested dose of 300 mg/kg is relatively high, but it did not cause any mortality or notable physiological changes beyond this isolated increase in AST (Fig 3). Since ALT, a more specific marker of hepatocellular damage, remained unchanged at the 300mg/kg dose, and no other parameter indicated toxicity, this variation in AST appears to be an isolated and non-critical event. AST is also present in other tissues, and its increase may reflect a transient

physiological response rather than direct toxicity (KOBAYASHI; SUZUKI; SUGAI, 2020).



**Figure 3.** Analysis of ALT, AST and Urea analyzed in plasma of female mice exposed to single doses of 50 and 300 mg/kg, (i.g.) after 14 days of treatment. Statistical analyses were performed using an unpaired t-test. Values are expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean (S.E.M.) of six animals per group. (\*\*)  $p < 0.01$ .

### 8.1 References

KOBAYASHI, A.; SUZUKI, Y.; SUGAI, S. Specificity of transaminase activities in the prediction of drug-induced hepatotoxicity. **J Toxicol Sci**, 45, n. 9, p. 515-537, 2020.

PIRES, D. E.; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. **J Med Chem**, 58, n. 9, p. 4066-4072, May 14 2015.

## 9. ANEXO

### Carta de aprovação no Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA)

19/11/2023, 15:29

SEI/UFPEL - 2430854 - Parecer



**PARECER Nº** 201/2023/CEUA/REITORIA  
**PROCESSO Nº** 23110.032391/2023-84

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada **“Efeitos do composto 2-(((4-fluorofenil(selanil)metil)-2,3-diidrobenzofurano sobre os prejuízos na memória, comportamentos do tipo depressivo e ansioso e alterações bioquímicas induzidos por estreptozotocina em camundongos”**, registrada com o nº **23110.032391/2023-84**, sob a responsabilidade de **Cristiani Folharini Bortolatto** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pelotas.

Finalidade	( x ) Pesquisa ( ) Ensino
Vigência da autorização	Início: 17/11/2024 Término: 01/11/2027
Espécie/linhagem/raça	<i>Mus musculus</i> / Swiss
Nº de animais	<b>182</b>
Idade	60 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central da UFPEL, Campus Capão do Leão.

Código para cadastro nº **CEUA 032391/2023-84**