

EFEITO INIBITÓRIO DE SELENOBENZOATOS NA ATIVIDADE DA ENZIMA MONOAMINO OXIDASE CEREBRAL DE CAMUNDONGOS

NARRYMAN PINTO ZUGE¹; MARCIA JUCIELE DA ROCHA²; MARCELO HEINEMANN PRESA²; NATÁLIA EMANUELE BIOLOSOR KUNTZ³; BENHUR GODOI³; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING²

^{1,2} Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM), Universidade Federal de Pelotas – narrymanzuge@gmail.com; cabruning@yahoo.com.br

³ Núcleo de Síntese, Aplicação e Análise de Compostos Orgânicos e Inorgânicos (NUSAACOI) – Universidade Federal da Fronteira Sul

1. INTRODUÇÃO

A monoamina oxidase (MAO) é uma enzima mitocondrial responsável por degradar monoaminas como serotonina, dopamina e noradrenalina. Essa enzima se apresenta em duas isoformas, sendo a MAO-A mais relacionada com degradação de serotonina e a MAO-B com a metabolização da dopamina (JONES & RAGHANTI, 2021). Em um indivíduo saudável, esses neurotransmissores são liberados na fenda sináptica em resposta a um potencial de ação para exercer seus respectivos efeitos. A serotonina é responsável pelo processamento de estresse emocional, regulação de funções límbicas e contribui para motivação e para cognição (SHAO & ZHU, 2020), enquanto isso a dopamina tem relação com a regulação de emoções negativas, prazer, funções motoras, de aprendizagem e de memória (LATIF *et al*, 2021).

Contudo, a depleção desses neurotransmissores pode estar associada a fisiopatologia de algumas doenças neurodegenerativas e de transtornos de humor, como a doença de Parkinson e a depressão, por exemplo. Por esse motivo uma classe de fármacos utilizada nos pacientes com essas condições são os inibidores da MAO (iMAO), que inibem a enzima monoamina oxidase como uma forma de aumentar a disponibilidade de neurotransmissores (FINBERG & RABEY, 2016). No caso da doença de Parkinson, que está mais relacionada com a morte de neurônios dopaminérgicos, os iMAO são seletivos para MAO-B, visando aumentar os níveis de dopamina, enquanto para depressão, que é mais relacionada com a serotonina e noradrenalina, uma seletividade para inibição da MAO-A é interessante (SHAO & ZHU, 2020; LATIF *et al*, 2021).

Compostos orgânicos contendo selênio já demonstraram efeito inibitório da enzima monoamina oxidase (SAMPAIO *et al*, 2016; VELASQUEZ *et al*, 2017). Outros estudos apresentam uma relação entre um maior potencial inibitório para essa enzima e a presença de um grupamento éster (CHAVARRIA *et al*, 2019). Novos compostos orgânicos contendo selênio e a função éster foram recentemente sintetizados, já apresentando efeito antitumoral *in vitro* (GODOI *et al*, 2021).

Portanto, esse trabalho tem como objetivo investigar o potencial do benzoato de 3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ila e seus derivados substituídos de inibirem a enzima monoamina oxidase *in vitro* em fração concentrada de mitocôndrias de homogenato de cérebro de camundongos.

2. METODOLOGIA

A molécula benzoato de 3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ila (SeB) e os derivados substituídos, benzoato de 3-[(4-fluorfenil)selenil]prop-2-in-1-ila (FSeB) e benzoato de 3-[(4-metoxifenil)selenil]prop-2-in-1-ila (OMeSeB), foram sintetizadas no Núcleo

de Síntese, Aplicação e Análise de Compostos Orgânicos e Inorgânicos, da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS). Elas foram dissolvidas em dimetilsulfóxido (DMSO) e utilizadas em concentrações de 0,1 a 500 μM para realização da análise da inibição da enzima MAO, segundo protocolo descrito por KRAJL (1965). Os animais foram obtidos no Biotério Central da UFPel e manejados de acordo com as normas do Comitê de Ética no Uso de Animais da mesma universidade (CEUA 010439/2023-01).

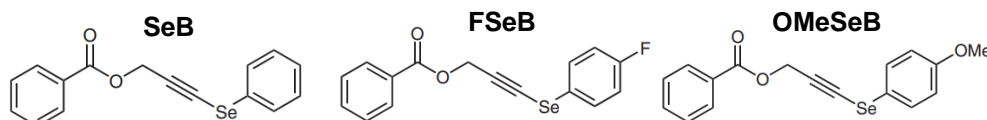


Figura 1 – Estruturas químicas do benzoato de 3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ila (SeB) e derivados substituídos (FSeB e OMeSeB)

Para realizar o protocolo *in vitro*, o tecido de cérebros de camundongos foi previamente preparado conforme protocolo descrito por SOTO-STERU *et al.* (2001) a fim de se obter uma fração concentrada de mitocôndrias. Após, em tubos eppendorf foram pipetados 100 μL do tecido e 20 μL do inibidor da isoforma contrária a que se está sendo investigada, ou seja, pargilina (inibidor da MAO-B) na investigação da MAO-A e clorgilina (inibidor da MAO-A) na da MAO-B. Em seguida, os tubos foram incubados a 37 $^{\circ}\text{C}$ durante 5 minutos. Depois, foram pipetados 10 μL do composto em diferentes concentrações (anteriormente preparadas por diluição seriada em DMSO) ou de DMSO no grupo veículo e seguiu-se com uma incubação por 10 minutos na mesma temperatura. Ainda, foram pipetados 20 μL do substrato quinuramina, em concentrações adequadas para cada enzima, de 2,7mM para MAO-A e 1,8mM para MAO-B, e logo foi realizada uma última incubação por 30 minutos em 37 $^{\circ}\text{C}$. Por último, a reação foi finalizada com 300 μL de TCA 10% e os tubos foram centrifugados a 13000rpm por 5 minutos. A seguir, 800 μL de sobrenadante foram retirados e colocados em tubos de ensaio. Então, foi adicionado 1mL de NaOH 1M e a fluorescência da amostra foi lida com cubeta de vidro no fluorímetro.

A análise estatística foi realizada por ANOVA unidirecional seguido pelo teste post hoc de Newman-Keuls. Os resultados foram apresentados como nmol de 4-OH quinolina/mg de proteína/minuto e foram considerados significativos quando possuíam valores de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O produto da reação entre a enzima MAO e o substrato quinuramina é a quinolina, logo quanto menor a concentração desse produto maior a inibição da enzima pelo composto. Os compostos analisados foram efetivos na inibição da enzima monoamina oxidase em comparação ao grupo veículo (Fig. 2). O SeB inibiu a MAO-A e MAO-B de forma significativa a partir de suas concentrações de 50 e 1 μM , respectivamente. Enquanto isso, o FSeB apresentou o mesmo efeito a partir de 0,5 e 0,1 μM , respectivamente. E o OMeSeB a partir da concentração de 5 μM para as duas isoformas.

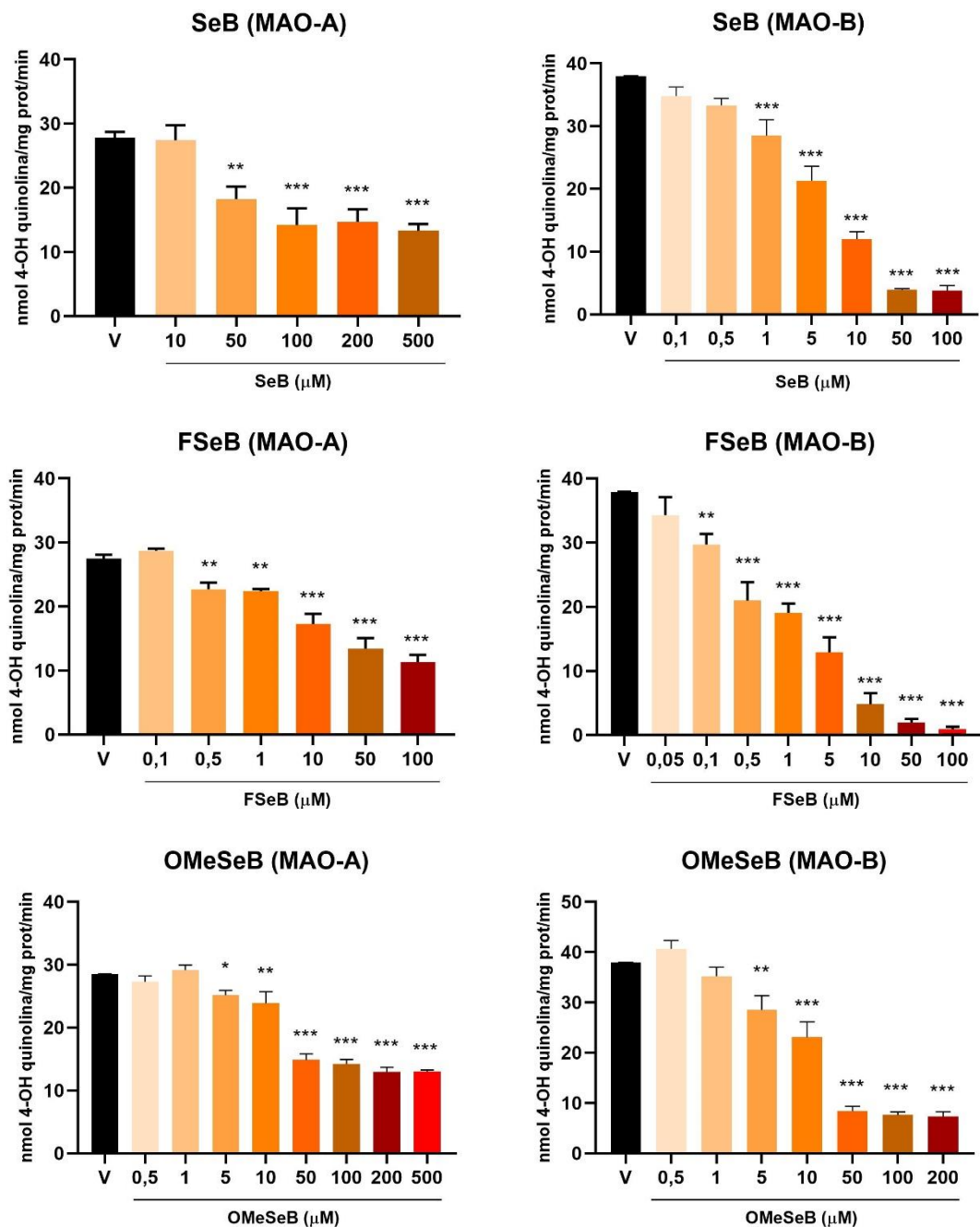


Figura 2 - Efeito dos compostos SeB, FSeB e OMeSeB sobre a inibição da enzima monoamina oxidase em fração concentrada de mitocôndrias de homogenato de cérebro de camundongos. Os dados representam a média ± EPM de 3 experimentos independentes, e os resultados estão expressos como nmol 4-OH quinolína/mg de proteína/minuto. (*) $p < 0,05$, (**) $p < 0,01$ e (***) $p < 0,001$ quando comparados ao grupo veículo (V).

A partir dessas curvas, foram feitos os cálculos para IC_{50} , ou seja, a concentração necessária para inibir a atividade da enzima em 50%. A Tabela 1 apresenta os valores de IC_{50} para cada uma das moléculas investigadas. O FSeB foi o mais potente, por apresentar maior inibição em menor concentração para ambas isoformas, enquanto o SeB demonstrou-se mais seletivo para MAO-B, uma vez que sua IC_{50} para essa isoforma é 65,6 vezes menor que a IC_{50} da MAO-A.

Tabela 1 – Valores de IC₅₀ para a inibição das isoformas MAO-A e MAO-B por SeB e derivados substituídos.

Molécula	IC ₅₀ MAO-A (µM)	IC ₅₀ MAO-B (µM)
SeB	258,50	3,94
FSeB	41,19	0,94
OMeSeB	150,50	17,33

4. CONCLUSÕES

Os selenobenzoatos inibiram de forma significativa as duas isoformas de enzima monoamina oxidase. Futuras investigações para esclarecer o perfil de inibição são necessárias, a fim de avaliar a reversibilidade e competitividade da interação, além de fazer uma análise *in vivo* do composto que apresentou melhor inibição, o FSeB, em protocolos relacionados com doenças cujos tratamentos de interesse envolvem a inibição da MAO, como a avaliação do efeito do tipo antidepressivo e do tipo antiparkinsoniano.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHAVARRIA, D. FERNANDES C, BORGES F., *et al.* Design of novel monoamine oxidase-B inhibitors based on piperine scaffold: Structure-activity-toxicity, drug-likeness and efflux transport studies. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 185, p. 111770, 2020.
- FINBERG, J. P.; RABEY, J. M. Inhibitors of MAO-A and MAO-B in psychiatry and neurology. **Frontiers in Pharmacology**, v. 7, p. 340, 2016.
- GODOI, B.; GRITZENCO, F.; KAZMIERCZAK, J. C.; ZAMIN, L. L. *et al.* Base-Free Synthesis and Synthetic Applications of Novel 3-(Organochalcogenyl)prop-2-yn-1-yl Esters: Promising Anticancer Agents. **Synthesis**, v. 53, n. 15, p. 2676-88, 2021.
- JONES, D. N.; RAGHANTI, M. A. The role of monoamine oxidase enzymes in the pathophysiology of neurological disorders. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 114, p. 101957, 2021.
- KRAJL, M.C. A rapid microfluorimetric determination of monoamine oxidase. **Biochem Pharmacol.** v. 14, p. 1683–1685, 1965.
- LATIF, S.; JAHANGEER, M.; MAKNOON RAZIA, D.; AZAM ANSARI, M., *et al.* Dopamine in Parkinson's disease. **Clinica Chimica Acta**, v. 522, p. 114-126, 2021.
- SAMPAIO, T. B., DA ROCHA JT, PRIGOL M, NOGUEIRA CW., *et al.* 4-Organoseleno-Isoquinolines Selectively and Reversibly Inhibit the Cerebral Monoamine Oxidase B Activity. **Journal of Molecular Neuroscience**, v. 59, n. 1, p. 135-145, 2016.
- SHAO, X.; ZHU, G. Associations Among Monoamine Neurotransmitter Pathways, Personality Traits, and Major Depressive Disorder. **Frontiers in Psychiatry**, v. 11, p. 381, 13 maio 2020.
- SOTO-OTERO, R.; MÉNDEZ-ALVAREZ, E.; HERMIDA-AMEIJEIRAS, A.; SÁNCHEZ-SELLERO, I.; Cruz-Landeira, I.; Lamas, M.L. **Life Sci.**, v. 69, n. 8, p. 879, 2001.
- VELASQUEZ, D. QUINES, C., PISTÓIA, R., ZENI, G., & NOGUEIRA, C. W. Selective inhibition of MAO-A activity results in an antidepressant-like action of 2-benzoyl 4-iodoselenophene in mice. **Physiology & Behavior**, v. 170, p. 100-105, 2017.