

ESTUDO COMPLEMENTAR DA AÇÃO DO TIPO ANSIOLÍTICA DO 3-((4- METOXIFENIL)SELANIL)-2-FENILBENZOFURANO (SeBZF3)

LARISSA SANDER MAGALHÃES¹; DIANER NORNBERTG STRELOW²; LETÍCIA DEVANTIER KRÜGER³; MARIANA PARRON PAIM⁴; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING⁵; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO⁶

¹*Universidade Federal de Pelotas – larissasama@hotmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – dianer_strelow@hotmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – leticiadevantier@hotmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – maa_paim@hotmail.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas – cabruning@yahoo.com.br*

⁶*Universidade Federal de Pelotas – cbortolatto@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

A ansiedade é considerada um estado de angústia e inquietação na iminência de um perigo incerto, esse comportamento é inerente ao ser humano, mas quando a ansiedade se generaliza, pode ser debilitante e considerada patológica (HUR et al., 2020). O tratamento do transtorno de ansiedade é realizado principalmente com o uso de benzodiazepínicos e, mais recentemente, com o uso de antidepressivos (FERNANDES BRAGA et al., 2011). No entanto, há preocupação com o uso de ansiolíticos, principalmente devido ao aumento da incidência de tolerância, dependência e abuso do uso dessas drogas (UZUN et al., 2010). Os compostos orgânicos contendo selênio em sua estrutura são interessantes do ponto de vista científico, por possuírem ampla aplicabilidade em síntese orgânica, além de apresentarem uma série de atividades neuromoduladoras (DA SILVA TEIXEIRA RECH et al., 2021; GALL et al., 2020).

Estudos envolvendo as ações dos compostos de selênio do tipo antidepressivo e ansiolítico já foram realizados, tendo demonstrado efeitos em diferentes modelos experimentais (BAMPI et al., 2019). Por outro lado, o núcleo benzofurano está presente em uma grande variedade de produtos naturais e compostos com atividade farmacológica (CHO et al., 2015), e suas atividades biológicas foram investigadas por nosso grupo de pesquisa. Portanto, o presente estudo investigou o potencial ansiolítico do composto 3-((4-metoxifenil)selanil)-2-fenilbenzofurano (SeBZF3), para ser um possível candidato à terapia do transtorno de ansiedade.

2. METODOLOGIA

Camundongos Swiss machos de 30-35g (n= 8-10), 60 dias, foram obtidos de uma colônia de reprodução local. Os animais foram mantidos em uma sala separada, com temperatura controlada de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ e ciclo claro escuro de 12h com livre acesso a água e comida. Os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPEL (Nº 010497/2022-4). O composto, foi sintetizado e caracterizado no Laboratório de Síntese de Derivados de Selênio e Telúrio (LabSelen) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), dissolvido em óleo de canola e administrado por via intragástrica (i.g.) em volume fixo de 10 ml/kg. Todos as outras substâncias químicas foram obtidas da Sigma (St. Louis, MO, EUA) ou outros fornecedores comerciais.

Inicialmente, realizou-se testes *in vitro* para identificar a capacidade do composto em inibir a enzima monoamina oxidase (MAO). Os testes comportamentais foram realizados no ciclo de luz, e os animais foram habituados por pelo menos 1h

antes do início dos testes. O comportamento foi registrado em vídeo e avaliado por dois pesquisadores diferentes para obter uma média dos dados. Os aparelhos foram limpos com álcool 20% entre os animais para evitar sinais de odor. Teste de campo aberto (TCA), teste do labirinto em cruz elevado (LCE) e teste de supressão alimentar por novidade (TSAN) foram utilizados. Os últimos, foram realizados para avaliar os efeitos ansiolíticos de SeBZF3 em diferentes doses, cada teste teve duração de 5 minutos. Para isso, os animais receberam SeBZF3 nas doses de 5, 25 ou 50 mg/kg, i.g., ou o seu veículo (óleo de canola, i.g.). Fluoxetina (30 mg/kg, via intraperitoneal, i.p.) foi utilizada como um controle positivo (de SOUZA et al., 2018). Trinta minutos após os animais foram submetidos aos testes comportamentais, lembrando que cada teste foi realizado em dias diferentes. Após o final de cada experimento, foi realizada a eutanásia e o cérebro total foi retirado para a análise *ex vivo* MAO. O software GraphPad Prism (versão 8.2.0) foi utilizado para análise dos dados. Os resultados foram expressos como a média \pm erro padrão da média (E.P.M.), sendo analisados por análise de variância unidirecional ou bidirecional (ANOVA), com aplicação consecutiva do teste *post hoc* de Dunnett ou Newman-Keuls, respectivamente. Valores de probabilidade abaixo de 0,05 ($p < 0,05$) foram considerados significativos. Teste *t* Student também foi utilizado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O SeBZF3 foi testado em uma curva dose-resposta no LCE (**Figura. 1**). ANOVA unidirecional mostrou uma diferença significativa entre os grupos no tempo gasto nos braços abertos [$F_{(4, 40)} = 4,317$ $p = 0,0054$] (**A**), % de tempo em braços abertos [$F_{(4, 40)} = 4,328$, $p = 0,0053$] (**B**), número de entradas nos braços abertos [$F_{(4, 40)} = 3,529$, $p = 0,014$] (**C**), % de entradas nos braços abertos [$F_{(4, 40)} = 5,575$, $p = 0,0012$] (**D**) e número de mergulhos [$F_{(4, 40)} = 2,981$, $p = 0,0303$] (**E**). O *post hoc* de Dunnet revelou que as doses de SeBZF3 e fluoxetina ($p = 0,0296$; $p = 0,0361$; $p = 0,0108$, respectivamente) apresentaram diferença significativa em relação ao controle no tempo gasto nos braços abertos. Houve diferença significativa na % de tempo nos braços abertos em relação ao controle nas mesmas doses ($p = 0,0290$; $p = 0,0357$; $p = 0,0108$, respectivamente). Também houve diferença significativa nas doses de 5 e 50 mg/kg no número de entradas nos braços abertos ($p = 0,0245$; $p = 0,0439$). Na % de entradas nos braços abertos, as doses de 25 e 50 mg/kg também mostraram diferença estatística em relação ao controle ($p = 0,0014$; $p = 0,0069$). Por fim, a análise do número de mergulhos demonstrou uma diferença significativa em relação ao controle na dose de 50 mg/kg e fluoxetina ($p = 0,0272$; $p = 0,0380$). Tais resultados indicam uma provável diminuição do comportamento do tipo ansioso, visto que o LCE é um teste que prediz o comportamento ansioso de roedores, já que os coloca em situações de risco (BLANCHARD et al., 2001).

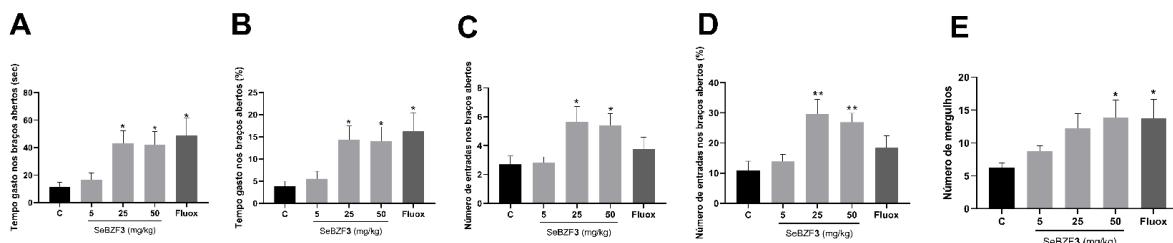


Figura 1. Efeitos do tratamento agudo com SeBZF3 em camundongos Swiss machos ($n = 8-10$ camundongos/grupo) em LCE em diferentes doses (5-50 mg/kg, 30 min de pré-tratamento). Tempo gasto em braços abertos (seg) (A). Tempo gasto em braços abertos (%) (B). Número de entradas em braços abertos (C). Número

de entradas em braços abertos (%) (D). Número de mergulhos (E). Os valores são apresentados como média \pm E.M.P. e a análise estatística foi realizada por one-way ANOVA/Teste *post hoc* de Dunnett. $p^* < 0,05$; $**p < 0,01$; quando comparado ao controle.

O composto também foi testado em uma curva de dose-resposta no TSAN (**Figura. 2**). A ANOVA mostrou diferença significativa no tempo de latência para a alimentação entre os grupos [$F_{(4, 44)} = 7,981$, $p < 0,0001$]. Camundongos tratados com dose de 50 mg/kg ($p = 0,0033$) e aqueles tratados com fluoxetina (controle positivo, $p = 0,0093$) tiveram sua latência para comer diminuída. Esse teste observa a inibição comportamental da alimentação em roedores quando colocados em um ambiente desconhecido (estímulo ansiogênico) (BODNOFF et al., 1988). Os resultados encontrados sustentam a hipótese de que o animal está menos ansioso quando tem sua latência diminuída, visto que ele se alimenta mais rapidamente apesar do ambiente novo ansiogênico.

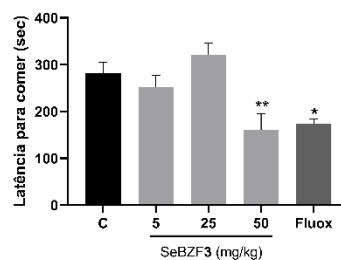


Figura. 2. Efeitos do tratamento agudo com SeBZF3 (5-50 mg/kg, 30 min de pré-tratamento) no tempo de latência para a alimentação de camundongos machos ($n = 8-10$ camundongos/grupo) no TSAN. Os valores são apresentados como média \pm S.E.M. e a análise estatística foi realizada por one-way ANOVA/Teste *post hoc* de Dunnett. $p^* < 0,05$; $**p < 0,01$; quando comparado ao controle.

Testes *in vitro* mostraram ação do composto SeBZF3, em concentrações iguais ou superiores a 50 μ M, na inibição a atividade da enzima MAO-A [$F_{(6, 21)} = 16,55$, $p = <0,0001$] (**Figura. 3**). Análises *post hoc* mostraram que houve inibição da MAO-A nas concentrações de 100, 200 e 500 μ M em relação ao controle ($p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, respectivamente), o teste também mostrou a inibição da isoforma nas concentrações 50, 100, 200 e 500 μ M em relação ao veículo ($p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, respectivamente). A inibição da atividade da MAO-A por SeBZF3 no cérebro de camundongos foi avaliada em ensaio *ex vivo* e é apresentada figura 3. Houve um efeito significativo de SeBZF3 na inibição da atividade da isoforma MAO-A no tempo de 4h após a administração do composto [$t=3.458$, $df=17$]. A inibição da MAO é um resultado importante, visto que essa enzima está diretamente ligada a distúrbios psicológicos neurodegenerativos (KRUM et al., 2022).

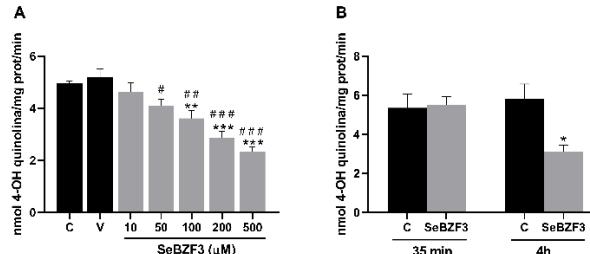


Figura 3. Efeitos do SeBZF3 sobre a atividade da MAO-A cerebral. A) Ação do SeBZF3 sobre a atividade da MAO-A *in vitro*; B) análise da inibição da MAO-A *ex vivo*, 35 min e 4h após a administração do composto na dose de 50 mg/kg. Os

valores são expressos como média \pm E.P.M (n= 9-10 camundongos/grupo). *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001, em relação ao grupo controle. #p<0,05, ##p< 0,01, ###p<0,001, em relação ao grupo veículo. ANOVA unidirecional/Newman-Keuls.

4. CONCLUSÕES

Este estudo colaborou com achados anteriores de nosso grupo de pesquisa, demonstrando que o SeBZF3 tem importantes efeitos do tipo ansiolíticos em camundongos Swiss machos demonstrados através de diferentes testes comportamentais. Os efeitos terapêuticos do SeBZF3 aqui observados poderiam ser explicados, em parte, pela sua ação inibitória sobre a atividade da enzima MAO-A cerebral, isoforma envolvida na degradação de serotonina.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- HUR, J.; SMITH, J.F.; DEYOUNG, K.A.; ANDERSON, A.S. et al. Anxiety and the Neurobiology of Temporally Uncertain Threat Anticipation. **Journal of Neuroscience**, v. 40, n.41, p. 7949-7964, 2020.
- FERNANDES BRAGA, J. E.; PORDEUS, L. C.; DA SILVA, A. T. M. C.; PIMENTA, F. C. F. et al. ANSIEDADE PATOLÓGICA: BASES NEURAIS E AVANÇOS NA ABORDAGEM PSICOFARMACOLÓGICA. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, [S. I.], v. 14, n. 2, p. 93–100, 2011.
- UZUN, S.; KOZUMPLIK, O.; JAKOVLJEVIC, M.; SEDIC, B. Side effects of treatment with benzodiazepines. **Psychiatria Danubina**, v. 22, n. 1, p. 90–93. 2010.
- DA TEIXEIRA RECH, T., GONÇALVES ALVES, A., NORNBERG STRELOW, D. et al. 2-Phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran elicits acute antidepressant-like action in male Swiss mice mediated by modulation of the dopaminergic system and reveals therapeutic efficacy in both sexes. **Psychopharmacology**, p. 3013-3024, 2021.
- GALL, J.I.; ALVES, A.G.; CARRO JÚNIOR, L.R.; DA SILVEIRA TEIXEIRA RECH, T, et al. Insights into serotonergic and antioxidant mechanisms involved in antidepressant-like action of 2-phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran in mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 102, 2020.
- BAMPI, S. R.; CASARIL, A. M.; SABEDRA SOUSA, F. S.; PESARICO, A. P. et al. Repeated administration of a selenium-containing indolyl compound attenuates behavioural alterations by streptozotocin through modulation of oxidative stress in mice. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 183, p.46–55, 2019.
- CHO J.; PARK C.; LEE, Y.; KIM, S.; BOSE, S. et al. Neuroprotective and antioxidant effects of novel benzofuran-2-carboxamide derivatives. **Biomolecules & therapeutics**, v. 23, n.3, p.275–282, 2015.
- DE SOUZA, J.M.; MENDES, B.O.; GUIMARÃES, A.; RODRIGUES A. et al. Zinc oxide nanoparticles in predicted environmentally relevant concentrations leading to behavioral impairments in male swiss mice. **The Science of the total environment**, v. 613-614, p. 653–662, 2018
- BLANCHARD, D.C.; GRIEBEL, G.; BLANCHARD, R.J. Mouse defensive behaviors: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 25, p.205-218, 2001.
- BODNOFF, S. R.; SURANY-CADOTTE, B.; AITKEN, D.H.; MEANEY, M.J. The effects of chronic antidepressant treatment in an animal model of anxiety. **Psychopharmacology**, v.95, n.3, p.298–302, 1988,
- KRUM, B. N.; DE FREITAS, C. M.; BUSANELLO, A.; SCHAFFER, L. F. et al., *Ex vivo* and *in vitro* inhibitory potential of Kava extract on monoamine oxidase B activity in mice. **Journal of traditional and complementary medicine**, v. 12, n.2, p.115–122, 2021.