

ESTUDO COMPLEMENTAR DA AÇÃO DO TIPO ANSIOLÍTICA DO (3-((4-METOXIFENIL)SELANIL)-2-FENILBENZOFURANO - SeBZF3): UMA POSSÍVEL CONTRIBUIÇÃO DO SISTEMA SEROTONINÉRGICO

LARISSA SANDER MAGALHÃES¹; DIANER NORNBORG STRELOW²; TAÍS DA SILVA TEIXEIRA RECH³; MARIANA PARRON PAIM⁴; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING⁵; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – larissasama@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – dianer_strelow@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – taisteixeira.r@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – maa_paim@hotmail.com

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

⁶Universidade Federal de Pelotas – cbortolatto@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A ansiedade é uma reação natural do ser humano diante de perigos incertos, caracterizada por aflição e agitação. No entanto, quando se torna generalizada, pode se transformar em um transtorno patológico incapacitante (HUR et al., 2020). O tratamento desse transtorno geralmente envolve o uso de benzodiazepínicos (BDZ) e, mais recentemente, antidepressivos. Contudo, o uso de BDZ levanta preocupações devido ao aumento da tolerância, dependência e abuso (UZUN et al., 2010). No caso dos antidepressivos disponíveis, fatores como o atraso na resposta terapêutica e o surgimento de efeitos colaterais têm direcionado a busca por novas moléculas efetivas e seguras. Os compostos orgânicos contendo selênio em sua estrutura têm despertado interesse científico por suas aplicações na síntese orgânica e suas atividades neuromoduladoras (DA SILVA TEIXEIRA RECH et al., 2021; GALL et al., 2020). Estudos têm sido realizados para investigar as propriedades do tipo antidepressivas e ansiolíticas desses compostos de selênio, com resultados promissores em diferentes modelos experimentais (BAMPI et al., 2019).

Paralelamente, o núcleo benzofurano é encontrado em diversos produtos naturais e compostos sintéticos com atividade farmacológica (CHO et al., 2015). Nosso grupo de pesquisa tem se dedicado a investigar as atividades biológicas de compostos contendo tal núcleo. O protótipo da classe, 2-fenil-3-(fenilselanil)benzofurano (SeBZF1), já demonstrou atividade do tipo antidepressiva, apresentando modulação glutamatérgica e dopaminérgica (GALL et al., 2020; DA SILVA TEIXEIRA RECH et al., 2021; RECH et al., 2023). A conexão entre o sistema serotoninérgico e a ansiedade patológica, e como ele age para mediar este transtorno merece uma discussão aprofundada. O sistema serotoninérgico tem funções no controle de eventos biológicos fundamentais para o bom desenvolvimento do sistema nervoso. A serotonina (5-HT ou 5-hidroxitriptamina) e o transportador de serotonina (SERT) são essenciais para esse controle (CHAVANNE, ROBINSON, 2021). Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial ansiolítico de um dos compostos da classe SeBZF, 3-((4-metoxifenil)selanil)-2-fenilbenzofurano (SeBZF3), como uma possível opção para a terapia do transtorno de ansiedade, investigando a possível contribuição do

sistema serotoninérgico nos seus efeitos ansiolíticos agudos. Adicionalmente, os efeitos do tratamento subcrônico foram também estudados em camundongos.

2. METODOLOGIA

Camundongos Swiss machos pesando de 25-35g (n= 8-10/grupo), ~ 60 dias, foram obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Os animais foram mantidos em uma sala separada, com temperatura controlada de 22 ± 1 °C e ciclo claro escuro de 12h com livre acesso à água e comida. Os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) 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), ele foi dissolvido em óleo de canola e administrado por via intragástrica (i.g.) (BLÖDORN et al., 2022). Todos os outros produtos químicos foram obtidos da Sigma (St. Louis, MO, EUA) ou outros fornecedores comerciais.

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 aparatos foram limpos com álcool 20% entre os animais para evitar sinais de odor. O teste de campo aberto (TCA) e o teste do labirinto em cruz elevado (TLCE) foram realizados. O TCA foi utilizado afim de descartar possíveis alterações locomotoras e exploratórias, já o TLCE foi utilizado para avaliar o comportamento do tipo ansioso, ambos os testes tiveram duração de 5 minutos. A influência do sistema serotoninérgico sob a modulação do composto foi avaliada por meio da depleção de 5-HT por *p*-clorofenilalanina (*p*-CPA) na dose de 100 mg/kg, intraperitoneal (i.p.). Os animais foram tratados durante 4 dias com essa droga e no dia do experimento receberam o tratamento agudo com SeBZF3 (50 mg/kg i.g.) ou óleo de canola. A eficácia farmacológica do tratamento oral repetido com o SeBZF3 em doses mais baixas foi avaliada em camundongos. Os animais receberam uma administração diária de SeBZF3 (1 ou 5 mg/kg, i.g.) (da Silva Teixeira Rech et al., 2021) ou veículo por 14 dias consecutivos. Finalmente, 24 horas após a última administração, cada animal foi submetido ao TCA e TLCE.

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 (S.E.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.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 1 ilustra os resultados experimentais obtidos no TLCE após a redução do conteúdo cerebral de 5-HT cerebral usando *p*-CPA em camundongos tratados com SeBZF3. Os resultados da análise ANOVA de duas vias revelaram uma interação significativa entre SeBZF3 e *p*-CPA em termos do tempo gasto nos braços abertos, medido em segundos (Figura 1A) [$F_{(1, 36)} = 8,752$, $p = 0,0054$], bem como a porcentagem de tempo (Figura 1B) [$F_{(1, 36)} = 9,110$, $p = 0,0046$] e porcentagem do número de entradas nos braços abertos (Figura 1C) [$F_{(1, 36)} = 4,739$, $p = 0,0361$]. A análise *post hoc* demonstrou que o *p*-CPA prejudicou o efeito do tipo ansiolítico do SeBZF3 ($p < 0,01$ ou $0,05$). Esta abordagem experimental

também foi realizada por Bui e colaboradores. Em seu estudo, o efeito do tipo ansiolítico do Ginseng vermelho coreano no TLCE foram prejudicados pela exposição animal ao *p*-CPA, indicando que o composto dos autores pode agir pela via serotoninérgica (BICH PHUONG BUI et al., 2022). Dados encontrados no TCA, indicam que não houve alteração no cruzamentos ($F_{(1,36)} = 1,507$, $p = 0,2276$) e nos levantamento das patas ($F_{(1,36)} = 0,2901$, $p = 0,5935$) dos animais tratados.

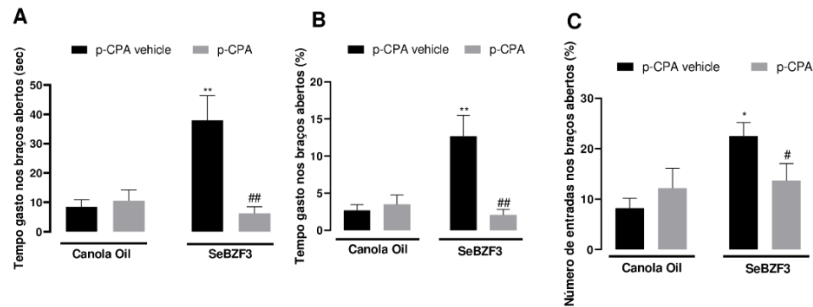


Figura 1. Efeito do pré-tratamento com *p*-CPA (100 mg/kg, ip) no efeito do tipo ansiolítico do SeBZF3 (50 mg/kg, i.g.) no TLCE. Os valores foram expressos como média \pm SEM ($n = 8-12$ animais/grupo). Os dados foram analisados por análise de variância de duas vias (ANOVA) seguida pelo teste post hoc de Newman-Keuls. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ em comparação com o grupo controle; # $p < 0,05$ e ## $p < 0,001$ em comparação com o grupo SeBZF3.

Os efeitos do tratamento repetido com doses mais baixas de SeBZF3 (1 e 5 mg/kg, por 14 dias) no TLCE e TCA em camundongos machos são mostrados na figura 2. A ANOVA de uma via revelou diferenças estatísticas entre os grupos experimentais quando analisado o tempo gasto nos braços abertos (%) [$F_{(2,21)} = 3,486$, $p = 0,0493$], o número de entradas nos braços abertos (%) [$F_{(2,21)} = 3,321$, $p = 0,0558$] no TLCE, e o número de bolos fecais no TCA [$F_{(2,21)} = 5,624$, $p = 0,0111$]. O teste *post hoc* de Dunnett indicou que SeBZF3 em doses de 5 mg/kg ($p < 0,0383$) aumentou o tempo gasto nos braços abertos. A dose de 1 mg/kg ($p < 0,0395$) aumentou a porcentagem do número de entradas nos braços abertos. Foi observado uma diminuição dos bolos fecais dos animais tratados com 1 mg/kg de SeBZF3 ($p < 0,0086$), o que também indica uma diminuição do comportamento do tipo ansioso. Os efeitos do tipo ansiolítico com doses menores e repetidas de SeBZF3 são interessantes porque a prescrição de medicamentos em doses menores pode minimizar os efeitos adversos do tratamento farmacológico. Dados encontrados no TCA, indicam que não houve alteração no cruzamentos ($F_{(2,21)} = 0,5220$, $p = 0,6008$) e nos levantamento das patas ($F_{(2,21)} = 1,449$, $p = 0,2573$) dos animais tratados.

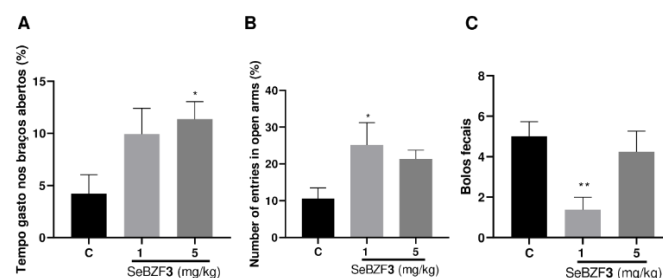


Figura 2. Efeitos do tratamento oral repetido com SeBZF3 (1 e 5 mg/kg, ig) durante 14 dias sobre o comportamento de camundongos Swiss machos no EMPT e OFT.

Tempo gasto nos braços abertos (%) (A) Número de entradas nos braços abertos (%) (B) no TLCE; e bolos fecais no TCA (C) (n = 8 camundongos/grupo). Os valores são apresentados como média \pm SEM *p < 0,05, **p < 0,01 em comparação com o grupo controle (óleo de canola) (ANOVA de uma via/teste *post hoc* de Dunnett)

4. CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo sugerem que o tratamento agudo com SeBZF3 exerce efeitos do tipo ansiolíticos em camundongos Swiss machos, possivelmente mediados pelo sistema serotoninérgico, como evidenciado pelo bloqueio desses efeitos na presença de um depletor de 5-HT - pCPA. Além disso, a administração subcrônica de doses baixas SeBZF3 demonstrou reduzir os níveis de ansiedade basal nos animais, destacando o potencial terapêutico deste composto no manejo da ansiedade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAMPI, S. R. 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.

BUI, B.P. et al. Anxiolytic effect of Korean Red Ginseng through upregulation of serotonin and GABA transmission and BDNF expression in immobilized mice. **Journal of Ginseng Research**, v. 46, n. 6, p. 819-829, 2022.

BLÖDORN, G. B. et al. Trichloroisocyanuric Acid (TCCA): A Suitable Reagent for the Synthesis of Selanyl-benzo[*b*]chalcogenophenes. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2022, n. 40, 25 out. 2022.

CHAVANNE, A. V.; ROBINSON, O.J. The overlapping neurobiology of induced and pathological anxiety: a meta-analysis of functional neural activation. **American Journal of Psychiatry**, 178, n. 2, p. 156-164, 2021.

DA SILVEIRA TEIXEIRA RECH, T. 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**, v. 238, n. 10, p. 3013–3024, 27 jul. 2021.

GALL, J.I. 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, p. 109956–109956, 1 ago. 2020.

HUR, J. et al. Anxiety and the Neurobiology of Temporally Uncertain Threat Anticipation. **Journal of Neuroscience**, v. 40, n.41, p. 7949-7964, 2020.

RECH, T.D.S.T. et al. Pharmacological evidence for glutamatergic pathway involvement in the antidepressant-like effects of 2-phenyl-3-(phenylselanyl)benzofuran in male Swiss mice. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, doi: <https://doi.org/10.1007/s00210-023-02508-3>.

UZUN, S. et al. Side effects of treatment with benzodiazepines. **Psychiatria Danubina**, v. 22, n. 1, p. 90–93. 2010.