

EFEITO INIBITÓRIO DE DERIVADOS DE 4-(FENILSELENIL)TETRAZOLO[1,5-A]QUINOLINA NA ATIVIDADE DA ENZIMA MONOAMINA OXIDASE EM ENSAIOS IN VITRO

KÉTILA TELEKEN GROLLI¹; MARCELO HEINEMANN PRESA¹; LIVIA CONCEIÇÃO LIMA VALENTE²; DANIELA HARTWIG DE OLIVEIRA²; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO¹; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING¹

¹Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM), Universidade Federal de Pelotas – ktgtk.10@gmail.com; cesar.bruning@ufpel.edu.br.

²Laboratório de Química Orgânica Limpa (LASOL), Universidade Federal de Pelotas.

1. INTRODUÇÃO

As monoamino oxidases (MAOs) são enzimas que metabolizam neurotransmissores monoaminérgicos, influenciando funções cerebrais como humor, atenção e sono. Elas utilizam o FAD como cofator, gerando amônia, aldeído e peróxido de hidrogênio como subprodutos (Bhawna *et al*, 2022). Essas enzimas atuam nas sinapses de neurotransmissores como serotonina, noradrenalina e dopamina, cujo déficit é associado à depressão, e são encontradas em duas isoformas, MAO-A e MAO-B. A isoforma A é mais associada à degradação da serotonina e inibidores da MAO-A têm sido usados no tratamento da depressão, uma vez que aumentam a disponibilidade de serotonina (Alagoz, 2023). A MAO-B, por sua vez, degrada principalmente a dopamina. Inibidores da MAO-B são utilizados no tratamento da doença de Parkinson, ajudando a preservar os níveis de dopamina (Hsieh *et al*, 2020). Além disso, faz-se possível notar que a produção intensa de produtos metabólicos das monoaminas originam radicais livres que estimulam o estresse oxidativo causando a apoptose celular e diversos distúrbios neurodegenerativos, sendo a inibição das MAOs um alvo para o tratamento de distúrbios neurológicos que visa aumentar a disponibilidade de neurotransmissores monoaminérgicos (Chaurasiya *et al*, 2022). Evidências a favor da teoria monoaminérgica relatam sobre a eficácia de antidepressivos que aumentam os níveis de neurotransmissores, como os inibidores das monoaminoxidases (IMAO).

Dessa forma, este trabalho tem como objetivo avaliar a capacidade de inibição da atividade da MAO *in vitro* dos compostos 4-(mestilselanil)tetrazolo[1,5-a]quinolina (FSTQ-C), 4-(o-toliselanil)tetrazolo[1,5-a]quinolina (FSTQ-F), e 4-(naftalen-1-ilselanil)tetrazolo[1,5-a]quinolina (FSTQ-G) (Figura 1).

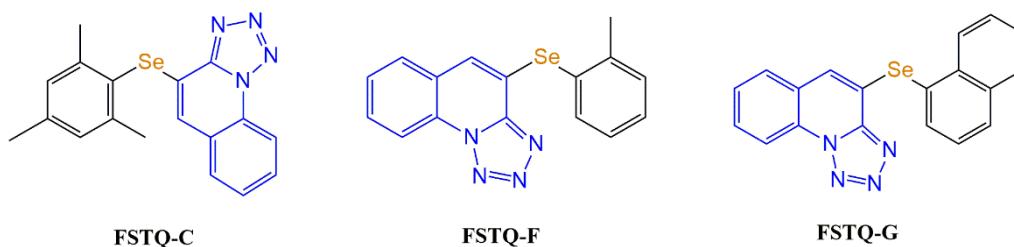


Figura 1: Estruturas químicas dos compostos FSTQ-C, FSTQ-F e FSTQG.

2. METODOLOGIA

Através de estudos de docagem molecular entre derivados de 4-(fenilselenil)tetrazolo[1,5-a]quinolina (FSTQ) e a MAO-A e MAO-B, foram selecionados os compostos FSTQ-F, FSTQ-C e FSTQ-G para testar seu efeito nas atividades da MAO-A e MAO-B *in vitro*, utilizando homogenatos cerebrais de camundongos, sendo aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) (CEUA 028361/2022-92). As moléculas foram sintetizadas no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da UFPel. Foi utilizado o dimetilsulfóxido (DMSO) como solvente para realização da análise da inibição da enzima MAO, segundo protocolo descrito por Krajl (1965).

Para que o protocolo *in vitro* fosse realizado, o homogeneizado de cérebro dos camundongos foi previamente preparado a partir do protocolo Soto-Steru *et al.* (2001), com intuito de obter frações ricas em mitocôndrias. Em seguida, foram pipetados 100 μ L do tecido e 20 μ L do inibidor da isoforma contrária ao que está sendo investigada, ou seja, clorgilina (inibidor da MAO-A) para investigar a MAO-B e pargilina (inibidor da MAO-B) na MAO-A, em microtubos. Após isso, os tubos foram incubados por 5 minutos a 37°C, e depois foram pipetados 10 μ L do veículo ou droga. Os tubos foram novamente incubados, por 10 minutos, a 37°C e, após, 20 μ L de concentrações adequadas de quinuramina foram pipetadas. Na sequência, foi realizada a última incubação a 37°C, por 30 minutos. Para a reação ser finalizada, foi pipetado 300 μ L de ácido tricloroacético 10% em todos os tubos e centrifugado a 13.000 rpm por 5 minutos. Na sequência, foi retirado 800 μ L de sobrenadante e transferidos para um tubo de ensaio e, então, pipetado 1mL de NaOH 1M e, em seguida, feita a leitura da fluorescência com cubetas de vidro em um fluorímetro.

A análise estatística foi executada pelo teste one-way ANOVA e, em seguida, pelo teste post hoc de Newman-Keuls. Os resultados foram expressos em erro \pm erro padrão de média e foram apresentados como nmol de 4-OH quinolina/mg de proteína/min e foram considerados significativos quando possuíam valores de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os derivados de FSTQ selecionados foram avaliados quanto à sua capacidade de inibir a atividade da MAO com diferentes substituintes na sua estrutura. Os experimentos demonstraram que a molécula FSTQ-C não apresentou inibição significativa da atividade da MAO-A e da MAO-B. Enquanto isso, o FSTQ-F inibiu de forma significativa a atividade da MAO-A a partir da concentração de 5 μ M e, a atividade da MAO-B, a partir de 1 μ M. O FSTQ-G apresentou efeito de inibição da atividade da MAO a partir da concentração de 1 μ M, para MAO-A, e 0,5 μ M para MAO-B (Figura 2). A atividade inibitória foi mais pronunciada para a isoforma B.

Com base nessas curvas, foram realizados cálculos para concentração inibitória de 50% (IC50), ou seja, a concentração necessária para inibir a atividade da enzima em 50%. A Tabela 1 apresenta os valores de IC50 para cada uma das moléculas investigadas. A FSTQ-F mostrou uma IC50 de 40,02 μ M para a MAO-A e 11,44 μ M para a MAO-B, indicando uma potência maior na inibição da MAO-B. A molécula FSTQ-G apresentou uma IC50 de 114,1 μ M para a MAO-A e 4,37 μ M para a MAO-B, mostrando-se mais potente na inibição da MAO-B em relação à MAO-A.

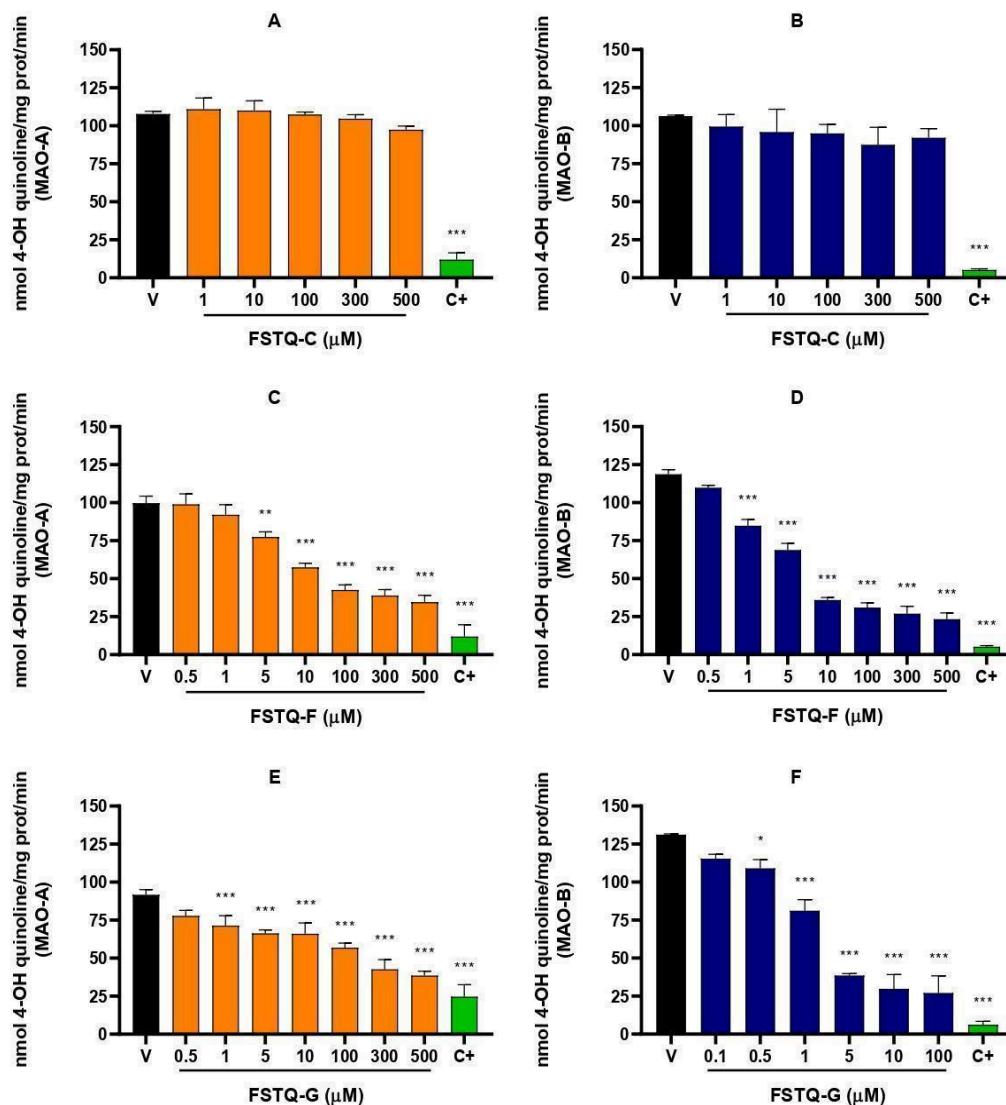


Figura 2: Efeito dos compostos FSTQ-C, FSTQ-F e FSTQ-G sobre a atividade da MAO-A e MAO-B em fração concentrada de mitocôndrias de homogenato de cérebro de camundongos. Os dados representam a média \pm EPM de 3 experimentos independentes, e os resultados estão expressos como nmol 4-OH quinolina/mg de proteína/minuto. (*) $p<0,05$, (**) $p<0,01$ e (***) $p<0,001$ quando comparados ao grupo veículo (V).

Tabela 1: Valores de IC₅₀ para a inibição das atividades da MAO-A e MAO-B por FSTQ.

| Molécula | IC ₅₀ - MAO A | IC ₅₀ - MAO B |
|----------|--------------------------|--------------------------|
| FSTQ-C | N/C | N/C |
| FSTQ-F | 40.02 | 11.44 |
| FSTQ-G | 114.1 | 4.37 |

N/C: Não calculado.

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados *in vitro* obtidos e apresentados neste trabalho, os compostos, com exceção do FSTQ-C, inibiram de forma significativa a atividade das duas isoformas da enzima MAO, com maior seletividade para a MAO-B. Com isso, considerando a necessidade de novas alternativas farmacológicas para distúrbios e doenças como a depressão e a doença de Parkinson, os derivados de FSTQ tornam-se possíveis candidatos a futuros agentes farmacológicos. Todavia, faz-se necessário que haja uma investigação mais detalhada acerca destes compostos para tal objetivo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAGOZ, M et al. *Recent updates on structural insights of MAO-B inhibitors: a review on target-based approach.* **Molecular Diversity**, [s. l], v. 27, p. 109-127, 2023.

BHAWNA et al. *Monoamine oxidase inhibitors: A concise review with special emphasis on structure activity relationship studies.* **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l], v. 242, p. 114655, 2022.

CHAURASIYA et al. *Natural Products Inhibitors of Monoamine Oxidases—Potential New Drug Leads for Neuroprotection, Neurological Disorders, and Neuroblastoma.* **Molecules**, [s. l], v. 27, p. 4297, 2022.

HSIEH, H et al. (2020). *Monoamine oxidase B inhibitors in the treatment of Parkinson's disease.* **Journal of Neural Transmission**, [s. l], v. 127, p. 457-468, 2020.

LATIF, S et al. *Dopamine in Parkinson's disease.* **Clinica Chimica Acta**, [s.l.] v. 522, p. 114, 2021.

SANTOS, A. C. et al. *The role of selenium in depression: a systematic review and meta-analysis of human observational and interventional studies.* **Nutritional Neuroscience**, [s.l.], v. 25, n. 12, p. 2281-2294, 2022.

YANG, Y. et al. *Emotional roles of mono-aminergic neurotransmitters in major depressive disorder and anxiety disorders.* **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, [s.l.], v. 17, p. 837, 2023.