

## **EFEITO INIBITÓRIO *IN VITRO* DO DISSELENETO DE BIS(3-INDOLILA) NAS ATIVIDADES DAS MONOAMINO OXIDASES A E B CEREBRAIS DE CAMUNDONGOS**

LUCAS CERON KIKHOFEL<sup>1</sup>; KELLEN BÖHLKE THUROW<sup>1</sup>; MÁRCIA JUCIELE DA ROCHA<sup>1</sup> EDER JOÃO LENARDÃO<sup>2</sup> CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO<sup>1</sup>, CÉSAR AUGUSTO BRÜNING<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM), Universidade Federal de Pelotas- [lucasceron2015@gmail.com](mailto:lucasceron2015@gmail.com); [cabruning@yahoo.com.br](mailto:cabruning@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL), Universidade Federal de Pelotas

### **1. INTRODUÇÃO**

A monoamina oxidase (MAO) é uma enzima mitocondrial que desempenha papel fundamental na regulação de neurotransmissores derivados de aminas, incluindo serotonina, dopamina e noradrenalina, por meio da sua desaminação. Existem duas isoformas da MAO, a MAO-A e a MAO-B. A MAO-A atua predominantemente na metabolização da serotonina, enquanto a MAO-B é mais envolvida na degradação da dopamina. Ambas as isoformas estão presentes nos neurônios pré-sinápticos, desempenhando papéis complementares na modulação da neurotransmissão (BORTOLATO, 2018).

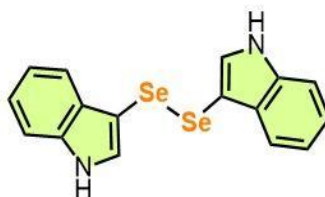
A deficiência de neurotransmissores monoaminérgicos pode desencadear alterações funcionais no sistema nervoso central (SNC), resultando em distúrbios neurológicos como depressão e ansiedade. Essas condições estão associadas à redução dos níveis de norepinefrina, serotonina e dopamina. O déficit dopaminérgico também é observado na doença de Parkinson, caracterizada pela degeneração progressiva dos neurônios dopaminérgicos. Os tratamentos farmacológicos para essas patologias têm como objetivo principal aumentar a disponibilidade desses neurotransmissores na fenda sináptica, promovendo alívio dos sintomas (ERJAVEC, 2021).

Os medicamentos antidepressivos e ansiolíticos atualmente disponíveis, como os inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRSs), inibidores seletivos da recaptação de norepinefrina (IRSNs), antidepressivos tricíclicos (TCAs), e inibidores da MAO (IMAOs), têm demonstrado eficácia clínica, mas estão frequentemente associadas a uma ampla gama de efeitos adversos (GRABOWSKI, 2021). Entre os efeitos adversos mais comuns estão distúrbios gastrointestinais, sedação, sonolência e, em muitos casos, isso leva a descontinuação do tratamento. No caso dos IMAOs, especialmente inibidores da MAO-A ou inibidores não seletivos, há o risco de elevação da pressão arterial provocada pela tiramina, presente em diversos alimentos, exigindo restrições dietéticas rigorosas (MILLS, 2020). No entanto os inibidores da MAO são eficazes no tratamento da depressão resistente a outros tratamentos e o desenvolvimento de inibidores competitivos da MAO-A diminui o risco de reação hipertensiva. Os inibidores da MAO-B têm sido principalmente utilizados para o tratamento da Doença de Parkinson, ao aliviar o déficit de dopamina.

Diante disso, a busca por novas abordagens terapêuticas que envolvam inibidores seletivos de MAO-A ou MAO-B surge como uma estratégia promissora. A seletividade na inibição permite uma modulação mais precisa da neurotransmissão, potencializando os benefícios clínicos e minimizando os efeitos adversos decorrentes da inibição não específica (FINBERG, 2016). Assim, o desenvolvimento de novos IMAOs com maior especificidade, melhor perfil de

segurança e menor interação alimentar representa uma necessidade urgente no campo da neuropsicofarmacologia.

O disseleneto de bis(3-indolila) (DBI) (Figura 1) é um novo composto orgânico sintético que possui duas unidades indólicas conectadas a átomos de selênio. O grupo indol é uma das estruturas heterocíclicas mais prevalentes na natureza, sendo encontrado no neurotransmissor monoaminérgico serotonina. Paralelamente, compostos orgânicos contendo selênio têm demonstrado diversas propriedades farmacológicas, incluindo inibição da MAO (BESCKOW, 2023). Dessa forma, considerando a presença do núcleo indólico, que sugere uma possível interação com o sistema monoaminérgico, aliada a incorporação do selênio, bem como a necessidade do desenvolvimento de novos inibidores da MAO, este estudo teve como objetivo investigar o potencial inibitório *in vitro* do DBI frente as enzimas MAO-A e MAO-B de cérebro de camundongos.



**Figura 1** Estrutura química do disseleneto de bis(3-indolila) (DBI).

## 2. METODOLOGIA

O DBI foi sintetizado no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL). Os experimentos foram realizados em duplicata e em três dias diferentes. Foram utilizados camundongos Swiss (25–30 g), de ambos os sexos. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura controlada ( $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ), ciclo claro/escuro de 12 horas e acesso livre à água e ração. A eutanásia foi realizada por inalação de isoflurano, seguida da coleta imediata dos encéfalos, que foram armazenados a  $-80^\circ\text{C}$  até o processamento. Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as diretrizes definidas pelo Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da UFPeL (CEUA 020522/2025-42).

A fração mitocondrial foi obtida conforme protocolo envolvendo homogeneização de cérebro de camundongo (1:4, p/v) em tampão apropriado, seguida de centrifugação a 900 g por 5 minutos e subsequente centrifugação do sobrenadante a 12.500 g por 15 minutos. O pellet obtido foi suspenso novamente e armazenado a  $-80^\circ\text{C}$ . No dia do experimento, a concentração proteica foi ajustada para 1 mg/mL pelo método de Bradford.

Para avaliar a inibição das isoformas de MAO-A e MAO-B, foi usado o substrato quinuramina. A oxidação desse substrato produz 4-hidroxiquinolina, um composto fluorescente. As leituras foram feitas em fluorímetro com comprimento de onda de excitação de 315 nm e de emissão de 380 nm.

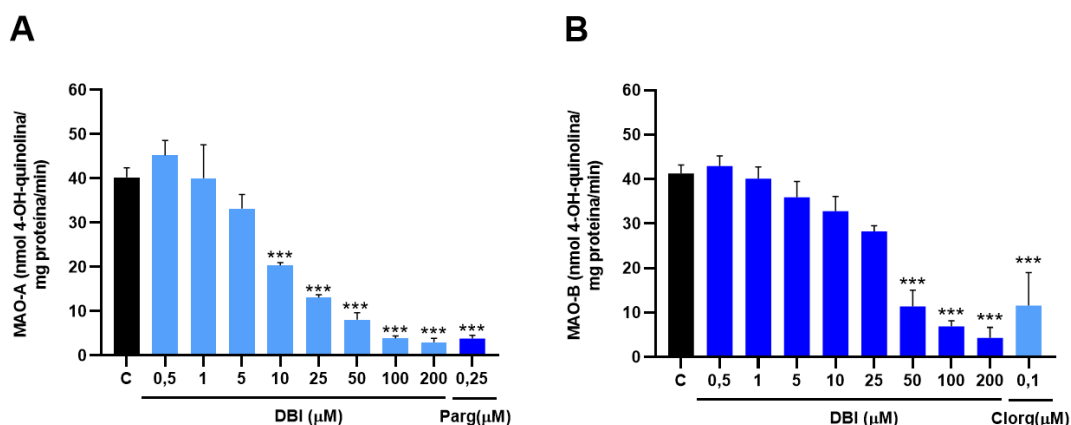
Para garantir a distinção entre as duas isoformas, as amostras de tecido cerebral foram pré-incubadas com pargilina (7,5  $\mu\text{M}$ ) para a inibição da MAO-B e clorgilina (7,5  $\mu\text{M}$ ) para a inibição da MAO-A. As leituras finais foram feitas após 30 minutos de reação, e os resultados foram expressos em nmol de 4-hidroxiquinolina por mg de proteína.

Para a avaliação da inibição das enzimas MAO-A e MAO-B, o composto DBI foi testado em concentrações de 0,5 a 500  $\mu\text{M}$ . O composto foi diluído em DMSO e adicionado às reações enzimáticas e para os controles positivos foi utilizado pargilina 0,25  $\mu\text{M}$  para a MAO-A e clorgilina 0,1  $\mu\text{M}$  para a MAO-B.

A inibição enzimática foi comparada ao grupo veículo (DMSO). A análise estatística foi realizada por ANOVA, seguida pelo teste de Newman-Keuls, com significância de  $p < 0,05$ . O valor de  $\text{Cl}_{50}$  foi obtido por regressão não linear, sendo que  $\text{Cl}_{50}$  é um parâmetro utilizado em estudos farmacológicos e bioquímicos para indicar a concentração necessária de um composto para inibir 50% da atividade de uma enzima, receptor ou processo biológico.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inibição da MAO-A por DBI pode ser observada na figura 2A a partir de uma concentração de 10  $\mu\text{M}$ , com um valor de  $\text{Cl}_{50}$  calculado em 8,49  $\mu\text{M}$ . Também é possível notar uma inibição significativa da atividade da MAO-B pelo DBI, a partir de 50  $\mu\text{M}$ , com um  $\text{Cl}_{50}$  de 23,64  $\mu\text{M}$ . Para validar os testes, foram utilizados os controles positivos, pargilina para a MAO-A e clorgilina para a MAO-B, que corroboraram a eficácia do método experimental. Esses achados indicam que o DBI tem um efeito inibitório sobre as duas isoformas da MAO, sendo mais potente na MAO-A, o que pode ser significativo em abordagens terapêuticas para distúrbios como depressão e ansiedade, onde essa isoforma desempenha um papel importante. No entanto, a inibição da MAO-B também foi significativa e dessa forma o DBI também poderia ser utilizado na terapêutica de doenças relacionadas à déficit de dopamina, como da Doença de Parkinson.



**Figura 2:** Efeito do DBI sobre as atividades da (A) MAO-A e (B) MAO-B. \*\*\* $p < 0,001$  quando comparado ao grupo veículo. Abreviações: DBI = disseleneto de bis(3-indolila), Parg = pargilina, Clorg = clorgilina.

Em suma, a análise da Figura 2 mostra que o DBI promoveu inibição significativa tanto da MAO-A quanto da MAO-B, com um valor de  $\text{Cl}_{50}$  mais baixo para a MAO-A, embora a diferença entre as isoformas não seja muito acentuada.. Esse perfil pode ser interessante, pois permite considerar o DBI tanto em condições relacionadas à deficiência de serotonina e norepinefrina, como a depressão, quanto em distúrbios dopaminérgicos, como a doença de Parkinson. No entanto, a

inserção de grupos funcionais no DBI poderia modificar a seletividade de inibição dessas enzimas, e torna-se um alvo promissor para futuros estudos.

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados indicam que o DBI exerce inibição significativa sobre as duas isoformas da MAO, com uma leve tendência de maior potência frente à MAO-A. Embora essa diferença não seja acentuada, o perfil observado sugere um potencial farmacológico relevante, uma vez que a modulação concomitante das duas enzimas pode contribuir tanto para estratégias terapêuticas voltadas a distúrbios do humor quanto para condições associadas ao déficit dopaminérgico.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORTOLATO, M.; CHEN, K.; SHIH, J. C. Inativação da monoamina oxidase: da fisiopatologia à terapêutica. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v.60, p.1527–1533, 2008.
- BESCKOW, Evelyn Mianes; PIRES, Camila Simões; GIEHL, Maira Regina; GODOI, Benhur; BORTOLATTO, Cristiani Folharini; BRÜNING, César Augusto. *Pharmacological and computational analysis of the involvement of the 5-HT<sub>4</sub> receptor in the antidepressant-like effect of N-(3-(phenylselanyl)prop-2-yn-1-yl)benzamide in mice*. *Brain Research*, v. 1825, p. 148714, 15 fev. 2024. DOI: 10.1016/j.brainres.2023.148714.
- ss in *Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, v. 105, p. 110139, 2021.
- GRABOWSKI, Ł. Monoamine oxidase inhibitors (MAOI): pharmacology, metabolism and application in the treatment of depression. v.67, n.2, p.130–140, 2021.
- JAKUBCZYK, K. et al. Antioxidant properties of small-molecule non-enzymatic compounds. *Polski Merkuriusz Lekarski: organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, v.48, n.284, p.128–132, 2020.
- MILLS, J. A.; STRAWN, J. R. Antidepressant Tolerability in Pediatric Anxiety and Obsessive-Compulsive Disorders: A Bayesian Hierarchical Modeling Meta-analysis. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 2020.
- MORRIS, G. M.; RUTH, H.; LINDSTROM, W.; SANNER, M. F.; BELEW, R. K.; RAZA, C.; ANJUM, R.; SHAKEEL, N. Doença de Parkinson: Mecanismos, modelos translacionais e estratégias de tratamento. *Life Sciences*, v.226, p.77–90, 2019.
- SHIH, J. C.; CHEN, K.; RIDD, M. J. Role of MAO A and B in neurotransmitter metabolism and behavior. *Polish Journal of Pharmacology*, v.51, n.1, p.25–29, 1999.
- TRIPATHI, S.; MITRA MAZUMDER, P. Comprehensive investigations for a potential natural prophylaxis—A cellular and murine model for apple cider vinegar against hydrogen peroxide and scopolamine induced oxidative stress. *Drug Development Research*, v.83, n.1, p.105–118, 28 jun. 2021.