

EFETO INIBITÓRIO DAS ATIVIDADES DAS ENZIMAS MONOAMINA OXIDASE A E B POR CROMONAS E TIOCROMONAS CONTENDO SELÊNIO

MOARA DE CARDOZO DAQUINO¹; NARRYMAN PINTO ZUGE¹; RICARDO HELLWIG BARTZ², KRIGOR BASTOS SILVA²; GELSON PERIN²; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING¹

¹ Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM), Universidade Federal de Pelotas – moaracdaquino@gmail.com; cabruning@yahoo.com.br

² Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) - Universidade Federal de Pelotas

1. INTRODUÇÃO

A monoamina oxidase (MAO) é uma enzima mitocondrial FAD-dependente que tem função crucial na degradação oxidativa de monoaminas, como serotonina, dopamina e noradrenalina, produzindo peróxido de hidrogênio como subproduto da reação catalítica (KALUDERCIC et al., 2023). A enzima possui duas isoformas, MAO-A e MAO-B, as quais apresentam diferenças estruturais, e desempenham papéis distintos na regulação neuroquímica (BHAWNA., et al. 2022).

A MAO-A apresenta elevada afinidade por neurotransmissores como serotonina (5-HT) e noradrenalina (NE), sendo predominantemente encontrada em neurônios serotoninérgicos, noradrenérgicos e dopaminérgicos. Além disso, está presente em astrócitos e distribuída em diversas regiões cerebrais, incluindo tronco encefálico, hipotálamo, amígdala e núcleo accumbens, enquanto sua expressão é mais baixa na glândula pituitária e cerebelo (WESTLUND et al., 1993). A MAO-B, por sua vez, tem maior afinidade pela dopamina, sendo amplamente distribuída em regiões do cérebro como o estriado, onde apresenta níveis elevados em comparação à MAO-A. Além disso, está presente em neurônios dopaminérgicos e astrócitos, desempenhando um papel importante na degradação de dopamina (NAFFAA, 2025).

Além de função central da MAO na manutenção da homeostase neuroquímica, disfunções na atividade das suas isoformas têm sido descritas como cruciais na fisiopatologia de transtornos psiquiátricos, como depressão e ansiedade, e de doenças neurodegenerativas, incluindo a Doença de Parkinson e Alzheimer, tendo-se níveis aumentados da MAO em regiões como o córtex pré-frontal e o estriado. O déficit de monoaminas tem sido associado a depressão e ansiedade, e a deficiência de dopamina é uma consequência da Doença de Parkinson. Isso fundamenta o valor da MAO como alvo para inibidores seletivos de aplicação clínica (NAFFAA, 2025).

Para contornar o déficit monoaminérgico presente nessas patologias, escolheu-se a classe das cromonas e tiocromonas contendo selênio com o objetivo de avaliar sua capacidade de inibição da MAO *in vitro* em suas duas isoformas. As cromonas são compostos heterocíclicos com estrutura semelhante à cumarina, apresentando grande variedade de atividades farmacológicas, sendo uma delas a ação de inibição das isoformas da MAO (MESITI et al., 2021). Estudos demonstram que compostos de orgânicos de selênio apresentam atividade antidepressiva, anticancerígena, contra a Doença de Alzheimer, bem como antiparkinsoniana (BARBOSA et al., 2022), justificando-se a escolha dos

compostos de cromonas e seus derivados contendo substituintes de selênio para este estudo.

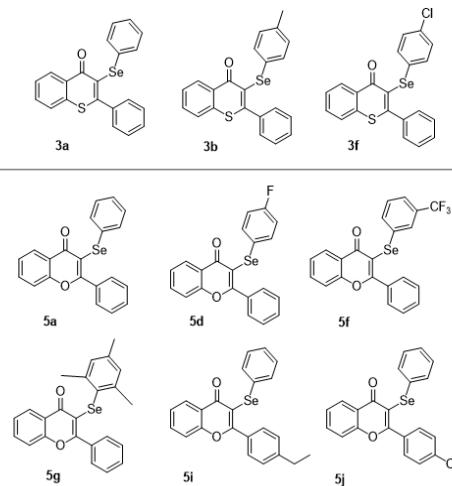


Figura 1 - Estruturas químicas dos compostos derivados de tiocromonas (3a, 3b e 3f) e cromonas (5a, 5d, 5f, 5g, 5i e 5j) contendo selênio e diferentes grupamentos substituintes.

2. METODOLOGIA

Através de estudos de docagem molecular de 20 compostos, foram selecionados o composto 2-fenil-3-(fenilselanil)-4H-tiocromen-4-ona (3a) e seus derivados substituídos 3b e 3f, e 2-fenil-3-(fenilselanil)-4H-cromen-4-ona (5a) e seus derivados susbtituídos 5d, 5f, 5g, 5i e 5j com maior potencial de inibição da MAO-A e da MAO-B (dados não mostrados). Os nove compostos foram testados para a inibição das duas isoformas, em concentrações de 10 μ M e 200 μ M.

Para a condução do protocolo de avaliação da MAO *in vitro*, obteve-se previamente homogeneizados de cérebros de camundongos Swiss de acordo com o protocolo Soto-Steru *et al.* (2001), a fim de isolar frações enriquecidas de mitocôndrias. Todos os animais são provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas, sendo todos os experimentos realizados em conformidade com as normas do Comitê de Ética no Uso de Animais da UFPel (CEUA UFPEL 028361). As moléculas foram sintetizadas no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da UFPel. Como solvente, utilizou-se o dimetilsulfóxido (DMSO) como protocolo descrito por Krajl (1965).

Os nove compostos foram dissolvidos para concentrações finais de 10 μ M e 200 μ M, utilizando-se DMSO. Em microtubos, foram adicionados 100 μ L do tecido juntamente com 20 μ L do inibidor da isoforma oposta à de interesse — clorgilina (inibidor da MAO-A) para avaliação da MAO-B, ou pargilina (inibidor da MAO-B) para avaliação da MAO-A. As amostras foram incubadas por 5 minutos a 37 °C e, em seguida, adicionaram-se 10 μ L do veículo ou da droga em teste. Após nova incubação por 10 minutos a 37 °C, foram adicionados 20 μ L de quinuramina em concentrações adequadas, prosseguindo-se com uma terceira incubação de 30 minutos a 37 °C. Com o objetivo de interromper a reação de inibição, adicionou-se 300 μ L de ácido tricloroacético (TCA 10%), seguida de centrifugação a 13.000 rpm por 5 minutos. Do sobrenadante, 800 μ L foram transferidos para tubos de ensaio, aos quais foram adicionados 2 mL de hidróxido de sódio 1 M (NaOH 1 M). A fluorescência foi então determinada em fluorímetro em excitação de 315 nm, emissão de 380 nm e feixe 5, utilizando cubetas de quartzo.

A análise estatística foi realizada 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, sendo considerados significativos quando possuíam valores de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os derivados de tiocromonas e cromonas contendo selênio selecionados através da docagem molecular foram avaliados quanto à sua capacidade de inibir a atividade da MAO A e B com diferentes substituintes na sua estrutura. Os experimentos demonstraram que as moléculas 3a, 3f, 5a, 5d, 5f, 5g, 5i e 5j não apresentaram inibição significativa da atividade da MAO-A tanto na concentração 10 μ M quanto 200 μ M. Porém como exceção, a molécula 3b, na concentração de 200 μ M apresentou inibição da isoforma A. Quanto à atividade inibitória da MAO-B, todas as nove moléculas apresentaram efeito de inibição significativa a partir da concentração de 10 μ M (Figura 2).

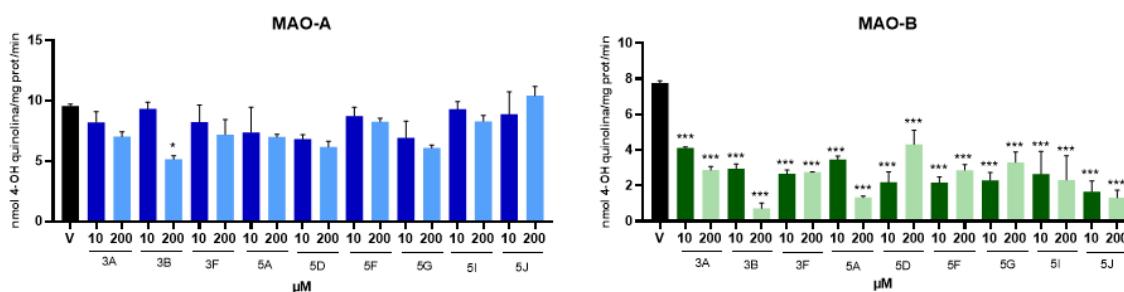


Figura 2 - Efeito dos compostos derivados de tiocromonas e cromonas contendo selênio nas atividades da MAO-A e MAO-B em fração concentrada de mitocôndrias de homogenato de cérebro de camundongos. Os dados representam a média \pm EPM, sendo $n=3$, e os resultados estão expressos como nmol 4-OH quinolina/mg de proteína/minuto. (*) $p < 0,05$, (**) $p < 0,01$ e (***) $p < 0,001$ quando comparados ao grupo veículo (V).

A partir dessas curvas, foram feitos os cálculos de percentual inibitório para os compostos que apresentaram maior inibição da isoforma B. A Tabela 1 apresenta os valores de inibição das moléculas 3b, 5a e 5j.

Tabela 1 - Valores do percentual de inibição da isoforma pelas moléculas 3b, 5a e 5j nas concentrações de 10 μ M e 200 μ M em comparação ao grupo veículo (V).

Molécula	Concentração (μ M)	% Inibitório
3b	10	61,74
	200	90,66
5a	10	55,12
	200	82,75
5j	10	78,47
	200	82,75

Com base nos dados da Tabela 1, pode-se inferir que a adição do grupamento metila na posição para da molécula 3b (derivado de tiocromona) leva a um aumento na inibição da isoforma B. Quando analisada a molécula 2-fenil-3-(fenilselanil)-4H-cromen-4-ona (5a), infere-se também um aumento na inibição quando comparado ao seu análogo 2-fenil-3-(fenilselanil)-4H-tiocromen-4-ona (3a). Em relação à molécula 5j, pode-se deduzir que a introdução do cloro (Cl) na posição para aumenta a inibição para a MAO-B apenas na concentração de 10µM quando comparado à molécula da qual é derivada (5a).

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados *in vitro* obtidos e apresentados neste trabalho, os nove compostos derivados de tiocromonas e cromonas contendo selênio e com diferentes substituintes inibiram de forma significativa a atividade da isoforma B da MAO, demonstrando seletividade, o que pode ser uma estratégia interessante para redução de efeitos adversos de inibidores não seletivos da MAO. Considerando a afinidade da MAO-B pela dopamina e o papel crucial desta na doença de Parkinson, as moléculas tornam-se possíveis candidatos a agentes farmacológicos, necessitando ainda de investigações mais detalhadas destes compostos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA F. A. R., CANTO, R. F. S., TEIXEIRA, K. F., SOUZA, A. S., OLIVEIRA, A. S. AND BRAGA, A. L. *Curr. Med. Chem.*, 2022, DOI: 10.2174/0929867329666220224161454.
- 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.
- KALUDERCIC, N.; RUTH JEPCHIRCHIR ARUSEI; FABIO DI LISA. Recent advances on the role of monoamine oxidases in cardiac pathophysiology. *Basic research in cardiology*, v. 118, n. 1, 4 out. 2023.
- KRAJL, M.C. A rapid microfluorimetric determination of monoamine oxidase. *Biochem Pharmacol.* v. 14, p. 1683–1685, 1965.
- MESITI, F. et al *Med. Chem.*, 2021, 64, 11169.
- NAFFAA, M. M. Monoamine Oxidase B in Astrocytic GABA Synthesis: A Central Mechanism in Neurodegeneration and Neuroinflammation. *Journal of Cellular Signaling*, v. 6, n. 2, p. 53–70, 2025.
- SIMÕES, CLAUDIA M. OLIVEIRA (2001). *Farmacognosia da Planta ao Medicamento*. Florianópolis: UFSC. 1104 páginas
- 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.
- WESTLUND, K. N. et al. Intracellular distribution of monoamine oxidase A in selected regions of rat and monkey brain and spinal cord. *Brain Research*, v. 612, n. 1-2, p. 221–230, 1993.