UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos

Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção

Dissertação

Atividade do tipo ansiolítica do 3-((4- metoxifenil)selanil)-2-fenilbenzofurano (SeBZF3) em camundongos: uma possível contribuição do sistema serotoninérgico

Larissa Sander Magalhães

Pelotas, 2023

Larissa Sander Magalhães

Atividade do tipo ansiolítica do 3-((4- metoxifenil)selanil)-2-fenilbenzofurano (SeBZF3) em camundongos: uma possível contribuição do sistema serotoninérgico

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Bioquímica e Bioprospecção).

Orientadora: Profa. Dra. Cristiani Folharini Bortolatto

Coorientador: Prof. Dr. César Augusto Brüning

Pelotas, 2023

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

M188a Magalhães, Larissa Sander

Atividade do tipo ansiolítica do 3-((4-metoxifenil)selanil)-2-fenilbenzofurano (SeBZF3 em camundongos : uma possível contribuição do sistema serotoninérgico / Larissa Sander Magalhães ; Cristiani Folharini Bortolatto, orientador ; César Augusto Brüning, coorientador. — Pelotas, 2023.

104 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. Ansiedade. 2. Sistema serotoninérgico. 3. Selênio. 4. Núcleo benzofurano. 5. Testes comportamentais. I. Bortolatto, Cristiani Folharini, orient. II. Brüning, César Augusto, coorient. III. Título.

CDD : 614.5822

Elaborada por Ubirajara Buddin Cruz CRB: 10/901

Larissa Sander Magalhães

Atividade do tipo ansiolítica do 3-((4- metoxifenil)selanil)-2-fenilbenzofurano (SeBZF3) em camundongos: uma possível contribuição do sistema serotoninérgico

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciências (Bioquímica e Bioprospecção), Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas.

Data de defesa: 07 de julho de 2023

Banca examinadora:

.....

Profª. Drª. Cristiani Folharini Bortolatto (Orientadora)

Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica Toxicológica) pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

.....

Drª. Angélica Schiavom dos Reis

Doutora em Ciências (Bioquímica e Bioprospecção) pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

.....

Drª. Rejane Giacomelli Tavares

Doutora em Ciências biológicas (Bioquímica) pela Universiade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Agradecimentos

Inicialmente gostaria de agradecer a Deus, por guiar meu caminho e muitas vezes mostrar luz onde não existia. Agradeço meus pais, Ramão e Sirlei, por serem minha base nessa jornada, sem eles nada seria possível, muitas vezes precisei de colo, e lá estavam eles, dispostos, amigos e atenciosos. Agradeço às minhas irmãs, Ticiane e Veridiana, em especial à minha irmã Ticiane, por me aconselhar nos meus momentos de choro e angústia e por sempre me manter sã nos momentos mais adversos. Agradeço à minha afilhada, Maria Luiza, por sorrir com o brilho que só ela tem nos olhos, por me abraçar do jeitinho que só ela me abraça. Agradeço ao Léo, que foi meu ombro amigo, meu conselheiro e minha paz nessa etapa da minha vida (e também agradeço por estar sempre disposto a emprestar o notebook quando o meu dava problema). Agradeço aos meus gatos, que estão sempre ao meu lado. Agradeço às minhas colegas e amigas de Laboratório. Agradeço à Letícia pelo apoio, instrução e palavras sábias. Agradeço à Amália, por compartilhar seus conhecimentos comigo e ser uma excelente profissional e colega, agradeço pelas nossas confraternizações e pelas ótimas momentos que tivemos juntas. Agradeço à Taís, pelas palavras maternas, por ser minha mãe no lab, sempre puxando minhas orelhas, agradeço pelo apoio e pelas boas risadas que demos juntas. Agradeço à Ediandra, por me instruir e ensinar nos meus primeiros meses de laboratório, por se tornar uma amiga especial e pela troca de risadas e histórias em meio aos experimentos. Agradeço à Dianer, por ser um ser humano incrível, paciente, sábia e uma confidente. Agradeço à Mariana, por ser minha melhor amiga, minha colega, minha dupla, minha confidente, aquela que esteve comigo em todos os piores e melhores momentos, me aconselhou, secou minhas lágrimas, riu e chorou comigo, dona dos melhores conselhos e dona das melhores piadas. Agradeço à todas as ICS: Yasmin, Andriéli e Natalia, por serem anjos na minha vida. Agradeço de forma geral a todos os colegas que conheci no LABIONEM, pela troca de experiências, pelos dias de risada e pelos momentos bons que passamos juntos, sentirei uma imensa falta de partilhar meu dia com eles. Agradeço à minha orientadora Cristiani, que me orientou e instruiu num momento difícil, sem ela nada disso teria sido possível, sou grata por sua orientação, explicação e didática. Agradeço ao meu coorientador César, que esteve sempre disposto à auxiliar quando eu tinha dúvidas. Agradeço ao PPGBBIO, por ser um exemplo de programa, por ter se tornado parte

da minha vida e minha história. Agradeço à banca, Angélica e Rejane, que disponibilizaram seu tempo para que pudessem ler e avaliar o meu trabalho. Agradeço à UFPel, ao Biotério central da UFPel e a CAPES, por tornarem tudo isso possível.

Alternativas

Na escuridão tracei rotas

Em busca de respostas.

Não conseguia enxergar

Em meio a amargura.

A ansiedade pairou em cima

Do interruptor da minha vida,

A depressão segurou a minha mão

Fazendo tudo parecer em vão.

A rachadura do piso me deixou intrigada

Como pode nascer uma flor no escuro,

Na sombra de um muro de inseguranças.

Ela crescia até alcançar um raio de sol,

Eu observava sua perseverança,

E dali nasceu minha

Esperança.

- Samantha A. Buchwitz

Resumo

MAGALHÃES, Larissa Sander. **Atividade do tipo ansiolítica do 3-((4-metoxifenil)selanil)-2-fenilbenzofurano (SeBZF3) em camundongos: uma possível contribuição do sistema serotoninérgico.** Orientadora: Cristiani Folharini Bortolatto. 2023. 102f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Bioprospecção) - Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

A ansiedade tem se tornado um dos principais transtornos ligados à incapacidade mortalidade. Os transtornos de ansiedade são as condições psiquiátricas mais frequentes na população mundial. O Brasil é está situado na quarta posição entre os países latinos no que concerna a prevalência de transtornos ansiosos. Compostos à base de selênio são interessantes do ponto de vista farmacológico, visto que estão sendo relacionados ao tratamento e modulação de transtornos mentais em estudos pré-clínicos. Nosso estudo teve como objetivo encontrar algum potencial candidato de eficácia do tipo-ansiolítica dentre a classe de compostos selanil-benzo[*b*]furanos (SeBZF**1-5**). O SeBZF**3** se destacou como efeito do tipo ansiolítico no teste claro escuro (LDT) na dose de 50 mg/kg realizado em camundongos swiss machos. Dessa forma, os camundongos foram pré-tratados por via oral com SeBZF**3** (5, 25 e 50 mg/kg, por via oral) ou veículo 30 min antes dos testes. O composto demonstrou efeitos do tipo ansiolítico no teste do claro escuro (TCE) e teste de supressão alimentar pela novidade (TSAN) na dose de 50 mg/kg, enquanto no teste do labirinto em cruz elevado (TLCE) foram observados efeitos significativos a partir da dose de 25 mg/kg. O teste de campo aberto (TCA) também foi realizado, visando descartar qualquer efeito psicoestimulante ou sedativos dos tratamentos, dessa forma, percebeu-se que paramêtros lomocotores e exploratórios não foram afetados. Com foco nos mecanismos serotoninérgicos, experimentos *in vivo* foram delineados para combinar o tratamento com SeBZF**3** à depleção central de serotonina ou drogas serotoninérgicas. O efeito ansiolítico do SeBZF**3** (50 mg/kg, i.g.) foi bloqueado pelo pré-tratamento com p-clorofenilalanina (*p*-CPA), um inibidor seletivo da triptofano hidroxilase (100 mg/kg, i.p. por 4 dias). Além disso, experimentos foram realizados para investigar a combinação de doses subefetivas de SeBZF**3** (5 mg/kg) com doses subefetivas de fluoxetina (inibidor seletivo da recaptação de serotonina, 5 mg/kg) ou buspirona (agonista parcial do receptor 5-HT_{1A}, 2 mg/kg) no TCLE. O tratamento

repetido com SeBZF**3** (1 e 5 mg/kg, i.g.) foi eficaz em causar efeitos do tipo ansiolíticos. Além disso, foi avaliada a capacidade do composto de inibir a atividade da monoamina oxidase A (MAO A) cerebral, enzima que degrada preferencialmente a serotonina. A coadministração de doses subefetivas de SeBZF**3** e fluoxetina ou buspirona teve alguns efeitos sinérgicos evidenciados pelo aumento do tempo gasto nos braços abertos e número de mergulhos de cabeça no TLCE. Resultados *in vitro* mostraram que SeBZF**3** (50 a 500 µM) inibiu a atividade da MAO-A cerebral. A atividade desta isoforma também foi inibida 4 horas após a administração oral do composto, conforme verificado por análises *ex vivo*. Além disso, a dose de 5 mg/kg de SeBZF**3** quando administrada repetidamente foi efetiva em inibir a enzima em análises *ex vivo*. Tomados em conjunto, esses dados demonstraram os efeitos do tipo ansiolítico do SeBZF**3** em camundongos e sugerem um possível envolvimento do sistema serotoninérgico, entretando mais estudos são necessários para elucidar maiores mecanismos envolvimentos na modulação do composto.

Palavras chaves: Ansiedade; Sistema serotoninérgico; Selênio; Núcleo benzofurano; Testes comportamentais.

Abstract

MAGALHÃES, Larissa Sander. **Anxiolytic-like activity of 3-((4-methoxyphenyl)selenanyl)-2-phenylbenzofuran (SeBZF3) in mice: a possible contribution of the serotonergic system.** Advisor: Cristiani Folharini Bortolatto. 2023. 102f. Dissertation (Master's in Biochemistry and Bioprospecting) - Center for Chemical, Pharmaceutical, and Food Sciences, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2023.

Anxiety has become one of the main disorders linked to disability and mortality. Anxiety disorders are the most frequent psychiatric conditions in the world's population. Brazil is ranked fourth among Latin countries in terms of the prevalence of anxiety disorders. Selenium-based compounds are interesting from a pharmacological point of view, as they are being related to the treatment and modulation of mental disorders in preclinical studies. Our study aimed to find some potential anxiolytic-like efficacy candidate among the class of selanyl-benzo[b]furans (SeBZF**1-5**). SeBZF**3** stood out as an anxiolytic-like effect in the light-dark test (LDT) at a dose of 50 mg/kg performed in male Swiss mice. Thus, the mice were orally pretreated with SeBZF**3** (5, 25 and 50 mg/kg, orally) or vehicle 30 min before the tests. The compound demonstrated anxiolytic-like effects in LDT and novelty suppressed feeding test (NSFT) at a dose of 50 mg/kg, while in the elevated plus maze test (EPMT) significant effects were observed from of the 25 mg/kg dose. The open field test (OFT) was also performed, aiming to rule out any psychostimulant or sedative effect of the treatments, thus, it was noticed that locomotor and exploratory parameters were not affected. Focusing on serotonergic mechanisms, *in vivo* experiments were designed to combine SeBZF**3** treatment with central serotonin depletion or serotonergic drugs. The anxiolytic effect of SeBZF**3** (50 mg/kg, i.g.) was blocked by pretreatment with p-chlorophenylalanine (*p*-CPA), a selective tryptophan hydroxylase inhibitor (100 mg/kg, i.p. for 4 days). In addition, experiments were performed to investigate the combination of subeffective doses of SeBZF**3** (5 mg/kg) with subeffective doses of fluoxetine (selective serotonin reuptake inhibitor, 5 mg/kg) or buspirone (5-HT1A receptor partial agonist, 2 mg/kg) in the EPMT. Repeated treatment with SeBZF**3** (1 and 5 mg/kg, i.g.) was effective in causing anxiolytic-like effects. In addition, the ability of the compound to inhibit the activity of brain monoamine oxidase A (MAO A), an enzyme that preferentially degrades serotonin, was evaluated. Co-administration of subeffective doses of

SeBZF**3** and fluoxetine or buspirone had some synergistic effects evidenced by increased time spent in the open arms and number of head dips in the EPMT. *In vitro* results showed that SeBZF**3** (50 to 500 µM) inhibited brain MAO-A activity. The activity of this isoform was also inhibited 4 hours after oral administration of the compound, as verified by *ex vivo* analyses. Furthermore, the 5 mg/kg dose of SeBZF**3** when administered repeatedly was effective in inhibiting the enzyme in *ex vivo* analyses. Taken together, these data demonstrate the anxiolytic-like effects of SeBZF**3** in mice and suggest a possible involvement of the serotonergic system, however further studies are needed to elucidate further mechanisms involved in modulating the compound.

Keywords: Anxiety; Serotonergic system; Selenium; Benzofuran; Behavioral tests.