

ATIVIDADE ANTICOLINESTERÁSICA DE COMPOSTOS ORGÂNICOS CONTENDO SELÊNIO EM CÓRTEX CEREBRAL DE CAMUNDONGOS

CAROLINE FERREIRA PEREIRA¹; MIKAELA PEGLOW PINZ²; BREND
GABRIELE TRINDADE DOS SANTOS³; ROBERTA CARGNELUTTI⁴; ETHEL
ANTUNES WILHELM⁵; CRISTIANE LUCHESE⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – carolinef.pereira@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – mikaelappinz@gmail.com

³Universidade Federal de Santa Maria –brenda_98_santos@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Santa Maria – rocargnelutti@yahoo.com.br

⁵Universidade Federal de Pelotas - ethelwilhelm@yahoo.com.br (coorientadora)

⁶Universidade Federal de Pelotas –cristiane_luchese@yahoo.com.br (orientadora)

1. INTRODUÇÃO

A enzima acetilcolinesterase (AChE) é responsável pela hidrólise do neurotransmisor acetilcolina encontrado no sistema nervoso central e periférico, atuando na modulação da neurotransmissão colinérgica (MARTINI et. al., 2015). É bem estabelecido que há uma relação entre o sistema colinérgico e a aprendizagem, a memória, a atenção e outros processos de cognição (VENTURA, 2007). Um prejuízo na função colinérgica tem sido associado com déficits cognitivos, como os observados na Doença de Alzheimer (DA) (SCHLIEBS e ARENDT, 2006). Atualmente, a terapia aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento da DA é constituída do uso de inibidores das colinesterases, como os fármacos tacrina, donepezila, rivastigmina e galantamina (LLEO et al., 2006; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2015). Contudo, estas substâncias apresentam utilização clínica limitada, principalmente devido aos seus efeitos adversos, especialmente a hepatotoxicidade, evidenciando assim a necessidade do desenvolvimento de novos anticolinesterásicos (CUMMINGHS et al., 2014). Neste sentido, nosso grupo de pesquisa tem se dedicado ao estudo da farmacologia e toxicologia de compostos contendo selênio. Recentemente Pinz e colaboradores (2018), demonstraram o efeito do composto 7-cloro-4-(fenilselenil)quinolina (4-PSQ) contra o comprometimento da memória e aprendizagem em um modelo de DA em camundongos, através do envolvimento das ações anticolinesterásica e antioxidante. Considerando a necessidade do estudo de compostos inibidores da AChE e o relevante potencial farmacológico dos compostos contendo selênio, o objetivo deste estudo foi investigar a ação anticolinesterásica de compostos contendo selênio em córtex cerebral de camundongos *in vitro*.

2. METODOLOGIA

2.1 Síntese

Os compostos contendo selênio, o *N*-(2-(3-(fenilselenil)propoxi)fenil)furan-2-carboxamidan (BS77) e o *N*-(2-(3-(fenilselenil)propoxi)fenil)tiofeno-2-carboxamida (BS78) foram sintetizados no Laboratório de Materiais Inorgânicos na Universidade de Santa Maria, RS (Figura 1).

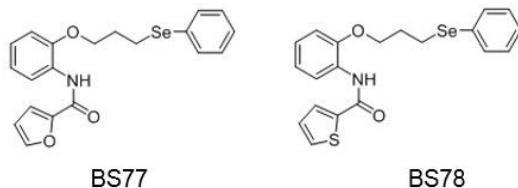


Figura 1- Estrutura química do *N*-(2-(3-(fenilselenil)propoxi)fenil)furano-2-carboxamidan (BS77) e do *N*-(2-(3-(fenilselenil)propoxi)fenil)tiofeno-2-carboxamida (BS78).

2.2 Atividade da enzima AChE *in vitro*

Para a realização desse ensaio, foram utilizados córtex cerebrais de camundongos machos da raça Swiss. Os experimentos foram conduzidos de acordo com as orientações da Comissão de Ética e Experimentação da UFPel (nº 1974-2016). Os tecidos foram homogeneizados em Medium I (0,32 M de sacarose; 5,0 mM de HEPES; 0,1 mM de ácido etilenodiaminotetracético sal dissódico) na proporção 1:10 (p/v). Posteriormente, o homogenato foi centrifugado a 900 xg durante 15 minutos e o sobrenadante foi utilizado no ensaio. A atividade da AChE cerebral foi determinada de acordo com o método de Ellman et al. (1961), com algumas modificações, usando iodeto de acetiltiocolina como substrato. Uma alíquota do sobrenadante do córtex cerebral foi pré-incubada durante 2 min a 25°C na presença de diferentes concentrações dos compostos, previamente diluídos em dimetilsulfóxido (1, 10, 100, 200 e 500 µM), em um meio contendo tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,5. A reação enzimática foi iniciada pela adição de 5,5-ditiobis (2-nitrobenzóico) (0,5 mM) e acetiltiocolina (0,8 mM). A taxa de hidrólise de iodeto de acetiltiocolina foi determinada espectrofotometricamente a 412 nm. A atividade da AChE foi expressa em µmol de acetiltiocolina/h/mg de proteína (Bradford 1976).

2.3 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média. Os dados foram avaliados através da análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste de Newman-Keuls, quando apropriado. Os resultados com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 2 representa o efeito *in vitro* dos compostos contendo selênio na atividade da AChE no córtex cerebral de camundongos. Os resultados demonstram que composto BS77 reduziu a atividade da AChE na concentração de 500 µM. Por outro lado, o composto BS78 não apresentou efeito inibitório na atividade desta enzima em nenhuma das concentrações testadas. Desta maneira, pode-se sugerir que o anel furânico presente na estrutura química do composto BS77 contribui para o efeito inibitório na atividade da AChE. De fato, este heterociclo oxigenado possui várias atividades biológicas descritas na literatura, como por exemplo, anti-inflamatória (BANERJEE,HKS,BANERJEE, 2012), antidepressiva (QUIANHUO et al., 2016), antioxidante (SHEN, et al., 2017), dentre outras. Além disso, o anel furânico é considerado promissor para o desenvolvimento de novos fármacos.

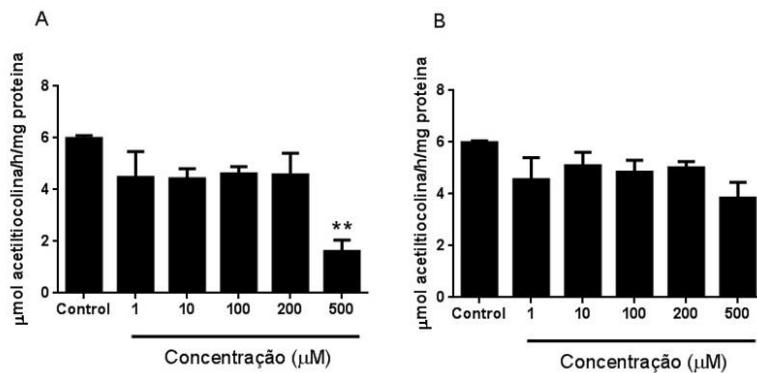


Figura 2- Efeito dos compostos contendo selênio, (A) BS77 e (B) BS78 na atividade da AChE *in vitro* em córtex cerebral de camundongos. Os dados estão apresentados como média \pm erro padrão da média de 3 experimentos independentes. () indica $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle (ANOVA de uma via/Newman-Keuls).**

4. CONCLUSÕES

Em conclusão, o composto BS77 apresentou efeito anticolinesterásico no córtex cerebral de camundongos *in vitro*, devido, provavelmente, a presença do anel furânico na estrutura química. Dessa forma, este composto pode representar uma possível alternativa terapêutica para o tratamento de déficit cognitivo em doenças, como por exemplo na DA. Além disso, outras estruturas cerebrais devem ser estudadas para verificar o efeito inibitório do composto, bem como analisar o efeito do mesmo em modelos de déficit cognitivo em camundongos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALZHEIMER ASSOCIATION. Clinical trials results and new data analyses in amyloidrelated therapies from the Alzheimer's association international conference 2015. Disponível em: 10 novembro 2017.

BANERJEE, R.; HKS, K. Banerjee, Medicinal significance of furan derivatives: A Review. **International Journal of Review in Life Sciences**, v.2, p.7 – 16, 2012.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.**, v. 72, p. 248, 1976.

CUMMINGS, J. L. Cholinesterase inhibitors: A new class of psychotropic compounds. **American Journal of Psychiatry**, Los Angeles, v.157, n.1, p.4-15, 2014.

ELLMAN, G. L; COURTNEY, K. D.; ANDRES, Jr. V.; FEATHERSTONE, M.R. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, California, v.7, n.1, p.88-95, 1961.

LLEO, A.; GREENBERG, S. M.; GROWDON, J.H. Current pharmacotherapy for Alzheimer's disease. **Annual Review Medicine** v. 57, p. 513-533, 2006.

MARTINI, F.; BRUNING, C. A.; SOARES, S. M.; NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G. Inhibitory Effect of Ebselen on Cerebral Acetylcholinesterase Activity In Vitro: Kinetics and Reversibility of Inhibition. **Current Pharmaceutical Design**, USA, v.21, n.7, p. 920-924, 2015.

PINZ, M.; REIS, A. S.; VOGT, A. G.; KRUGER, R.; ALVES, D.; JESSE, C.R. ; ROMAN, S.S.; SOARES, M.P. ; LUCHESE, C.; WILHELM E. A; Current advances of pharmacological properties of 7-chloro-4- (phenylselanyl) quinoline: Prevention of cognitive deficit and anxiety in Alzheimer's disease model, **Biomed Pharmacother**, USA.

QIANHUO, J.; MA, LIU YONG.; ZHANG, Z.; JINFAN, Z.; ZHANG, J. L.; BERYOZKINA, T. V.; BAKULEV, V. A. Synthesis and biological activity of novel N-(3-furan-2-yl-1H-pyrazol-5-yl) amides derivatives. **Chemical Letters**, Chinese, v. 27, p. 1547 – 1550, 2016.

SCHLIEBS, R.; ARENDT, T. The significance of the cholinergic system in the brain during aging and in Alzheimer's disease. **Journal of Neural Transmission**, Germany, v.133, n. 11, p.1625-1644, 2006.

SHEN, M.; ZHANG, F.; HONG, T.; XIE, J.; WANG, Y.; NIE, S.; SHEN, M.X. M. Comparative study of the effects of antioxidants on furan formation during thermal processing in model systems. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 286 – 292, 2017.

VENTURA, L. L.; ABREU, P. A.; FREITAS, C. C.; PLINIO, C.; SATHLER, N. L.; CASTRO, H. C. Colinergic system: revisiting receptors, regulation and the relationship with Alzheimer disease, schizophrenia, epilepsy and smoking. **Revista de Psiquiatria Clínica**, São Paulo, v.37, n.2, p.66-72, 2010.