

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

CAROLINE FERREIRA PEREIRA¹; MIKAELA PEGLOW PINZ²; BRENDA
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 neurotransmissor 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 (CUMMINGS 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)furano-2-carboxamida (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).

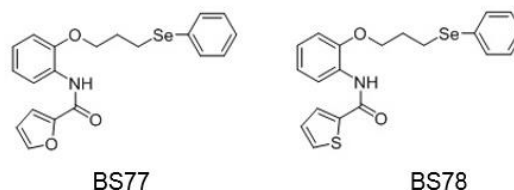


Figura 1- Estrutura química do *N*-(2-(3-(fenilselenil)propoxi)fenil)furano-2-carboxamida (BS77) e do *N*-(2-(3-(fenilselenil)propoxi)fenil)tiofeno-2-carboxamida (BS78).

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.

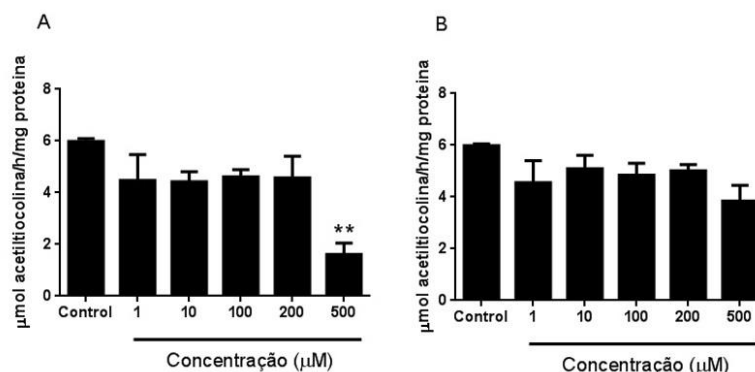


Figura 2- Efeito dos compostos contendo selênio, (A) BS77 e (B) BS78 na atividade da AChE *in vitro* em córtex cerebral de camundongos. Os dados estão apresentados como média \pm erro padrão da média de 3 experimentos independentes. (**) indica $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle (ANOVA de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