

## EFEITO ANTOCOLINESTERÁSICO DO COMPOSTO 7-CLORO-4-(FENILSELANIL)QUINOLINA (4-PSQ) EM UM MODELO DE DOENÇA DE ALZHEIMER EM CAMUNDONGOS

**JULIA VICENTE BONDI<sup>1</sup>; RENATA LEIVAS DE OLIVEIRA<sup>2</sup>; GABRIEL PEREIRA DA COSTA<sup>3</sup>; DIEGO ALVES<sup>4</sup>; ETHEL ANTUNES WILHELM<sup>5</sup>; CRISTIANE LUCHESE<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [juliavbiondi@gmail.com](mailto:juliavbiondi@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [renataleivas15@hotmail.com](mailto:renataleivas15@hotmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [gabrielpdacosta@hotmail.com](mailto:gabrielpdacosta@hotmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [diego.alves@ufpel.edu.br](mailto:diego.alves@ufpel.edu.br)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – [\(coorientadora\)](mailto:ethelwilhelm@yahoo.com.br)

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – [\(orientadora\)](mailto:cristiane_luchese@yahoo.com.br)

### 1. INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é um distúrbio neurodegenerativo que acomete indivíduos do mundo inteiro e sua prevalência tem crescido acentuadamente, estando presente em 3% dos indivíduos entre as idades de 65 e 74 anos, 17% das pessoas na faixa etária de 75 a 84 anos e 32% na população com mais de 85 anos (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2018; SCHÄFER et al. 2019). As principais características neuropatológicas da DA incluem a deposição extracelular de placas senis compostas de peptídeo  $\beta$ -amilóide ( $\beta$ a) em regiões corticais cerebrais, acompanhado da presença de emaranhados neurofibrilares intracelulares, compostos por proteína tau hiperfosforilada (OLSSON et al., 2016).

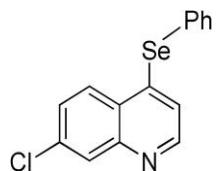
A deposição cerebral do peptídeo  $\beta$ a resulta em efeitos neurotóxicos, podendo induzir à morte celular, (SERRANO-POZO et al. 2011) resultando assim em efeitos característicos da DA como perda progressiva de memória, dificuldades de cognição e linguagem e, ainda, distúrbios comportamentais (SERENIKI; VITAL 2008). Por conseguinte, o modelo de indução da DA através da administração do peptídeo  $\beta$ a é amplamente utilizado para estudar este distúrbio (MEDEIROS et al. 2007). Outro fator importante observado em pacientes com a DA é o déficit colinérgico, presumindo que a disfunção cognitiva seja, portanto, explicada pela redução do neurotransmissor acetilcolina (Ach) ocasionada pelo aumento da atividade da acetilcolinesterase (AchE), enzima responsável por hidrolisar a Ach na fenda sináptica (NALIVAEVA; TURNER, 2016).

O tratamento da DA recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 2013) se dá através da utilização de medicamentos que proporcionam a redução dos sintomas, a fim de garantir melhor qualidade de vida, agindo em um curto período de tempo. Os tratamentos disponíveis atualmente para a DA são os inibidores da AChE (tacrina, donepezila, rivastigmina e galantamina) e um antagonista do receptor de glutamato N- Metil-D-Aspartato (NMDA) (memantina) (ALVES et al. 2012). Frente a isto, torna-se importante o desenvolvimento de novos tratamentos para esta doença que garantam a eficácia e segurança necessárias para o tratamento ideal e com menores efeitos adversos (DUTHEY, 2013).

Dante do nosso interesse na farmacologia de derivados de quinolina contendo selênio e da necessidade da pesquisa de compostos que atuem na DA, melhorando as funções colinérgicas, o objetivo deste estudo foi investigar o efeito do composto 7-cloro-4-(fenilselanil)quinolina (4-PSQ) no prejuízo de memória, bem como o seu efeito anticolinesterásico, em córtex pré-frontal de camundongos, em um modelo de DA induzido pelo peptídeo  $\beta$ a.

## 2. METODOLOGIA

Para a realização do protocolo experimental foram utilizados camundongos machos da raça Swiss (25-35g) provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Os procedimentos foram realizados de acordo com as orientações da Comissão de Etica e Experimentação Animal da UFPel (CEEA 1974-2016). O composto 4-PSQ (Figura 1) foi sintetizado de acordo com DUARTE et al. (2017) no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LaSOL) da UFPel.



**Figura 1.** Estrutura química do 4-PSQ.

Os animais foram tratados com o composto 4-PSQ por via intragástrica (i.g) (1 mg/kg), donepezila (controle positivo, 1 mg/kg, i.g.) ou óleo de canola (veículo do composto, 10 ml/kg, i.g.) 30 minutos antes da indução intracerebroventricular (i.c.v.) com o peptídeo  $\beta$  (2  $\mu$ l, 2,5 mg/ml) ou solução salina 0,9% (i.c.v.). Todos os animais foram previamente anestesiados com isoflurano, conforme descrito por IANISKI et al. (2012). Posteriormente, os animais foram divididos em 5 grupos experimentais, contendo 7 animais por grupo: (I) Controle (Salina (i.c.v.) + Óleo de canola (i.g)), (II) 4-PSQ (Salina (i.c.v.) + 4-PSQ (i.g)), (III)  $\beta$ a ( $\beta$ a (i.c.v.) + Óleo de canola (i.g)), (IV)  $\beta$ a + 4-PSQ ( $\beta$ a (i.c.v.) + 4-PSQ (i.g)) e (V) Controle positivo ( $\beta$ a (i.c.v.) + donepezila (i.g)). Os tratamentos foram realizados diariamente (uma vez por dia), até o término do protocolo experimental e no 6º e 7º dia foi realizado a tarefa da esquiva inibitória.

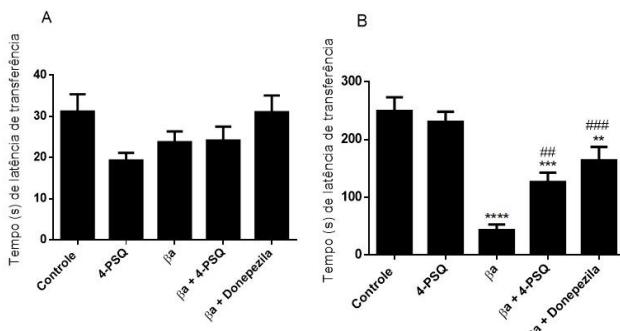
Segundo SAKAGUCHI et al. (2006), a tarefa da esquiva inibitória tem como objetivo avaliar a memória de longo prazo não espacial. Na sessão de treinamento (6º dia do protocolo experimental), os camundongos foram colocados em uma plataforma. Ao descer com as quatro patas em contato com a grade, os animais receberam um estímulo elétrico (0,5 mA) por 2 segundos até retornar à plataforma e permanecer por 1 minuto, indicando o aprendizado do animal na tarefa. O teste foi realizado 24 horas após o treino, no qual é contabilizado o tempo de descida da plataforma para a grade durante um tempo máximo de 300 segundos (sem o estímulo elétrico), chamado de tempo de latência de transferência.

Posteriormente, os animais foram submetidos a eutanásia, através da inalação com isoflurano, para a remoção do córtex pré-frontal, a fim de avaliar a atividade da enzima AchE, de acordo com ELLMAN et al. (1961). Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (S.E.M.). A análise estatística foi realizada utilizando a análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste de Newman Keuls. Os resultados com  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

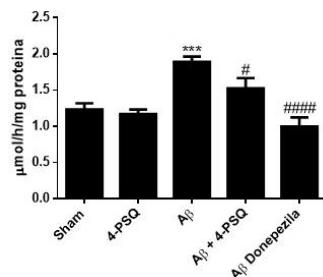
Conforme demonstrado na figura 2-A, no dia do treino na tarefa da esquiva inibitória não observou-se diferença significativa entre os grupos. Os resultados apresentados na figura 2-B revelam que o peptídeo  $\beta$ a reduziu o tempo de descida da plataforma, indicando que a  $\beta$ a causou um prejuízo de memória nos camundongos. Ainda, o pré-tratamento com o 4-PSQ e a donepezila foram capazes de aumentar o tempo de descida da plataforma quando comparado aos

animais induzidos. Desta maneira, estes resultados indicam que o 4-PSQ previneu o prejuízo na memória não espacial de longo prazo induzido pelo peptídeo  $\beta$ a.



**Figura 2.** Efeito do composto 4-PSQ no (A) treino e (B) na tarefa da esquia inibitória em camundongos após a indução com o peptídeo  $\beta$ a. (\*\*), (\*\*\*) e (\*\*\*\*) indicam  $p < 0,01$ ;  $p < 0,001$ ;  $p < 0,0001$  respectivamente, quando comparado ao grupo controle; (##) e (###) indicam  $p < 0,01$  e  $p < 0,001$  respectivamente, quando comparado com o grupo  $\beta$ a.

A figura 3 mostra o efeito dos tratamentos na atividade da enzima AChE no córtex pré-frontal dos camundongos. O peptídeo  $\beta$ a aumentou a atividade da AChE nesta estrutura cerebral e a administração do composto 4-PSQ protegeu contra o aumento na atividade desta enzima, levando a acreditar que o composto foi capaz de modular a disfunção na neurotransmissão colinérgica induzida pelo peptídeo  $\beta$ a.



**Figura 3.** Efeito do composto 4-PSQ na atividade da enzima AChE no córtex pré-frontal de camundongos após a indução com o peptídeo  $\beta$ a. Os dados são reportados como média  $\pm$  erro padrão da média (SEM). (\*\*\*)) indica  $p < 0,001$ , quando comparado ao grupo controle; (#) e (####) indicam  $p < 0,05$  e  $p < 0,0001$  respectivamente, quando comparado com o grupo  $\beta$ a.

#### 4. CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou que o composto 4-PSQ apresentou efeito neuroprotetor, prevenindo o prejuízo na memória em um modelo de DA em camundongos. Além disso, a modulação da atividade da AChE parece contribuir para o efeito neuroprotetor do composto. No entanto, mais estudos são necessários para melhor compreender os mecanismos de ação envolvidos na atividade do 4-PSQ.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, L.; CORREIA, A.S.; MIGUEL, R.; ALEGRIA, P.; BUGALHO, P. Alzheimer's disease: a clinical practice-oriented review. *Frontiers in Neurology*, v. 3, p. 1-20, 2012.  
 ASSOCIATION, ALZHEIMER'S. 2018 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*, v. 14, n. 5, p. 367-429, 2018.

- DUARTE, L.F.B.; BARBOSA, E.S.; OLIVEIRA, R.L.; PINZ, M.P.; GODOI, B.; SCHUMACHER, R.F.; LUCHESE, C.; WILHELM, E.A.; ALVES, D. A simple method for the synthesis of 4-arylselanyl-7-chloroquinolines used as in vitro acetylcholinesterase inhibitors and in vivo memory improvement. **Tetrahedron Letters**, v. 58, p. 3319-3322, 2017.
- DUTHEY, B. **Background Paper 6.11: Alzheimer Disease and other Dementias.** World Health Organization, 20 fev. 2013. Online. Disponível em: [https://www.who.int/medicines/areas/priority\\_medicines/BP6\\_11Alzheimer.pdf](https://www.who.int/medicines/areas/priority_medicines/BP6_11Alzheimer.pdf).
- ELLMAN, G.L.; COURTNEY, K.D.; JUNIOR, V.A.; FEATHERSTONE, R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, California, v. 7, n. 1, p. 88-95, 1961.
- HARMAN, D. The aging process. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 78, n. 11, p. 7124-7128, 1981.
- IANISKI, F.R.; ALVES, C.B.; SOUZA, A.C.; PINTON, S.; ROMAN, S.S.; RHODER, C.R.; ALVES, M.P.; LUCHESE, C. Protective effect of meloxicam-loaded nanocapsules against amyloid- $\beta$  peptide-induced damage in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 230, n. 1, p. 100-107, 2012.
- MEDEIROS, R.; PREDIGER, R.D.; PASSOS, G.F.; PANDOLFO, P.; DUARTE, F.S.; FRANCO, J.L.; DAFRE, A.L.; DI GIUNTA, G.; FIGUEIREDO, C.P.; TAKAHASHI, R.N.; CAMPOS, M.M.; CALIXTO, J.B. Connecting TNF-alpha signaling pathways to iNOS expression in a mouse model of Alzheimer's disease: relevance for the behavioral and synaptic deficits induced by amyloid beta protein. **Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 20, p. 5394-404. 2007.
- NALIVAEVA, N.N.; TURNER, A.J. AChE and the amyloid precursor protein (APP) - Cross-talk in Alzheimer's disease. **Chemico-Biological Interactions**, v. 259, p. 301-306, 2016.
- NUNOMURA, A. Involvement of oxidative stress in Alzheimer disease. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, v. 67, n. 7, p. 631-641, 2006.
- OLSSON, B.; LAUTNER, R.; ANDREASSON, U.; OHRFELT, A.; PORTELIUS, E.; BJERKE, M.; HOLTJA, M.; ROSÉN, C.; OLSSON, C.; STROBEL, G.; WU, E.; DAKIN, K.; PETZOLD, M.; BLENNOW, K.; ZETTERBERG, H. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Neurology**, v. 15, n. 7, p. 673-684, 2016.
- SAKAGUCHI, M.; KOSEKI, M.; WAKAMATSU, M.; MATSUMURA, E. Effects of systemic administration of beta-casomorphin-5 on learning and memory in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 530, p. 81-87, 2006.
- SCHÄFER, A.; WEICKENMEIER, J.; KUHL, E. The interplay of biochemical and biomechanical degeneration in Alzheimer's disease. **Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering**, Elsevier B. V., v. 352, p. 369-388, 2019.
- SERENIKI, A.; VITAL, M.A.B.F. Alzheimer's disease: pathophysiological and pharmacological features. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, v. 30, n. 1, 2008.
- SERRANO-POZO, A.; FROSCH, M.P.; MASLIAH, E.; HYMAN, B.T. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. **Cold Spring Harbor Perspect Med**, v. 1, n. 1, p. 1-24, 2011.
- ZVEROVÁ, M. Alzheimer's disease and blood-based biomarkers – potential contexts of use. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, v. 14, p. 1877-1882, 2018.