

TACRINA-SELÊNIO: UM HÍBRIDO PROMISSOR PARA O TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER

RAFAELA ALVARO XAVIER¹; RENATA L. DE OLIVEIRA²; LAUREN N. PUJOL³;
ROBERTO MORAIS⁴; DIEGO ALVES⁵; LUCIELLI SAVEGNAGO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – alvaroxavierraafaela@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – renataleivas15@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – laurennetto21@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – robertomorais500@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – dsalves@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – lucielisavegnago@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A Doença de Alzheimer (DA) é a forma mais comum de demência, responsável por cerca de 60 a 70% dos casos e apresenta como características notáveis a perda de memória e o déficit nas funções cognitivas e comportamentais (TENCHOV; SASSO; ZHOU, 2024). A crescente demanda por cuidados especializados tem sobrecarregado os sistemas de saúde, reforçando a urgência no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para a DA. Além do acúmulo de peptídeos β -amiloide e emaranhados da proteína TAU, a natureza multifatorial da DA envolve alterações como redução do neurotransmissor acetilcolina (ACh) e estresse oxidativo os quais são considerados marcadores relevantes da doença (ZARETSKY & ZARETSKAIA, 2021).

A Tacrina, comercializada como Cognex®, foi aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA) em 1993 para tratar a DA e atua bloqueando a degradação da ACh inibindo a enzima acetilcolinesterase (AChE). No entanto, foi retirada do mercado após cinco anos devido à toxicidade hepática e outros efeitos adversos, resultantes de metabólitos reativos que induzem o desequilíbrio redox e interagem com o DNA (MITRA et al., 2022).

Desde então, intensificou-se a busca por fármacos mais eficazes no tratamento da DA, capazes de minimizar os efeitos adversos sem comprometer o potencial terapêutico. Nesse contexto, compostos orgânicos contendo selênio têm despertado grande interesse no tratamento de doenças neurodegenerativas como a DA, devido às suas propriedades como a capacidade antioxidante, neuroprotetora e anti-inflamatória (BIRMAN et al., 2022).

Com base nessas características, foi desenvolvido um híbrido de Tacrina contendo selênio (TSe), com o intuito de preservar a inibição da AChE, incorporar propriedades antioxidantes e, assim, reduzir a toxicidade e ampliar os benefícios clínicos. Diante disso, este trabalho tem como objetivo avaliar, por meio de abordagens *in silico* e *in vitro*, as propriedades antioxidantes e inibitórias deste composto frente à Tacrina.

2. METODOLOGIA

2.1. Composto

O composto da Tacrina contendo selênio (TSe) foi sintetizado pelo Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da Universidade Federal de Pelotas. O mesmo foi diluído em dimetilsulfóxido (DMSO) nas concentrações finais de 10, 50, 100 e 500 μ M. Ácido ascórbico (Sigma-Aldrich) na concentração de 500 μ M foi utilizado como controle positivo, água como controle negativo e DMSO como veículo para todos os testes *in vitro*.

2.2. Atividade *scavenger* do radical DPPH

O método utilizado para avaliar a capacidade antioxidante dos compostos por meio da atividade sequestrante dos radicais livres 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) foi adaptado de CHOI e colaboradores (2002). Na presença de um antioxidante, o DPPH é reduzido, formando difenil-picril-hidrazina de coloração amarela, resultando em uma diminuição da absorção. Essa redução na absorbância pode ser monitorada para avaliar a atividade antioxidante por espectrofotometria a um comprimento de onda de 517 nm.

2.3. Atividade *scavenger* do radical ABTS

A atividade antioxidante pelo método do 2,2'-azino-bis(3-etylbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) foi determinada conforme descrito por RE et al. (1999). Para isso, a solução de ABTS (7 mM) foi preparada com persulfato de potássio (140 mM) e incubada por 30 minutos à temperatura ambiente, protegida da luz. A reação do composto com o radical ABTS⁺ resulta na neutralização do mesmo, promovendo a mudança de cor de turquesa para incolor, a qual foi quantificada por espectrofotometria a 734 nm.

2.4. Potencial redutor do íon férrico (Fe³⁺) (FRAP)

O potencial redutor foi avaliado pelo ensaio FRAP (STRATIL et al., 2006), no qual os compostos reagem com a solução FRAP (acetato de sódio 38 mM, FeCl₃ 20 mM e triazina 10 mM / HCl 40 mM) e, ao reduzir íons férricos a ferrosos, promovem mudança de cor de amarela para roxa. A atividade foi quantificada por espectrofotometria a 593 nm após incubação a 37 °C por 40 minutos.

2.5. Docking molecular

Os estudos de *docking* proteína-ligante foram realizados com a estrutura cristalina da enzima AChE, obtida do Protein Data Bank (PDB). O *docking* molecular foi conduzido com o programa AutoDock Vina (MORRIS et al., 2009), e a interface PyRx (DALLAKYAN; OLSON, 2015). A energia livre de ligação foi avaliada sendo analisadas as interações entre os ligantes (Tacrina e Tse) e os resíduos da proteína, como ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas, com o auxílio do *Discovery Studio*. Os resultados de energia livre de ligação (ΔG) foram expressos em valores negativos de Kcal/mol, indicando a eficácia das interações.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises antioxidantes estão apresentados na figura 1. No ensaio com DPPH, o composto TSe promoveu apenas uma discreta redução do radical nas concentrações de 50 e 100 μ M ($p < 0,05$). Contudo, os índices de neutralização permaneceram significativamente inferiores ao controle positivo ($p < 0,001$).

No ensaio com ABTS, o composto TSe apresentou atividade antioxidante nas concentrações testadas (10–500 μ M), com percentuais de neutralização inferiores ao controle positivo. Embora algumas concentrações (50 e 100 μ M) tenham mostrado variações estatisticamente significativas ($p < 0,01$ e $p < 0,001$), a porcentagem de neutralização não ultrapassou 30%. No teste FRAP, a TSe apresentou efeito antioxidante apenas na maior concentração testada (500 μ M), evidenciado por um aumento significativo da absorbância em relação ao controle negativo, alcançando valores semelhantes aos do controle positivo ($p < 0,001$).

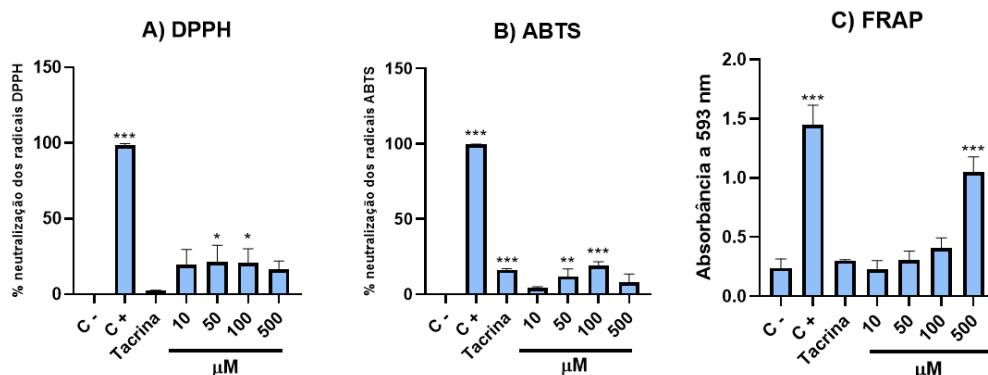


Figura 1. Atividade antioxidante do composto TSe avaliada pelos ensaios DPPH (A), ABTS (B) e FRAP (C). Os dados estão expressos em média \pm erro padrão da média ($n= 3$). A significância estatística foi considerada para $*p < 0,05$, $**p < 0,01$ e $***p < 0,001$ quando comparado com o controle negativo. As análises foram feitas por ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Tukey.

O Docking molecular realizado com a AChE indicou uma energia livre de ligação (ΔG) de -12,7 kcal/mol, sugerindo uma interação altamente favorável entre o ligante (TSe) e o alvo (Figura 2). A análise das interações demonstradas na figura 2B, revelou uma rede complexa de ligações não covalentes, incluindo interações pi-pi stacked, pi-sigma e van der Waals envolvendo resíduos-chave do sítio ativo como triptofano (TRP), tirosina (TYR), fenilalanina (PHE) e valina (VAL). As interações não covalentes demonstradas contribuem para a estabilidade e afinidade do ligante com a enzima, corroborando o valor negativo de ΔG e sugerindo um potencial inibidor promissor do composto contra a AChE.

Comparado à Tacrina pura, que apresentou um ΔG de -9,3 kcal/mol, o valor de -12,7 kcal/mol indica uma interação mais forte, pois um valor de ΔG mais negativo indica uma ligação mais estável e uma maior afinidade entre o ligante e a enzima, sugerindo que o composto testado tem um potencial inibitório superior à Tacrina, além das propriedades antioxidantes conferidas pela adição do selênio demonstradas pelos testes *in vitro*.

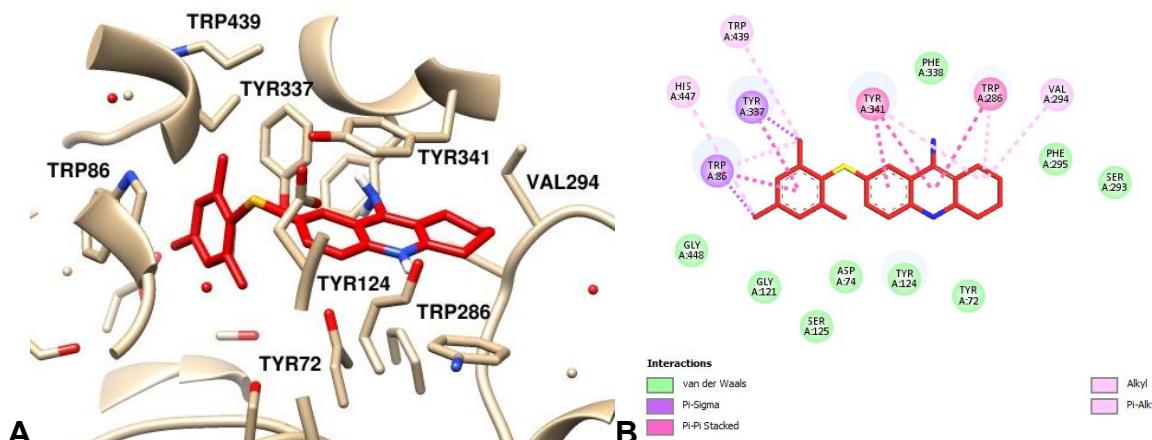


Figura 2. Mapa de interação do composto TSe e AChE. Melhor orientação ligante receptor (A) e interação 2D evidenciando as principais interações no sítio ativo (B).

4. CONCLUSÕES

O composto TSe apresentou potencial terapêutico relevante, reunindo propriedades antioxidantes e inibitórias sobre a AChE. Os estudos de docking indicaram maior afinidade do TSe em relação à Tacrina, sugerindo um inibidor mais robusto da AChE. Esses achados reforçam que a introdução do selênio potencializa a atividade da molécula, destacando o TSe como candidato promissor para o tratamento da DA, merecendo avaliações adicionais sobre sua eficácia e segurança.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIRMANN, P. T. et al. Neuropharmacology of Organoselenium Compounds in Mental Disorders and Degenerative Diseases. **Current Medicinal Chemistry**, v. 29, 15 jun. 2022.
- CHOI, C. W. et al. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. **Plant Science**, v. 163, n. 6, p. 1161–1168, dez. 2002.
- DALLAKYAN S, OLSON AJ. Small-molecule library screening by docking with PyRx. **Methods Mol Biol.** 2015;1263:243-50. doi: 10.1007/978-1-4939-2269-7_19.
- MITRA, S. et al. Tacrine Derivatives in Neurological Disorders: Focus on Molecular Mechanisms and Neurotherapeutic Potential. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, p. 1–22, 18 ago. 2022.
- MORRIS, GM. Et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **J Comput Chem.** 2009 Dec;30(16):2785-91. doi: 10.1002/jcc.21256.
- RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231–1237, maio 1999.
- STRATIL, P.; KLEJDUS, B.; KUBÁŇ, V. Determination of Total Content of Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Vegetables Evaluation of Spectrophotometric Methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 3, p. 607–616, fev. 2006.
- TENCHOV, R.; SASSO, J. M.; ZHOU, Q. A. Alzheimer's Disease: Exploring the Landscape of Cognitive Decline. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 15, n. 21, 11 out. 2024.
- ZARETSKY, D.V., & ZARETSKAIA, M.V. Mini-review: Amyloid degradation toxicity hypothesis of Alzheimer's disease. **Neurosci Lett** 756, 135959, 2021.