



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Maria Eugénia Pinto Miranda

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Serotonergic Targets in Alzheimer’s Disease – What’s New?” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação do Dr. António Peres, da Dra. Cristina Toscano e da Professora Doutora Sónia Silva Santos, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2021



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Maria Eugénia Pinto Miranda

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Serotonergic Targets in Alzheimer’s Disease – What’s New?” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação do Dr. António Peres, da Dra. Cristina Toscano e da Professora Doutora Sónia Silva Santos, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2021

Eu, Maria Eugénia Pinto Miranda, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2016224228, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Serotonergic Targets in Alzheimer’s Disease – What’s New?” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 10 de setembro de 2021.

Maria Eugénia Pinto Miranda

(Maria Eugénia Pinto Miranda)

AGRADECIMENTOS

Ao longo da vida temos pessoas que estão presentes desde que nos lembramos, conhecemos outras que se vão mantendo e esperamos conhecer mais que também permaneçam, todas são representativas do nosso percurso, seja pessoal, seja profissional, e a todas devo agradecer por delinear a pessoa que sou e pelas conquistas que tenho hoje.

Aos meus pais e irmã pela dedicação em me moldarem na pessoa que sou hoje, pelos valores transmitidos e por acreditarem sempre no meu sucesso.

Às amigas e amigos que tive o prazer de conhecer na faculdade e que, desde então, me acompanharam durante os bons e menos bons cinco anos decorrentes. Tornaram-se para a vida toda.

Às amigas de longa data, todo o meu percurso tem mais força com vocês do meu lado, mesmo que não estejamos sempre cara-a-cara.

À minha madrinha e tio por estarem sempre presentes e tornarem o meu caminho mais entusiasmante e sorridente.

À minha avó e avô pelo apoio e orgulho incondicional diário, por me transmitirem bondade e humildade, conseguindo aplicá-la na minha vida pessoal e profissional.

À equipa da Farmácia São Pedro, a quem posso chamar a todos de colegas e amigos, por me proporcionarem um estágio enriquecedor e por me acompanharem agradavelmente neste caminho. São o exemplo de como uma equipa deve comunicar e “abraçar” pessoas novas.

À equipa do DARFV pela receção e aprendizagem que obtive excecionais. Ao LEF pela oportunidade de estagiar numa empresa farmacêutica.

À Professora Doutora Sónia Silva Santos pela atenção e disponibilidade no processo de escrita deste meu grande desafio.

Agradeço genuinamente.

Índice

PARTE I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária	6
LISTA DE ABREVIATURAS	6
1. INTRODUÇÃO	7
2. ANÁLISE SWOT	8
2.1. Pontos Fortes	8
2.1.1. Localização da Farmácia.....	8
2.1.2. Equipa Técnica	9
2.1.3. Entrega ao Domicílio.....	9
2.1.4. Preparação de Medicação Individualizada	9
2.1.5. Medicamentos oftálmicos.....	10
2.2. Pontos Fracos.....	10
2.2.1. Escassa Preparação de Medicamentos Manipulados.....	10
2.2.2. Inexistência de Serviços Farmacêuticos Clínicos	11
2.3. Oportunidades	11
2.3.1. Dispensa de Medicação Hospitalar	11
2.3.2. Diversidade de Utentes	11
2.3.3. Formações das Várias Marcas	12
2.3.4. Dispensa de Medicamentos Limitada.....	12
2.4. Ameaças.....	13
2.4.1. Medicamentos Esgotados	13
3. CASOS PRÁTICOS	13
4. CONCLUSÃO.....	16
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17

PARTE II

Relatório de Estágio no LEF – Laboratório de Estudos Farmacêuticos	18
LISTA DE ABREVIATURAS	19
1. INTRODUÇÃO	20
2. DEPARTAMENTO DE ASSUNTOS REGULAMENTARES E FARMACOVIGILÂNCIA (DARFV).....	21
3. ANÁLISE SWOT	21
3.1. Pontos Fortes	21
3.1.1. Receção do LEF.....	21
3.1.2. Variedade de Produtos	22
3.1.3. Aprendizagem Técnica e Pessoal.....	22
3.1.4. Desenvolvimento de Competências Computacionais	23
3.2. Pontos Fracos.....	23

3.2.1. Tempo de Estágio Limitado	23
3.2.2. Contacto Escasso com os Outros Departamentos	24
3.3. Oportunidades	24
3.3.1. Formações Internas	24
3.3.2. Formações Externas/Congressos	24
3.4. Ameaças	25
3.4.1. Atualidade em AR e FV	25
3.4.2. Quantidade Elevada de Empresas no Setor dos AR e FV	25
4. CONCLUSÃO	26
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

PARTE III

“Serotonergic Targets in Alzheimer’s Disease – What’s New?”

Monografia.....	28
LIST OF FIGURES.....	29
LIST OF ABBREVIATIONS	30
Abstract	32
<i>Resumo</i>	33
I. Alzheimer’s Disease	34
I.1. Epidemiology	35
I.2. Neurochemical Basis of Alzheimer’s Disease	35
I.2.1. Cholinergic Hypothesis.....	35
I.2.2. Amyloid Cascade Hypothesis.....	36
I.2.3. Tau Hypothesis.....	37
I.3. Diagnostic.....	38
2. Current Pharmacological Treatment.....	39
2.1. Acetylcholinesterase Inhibitors (AChEI’s)	40
2.2. N-methyl-D-aspartate (NMDA) Receptor Antagonists.....	40
3. New Therapeutic Approaches.....	41
3.1. Serotonin Pathway.....	41
3.2. Serotonin Receptors.....	43
3.2.1. 5-HT _{1A} Receptors.....	44
3.2.2. 5-HT ₄ Receptors	45
3.2.3. 5-HT ₆ Receptors	48
3.3. Targeting Multiple Serotonin Receptors	52
4. Multitarget-Directed Ligands (MTDL).....	53
4.1. Design of Donecopride	54
4.2. Donecopride Evaluation.....	54
5. Conclusion.....	56
6. References	58

PARTE I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

LISTA DE ABREVIATURAS

COVID-19 *Coronavirus disease 2019*

FFUC Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

HbA1c Hemoglobina glicada

MICF Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MSRM Medicamentos sujeitos a receita médica

SWOT *Strengths, Weakness, Opportunities and Threats*

I. INTRODUÇÃO

Desde o primeiro ano que inicia o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) existe uma formação académica que consciencializa o aluno do papel e valor que o farmacêutico tem como especialista do medicamento, em todas as áreas em que este é considerado essencial. Como tal, o estudante é confrontado com as várias realidades da profissão farmacêutica, sendo que no último ano do curso tem a oportunidade de realizar um período de estágio numa farmácia comunitária, onde poderá expor todos os conhecimentos teóricos que foi adquirindo e apreender novas competências técnicas e pessoais fundamentais para a sua vida profissional futura.

Atualmente, o farmacêutico tem vindo a alcançar um maior destaque entre a população, sendo a farmácia o local onde uma pessoa prontamente se dirige quando necessita, demonstrando assim a confiança depositada neste profissional de saúde. O utente sabe que na farmácia não ocorre apenas a dispensa do medicamento, mas acima de tudo tem a garantia de um atendimento que promove a sua saúde e bem-estar.

O presente relatório diz respeito ao estágio que realizei na Farmácia São Pedro, nos Jardins da Parede, sob orientação do Dr. António Peres, que iniciou no dia 12 de janeiro de 2021 e terminou no dia 30 de abril de 2021, com a duração total de 670 horas. Este período de aprendizagem coincidiu com o começo do segundo confinamento devido ao novo coronavírus, o que dificultou a realização de um estágio pleno, no entanto, trouxe, também, situações esperançosas. O objetivo deste é apresentar uma análise SWOT (do inglês Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats), que avalia os aspetos que influenciaram o meu estágio relativamente a dois níveis, sendo que a nível interno abordarei os Pontos Fortes (*Strengths*) e os Pontos Fracos (*Weaknesses*) e a nível externo referirei as Oportunidades (*Opportunities*) e as Ameaças (*Threats*).

2. ANÁLISE SWOT

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Localização da Farmácia

A Farmácia São Pedro situa-se numa zona de habitação privilegiada de Cascais onde existem diversos locais de comércio, um hospital veterinário, lares de idosos, consultórios privados, clínicas dentárias e médicas, sendo também importante referir que nas suas

imediações não existe outra farmácia, o que permite haver uma afluência bastante elevada, heterógena e constante. Este fator contribuiu para contactar com pessoas de todas as faixas etárias, com diferentes graus de literacia e condições socioeconómicas, tendo, assim, de adequar o meu atendimento a cada utente.

2.1.2. Equipa Técnica

A equipa é constituída por seis farmacêuticos, dois técnicos e dois técnicos auxiliares, o que inicialmente considerei um número elevado, mas rapidamente apercebi-me que a farmácia tem um movimento igualmente grande, tanto no volume de encomendas que se rececionam diariamente, como no número de utentes que chegam de minuto a minuto, sendo fundamentais os dez profissionais de saúde que existem. Estes mantêm o excelente funcionamento, gestão da farmácia e garantem o sentimento de familiaridade em todos os clientes que se dirigem a esta.

Desde o início constatei um ambiente de entreatajuda e boa disposição de toda a equipa, o que facilitou a minha aprendizagem e interesse em adquirir e consolidar conhecimentos. Para além de se mostrarem sempre disponíveis em auxiliarem-me nas várias tarefas e colocarem-me à vontade para expor as minhas dúvidas, mostraram total confiança nas minhas capacidades, o que favoreceu muito a minha presença na farmácia e o meu sucesso no estágio.

2.1.3. Entrega ao Domicílio

Na atualidade em que vivemos, a própria farmácia teve de adaptar os seus serviços, sendo que passou a existir a entrega ao domicílio dos vários medicamentos que os utentes requerem, com um custo associado. Deste modo, a pessoa comunica com a farmácia, via telefónica ou via *e-mail*, solicitando os medicamentos sujeitos ou não sujeitos a receita médica (no caso de ser MSRM a receita é enviada por *e-mail*) que necessita, procedendo ao seu pagamento através de transferência bancária ou multibanco no ato de entrega. Ainda tive a possibilidade de auxiliar neste processo, atendendo à chamada do utente e completando o seu pedido, podendo intervir fornecendo aconselhamento farmacêutico caso fosse necessário.

2.1.4. Preparação de Medicação Individualizada

A farmácia prepara individualmente a medicação semanal ou mensal para determinados utentes. Posteriormente, dirige-se à farmácia o próprio ou um familiar para recolher a medicação embalada, devidamente, em caixas próprias fornecidas pela *multimeds* e proceder ao seu pagamento, tendo este serviço um custo associado.

Assim, durante este processo que, também, ajudei a realizar, as fichas dos utentes vão sendo atualizadas e verificadas mais regularmente, o que proporciona um maior acompanhamento farmacoterapêutico, detetando erros na terapêutica mais facilmente. Adicionalmente considerei uma vantagem, aquando da preparação da medicação, a capacidade que adquiri de fazer associações relativamente à patologia que o utente poderia ter, tendo em conta a medicação que estava a tomar.

2.1.5. Medicamentos oftálmicos

Com o decorrer do estágio verifiquei que grande parte das pessoas que se deslocava à farmácia queixava-se de “olhos inchados”, “comichão e ardor nos olhos” ou “olhos com pouca lágrima”, procurando aconselhamento sobre o que poderia aplicar para aliviar e/ou parar os sintomas. Inicialmente, apercebi-me que possuía um elevado desconhecimento nesta área, tendo sempre que pedir ajuda, de modo a satisfazer o pedido do utente da melhor forma. Posteriormente, já conseguia ter um melhor desempenho, dando a informação necessária perante as preocupações do cliente.

Denotei, assim, uma falha muito grande no plano curricular do curso de MICF da UC, dado que, apesar de vasto, não providencia uma formação na área da oftalmologia, o que me prejudicou nos atendimentos que realizei na farmácia. No entanto, considerei um ponto forte ao longo do estágio, uma vez que a minha prestação no aconselhamento desta área foi evoluindo devido ao auxílio e informação sobre o tema que a equipa da farmácia me forneceu e esclareceu.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Escassa Preparação de Medicamentos Manipulados

A preparação de medicamentos manipulados existe, essencialmente, como forma de responder às diferentes necessidades terapêuticas de cada indivíduo, sendo uma alternativa importante que se deve realizar em todas as farmácias. No entanto, na Farmácia São Pedro não é frequente haver a preparação destes, o que considero ser uma falha na minha aprendizagem, dado que não fui capaz de colocar em prática conceitos que adquiri em unidades curriculares que fazem parte do curso de MICF da UC.

Contudo, ainda tive a oportunidade de auxiliar na preparação de uma solução alcoólica de ácido bórico à saturação, de acordo com a monografia de preparação presente no Formulário Galénico Português, solução esta utilizada no tratamento tópico de otites, e no preenchimento da Ficha de Preparação do Medicamento Manipulado.

2.2.2. Inexistência de Serviços Farmacêuticos Clínicos

No curso de MICF da UC, especificamente nos últimos dois anos, somos confrontados com as várias mudanças que podem ser feitas no setor da farmácia comunitária, relativamente à importância que o farmacêutico pode alcançar na sociedade. Para tal, existem inúmeros serviços farmacêuticos clínicos que podem ser prestados e que, atualmente, em Portugal, é raro serem, como por exemplo, a revisão da medicação, o acompanhamento farmacoterapêutico ou a promoção da adesão à terapêutica, serviços estes que noutros países já são realizados e valorizados entre a população.

Na Farmácia São Pedro sinto que seria uma mais-valia para a relação entre utente-farmacêutico não serem apenas disponibilizados serviços físicos como a medição da pressão arterial, glicémia, colesterol, mas, também, haver serviços como os referidos anteriormente, dado que o farmacêutico tem características clínicas e científicas elevadas, julgamento clínico e conhecimento para poder tomar decisões no que diz respeito à terapêutica e bem-estar do doente e promover um uso mais racional do medicamento.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Dispensa de Medicação Hospitalar

Mais uma vez, devido à pandemia que se instalou mundialmente desde 2019, diversas alterações a nível da saúde tiveram que ser executadas, uma delas foi a dispensa de medicamentos hospitalares na farmácia comunitária, de modo a assegurar um circuito do medicamento mais seguro e respetiva dispensa. Assim sendo, o utente pode adquirir a sua medicação hospitalar na farmácia que habitualmente frequenta, entrando em contacto com a própria e com o hospital onde é seguido.

Face a esta nova medida consegui acompanhar a dispensa de vários medicamentos hospitalares, tendo participado na verificação e dispensa da medicação, que apenas pode ser feita por um farmacêutico, e no registo da respetiva entrega ao doente, através de um *e-mail* enviado pela linha SAFE.

Este procedimento, para além de beneficiar muito o utente, permite, também, salientar a importância da profissão farmacêutica perante a sociedade.

2.3.2. Diversidade de Utentes

Mesmo com o período de confinamento em que vivíamos, a afluência dos utentes à farmácia era muito elevada diariamente, não só dos já fidelizados, mas, também, de pessoas

que passavam pela zona e lá se dirigiam. Como tal, tive a possibilidade de prestar aconselhamento a pessoas com poderes económicos distintos, compreensão e conhecimento diversificados, o que me permitia adaptar o atendimento, de forma a tentar satisfazer todas as suas necessidades. Outro aspeto vantajoso foi o facto de ter de comunicar com muitos estrangeiros na língua inglesa que habitavam na área ou que estavam apenas de visita, proporcionando-me praticar a língua em contexto mais técnico e formal.

2.3.3. Formações das Várias Marcas

Ao longo do estágio, e apesar de todas as restrições implementadas devido ao novo coronavírus, tive a possibilidade de assistir presencialmente a várias sessões de formação das diversas marcas de produtos cosméticos e suplementos alimentares existentes na farmácia, realizadas pelos respetivos delegados de informação médica, tal como através de via *online*. Estas elucidam dados técnico-científicos, conceitos de mercado e técnicas de venda relevantes para a contínua formação do farmacêutico comunitário.

Uma das dificuldades com que me deparei mais frequentemente durante o atendimento foi a falta de informação relativamente aos produtos referidos, e os conteúdos apreendidos nessas formações contribuíram para que o meu aconselhamento perante o utente fosse mais informado, seguro e convicto da compra que estava a realizar.

2.3.4. Dispensa de Medicamentos Limitada

A situação pandémica inicial trouxe confusão, desespero e desordem em grande parte da população, levando à obtenção excessiva de todo o tipo de produtos considerados essenciais, sendo a medicação um dos mais importantes a adquirir. Com isto, as pessoas dirigiam-se à farmácia com receitas para aviar na sua totalidade, e muitas destas tinham um elevado número de embalagens de cada medicamento, resultando na inexistência desses medicamentos para a pessoa seguinte.

No seguimento da Portaria n.º 284-A/2016, os *softwares* utilizados em farmácia comunitária passaram a restringir a dispensa de medicamentos a duas embalagens por mês, por utente e por receita. Uma vez ultrapassada a quantidade referida é necessário justificar a dispensa daquelas que são extra, apenas podendo ser utilizadas as seguintes justificações: “Quantidade de embalagens para cumprir a posologia é superior a duas embalagens por mês”, “Extravio, perda ou roubo de medicamentos”, “Dificuldade de deslocação à farmácia” e “Ausência prolongada do país”. A implementação desta medida teve início a 3 de agosto de 2020, como medida para uma compra mais racional dos medicamentos por parte do utente, tentando, assim, combater a existência de medicamentos esgotados.¹

Durante o estágio tive que explicar aos utentes no que esta nova lei consistia e, por vezes, quando não compreendiam, quais os benefícios que apresentava. Procedi, também, à justificação da dispensa de embalagens extra, quando a situação se enquadrava no que era aceite no sistema informático.

2.4. Ameaças

2.4.1. Medicamentos Esgotados

A existência constante de medicamentos esgotados por tempo indeterminado, no armazenista ou até no próprio laboratório, é uma ameaça em qualquer farmácia comunitária. Esta acentuou-se ainda mais durante o período de saúde pública que o mundo atravessa.

Constatei que a falta de determinados medicamentos transtornava muito o utente, dado que, por vezes, não poderia tomar a medicação necessária ou tinha de alterar a mesma para o respetivo genérico ou vice-versa. Ainda havia a possibilidade de se deslocarem a outras farmácias à procura do medicamento necessitado, o que, também, não era favorável. Estas situações causavam um entrave no meu atendimento e respetiva satisfação do utente, uma vez que, por vezes, não compreendiam que as farmácias não têm responsabilidade perante tal assunto e tinha de explicar repetidamente o problema.

3. CASOS PRÁTICOS

Destaco, de seguida, três casos clínicos que considerei de extrema relevância no decorrer do meu estágio, dado que pude aplicar conceitos aprendidos neste e da minha aprendizagem académica. Os três foram muito desafiantes, dado que puseram à prova a minha capacidade de resposta rápida e assertiva, tendo que satisfazer, simultaneamente, as necessidades do utente.

Caso I

Utente do sexo feminino, com cerca de 35 anos, dirige-se à farmácia pedindo aconselhamento sobre o que tomar, pois sente a barriga inchada, dores abdominais e tem tido diarreia há cerca de 3 dias.

Face aos sintomas mencionados questiono se tem febre, vómitos, sangue nas fezes, se apresenta alguma patologia e, por fim, se comeu algo fora do habitual nos últimos dias, ao que a utente refere que não tem nenhuma destas manifestações.

De forma a aliviar o inchaço e a acumulação de gases aconselhei o dispositivo médico, Dulcogas[®], que se apresenta numa fórmula de grânulos que se dissolvem rapidamente na boca, sem ser necessário o recurso a água. O agente anti-espuma que o constitui, simeticone, reduz a tensão superficial das bolhas de ar e promove a sua expulsão do aparelho digestivo.² Referi, ainda, que a posologia do produto é de 1 a 2 saquetas por dia, após as refeições, e que poderia usá-lo em SOS. Adicionalmente, indiquei a toma de um medicamento probiótico de venda livre, o Prolif[®], composto pelo microrganismo vivo *Saccharomyces boulardii*, de forma a restaurar a flora intestinal e melhorar a digestão, podendo tomar 1 a 3 cápsulas por dia, antes das refeições, até terminar a embalagem, dado que o seu uso deve continuar mesmo após o alívio dos sintomas.

Por fim, reforcei a importância da reposição de fluidos, de modo a prevenir a desidratação e para além disso, caso os sintomas persistissem, deveria consultar um médico.

Caso 2

Utente do sexo feminino, com cerca de 50 anos, dirige-se à farmácia solicitando um creme com vitamina A para colocar nas mãos, dado que as tem lavado excessivamente, sentindo algum ardor, apresentam vermelhidão e estão muito sensíveis. Em conversa, entendo que a utilização da vitamina A tinha sido recomendada anteriormente, e que tem vindo a usar umas amostras da marca SVR de ampolas para o rosto, com essa vitamina. Adicionalmente, ainda menciona que já tinha utilizado cremes com cortisona e o efeito não tinha sido o esperado.

Inicialmente tentei perceber as necessidades da senhora e o porquê da lavagem constante das mãos de modo a poder aconselhá-la da melhor forma, sabendo que a vitamina A não seria a solução. Expliquei-lhe que cremes com apenas a vitamina referida na sua constituição não existiam, e que havia fórmulas mais eficazes que protegeriam as suas mãos melhor. A cortisona, neste caso, também, não era o mais indicado, dado que a utente estava a utilizar o produto há vários dias e poderia estar a lesar a pele ainda mais, devido ao efeito *rebound* desta.

Assim, pensando que poderia ser uma dermatite de contacto devido à utilização excessiva de sabão/detergente/sabonete, e sabendo que a utente iria continuar a lavar com recorrência as mãos, por causa do coronavírus SARS-CoV-2, justificação dada pela senhora em conversa, aconselhei-lhe um creme barreira, o BARIÉDERM Creme isolante e reparador, da marca Uriage[®]. Apesar de alguma relutância inicial por ser algo que nunca lhe indicaram e achar que ia piorar a situação, indiquei que o creme podia ser utilizado todos os dias antes do

contacto com os produtos de lavagem, e que ia conferir uma barreira à pele das mãos, protegendo-a dos agentes agressores, reparando a epiderme alterada, acabando por levar o produto.

Caso 3

Utente do sexo feminino, com cerca de 60 anos, desloca-se à farmácia para comprar a medicação do seu marido, desejando, também, medir a glicémia e a pressão arterial, pois sentise mais em baixo.

Encaminhei a doente ao gabinete de atendimento e procedi, primeiramente, à medição da pressão arterial, a qual deu um valor de pressão arterial sistólica 142 mmHg e de pressão arterial diastólica 90 mmHg. Sabendo que os valores ideais da primeira seriam inferiores a 120 mmHg e da segunda inferiores a 80 mmHg, questionei se era hipertensa e se os valores que o aparelho mostrava eram habituais, respondendo afirmativamente a ambas e que tomava a medicação indicada pelo médico diariamente.³ De seguida, fiz duas medições da glicémia pós-prandial, das quais a utente apresentou os valores de 512 mg/dl e 490 mg/dl, o que me afligiu muito, pois valores inferiores a 140 mg/dl seriam os mais adequados, chamando de imediato uma colega.⁴ Seria ideal fazer a medição da hemoglobina glicada (HbA1c), no entanto, na Farmácia São Pedro não existe esse serviço. Após conversa com a senhora descobrimos que era diabética, contudo há cerca de um ano e meio decidiu parar a medicação (altura coincidente com o início da pandemia). Ainda conseguimos saber que ultimamente se tinha sentido mais cansada, com tonturas e com muita sede, sintomas típicos de uma hiperglicémia. Fomos, também, verificar no histórico da ficha da utente a medicação que tomava para a diabetes. Decidimos que o melhor seria chamar uma ambulância, mas a utente, incomodada, pediu para não ir para o hospital devido à situação atual em que vivemos e sugeriu antes ir ao seu médico habitual, numa clínica perto. Ainda alertamos a senhora da dieta rigorosa que deveria começar a seguir e de todas as complicações que podem surgir devido a uma diabetes não controlada, e que a medicação não poderia ser parada em nenhuma altura.

Dias mais tarde, a senhora e o marido agradeceram o papel que tivemos, a nossa preocupação e intervenção, afirmando que o cuidado com a doença e as suas complicações iria ser inevitavelmente maior.

4. CONCLUSÃO

A profissão farmacêutica existe há milhares de anos, tendo vindo desde sempre a ocupar um lugar de confiança na sociedade. Os farmacêuticos desafiam-se diariamente a nível pessoal e profissional, de modo a obterem capacidades técnico-científicas e humanísticas de excelência e, assim, proporcionarem ao cidadão os melhores cuidados de saúde possíveis.

Feita esta análise, tanto positiva como negativa, consigo afirmar que aquilo que aprendi foi enriquecedor, desafiante e muito construtivo. Adquiri conhecimentos novos e relembrei outros, de tal forma que, no final deste estágio já me senti mais confiante no aconselhamento, na comunicação com o utente e na gestão das minhas tarefas na Farmácia São Pedro. Enquanto estagiária numa farmácia comunitária considero que os diferentes panoramas com que me deparei foram imprescindíveis para o começo da minha viagem enquanto profissional de saúde.

Não podia deixar de referir o que a COVID-19 trouxe, alterando todas as nossas vidas e apesar de, ao longo do meu estágio, não ter tido que observar o caos instalado em março de 2020, assisti às consequências e transtornos que a pandemia tem provocado e que cada pessoa referia aquando do meu atendimento, tendo, assim, que servir não só de profissional conhecedor da componente teórica farmacêutica, mas também da componente humanística para com o outro.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Portaria n.º284-A/2016, 2016-11-04 - DRE** - [Consult. 13 mar. 2021]. Disponível em: <https://dre.pt/web/guest/pesquisa/-/search/75660778/details/normal?l=1>
2. **Dulcogas® - alívio de gases - Dulcolax®** - [Consult. 13 mar. 2021]. Disponível em: <https://www.dulcolax.pt/dulcogas-saquetas>
3. DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE - Abordagem Terapêutica da Hipertensão Arterial. **Norma N.º: 026/2011**. 026/2011:2013) 1–14.
4. DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE - Diagnóstico e Classificação da Diabetes Mellitus. **Norma da Direção Geral da Saúde (002/2011)**. 2011) 1–13.

PARTE II

Relatório de Estágio no LEF – Laboratório de Estudos Farmacêuticos

LISTA DE ABREVIATURAS

AIM	Autorização e Introdução no Mercado
ANF	Associação Nacional das Farmácias
AR	Assuntos Regulamentares
DARFV	Departamento de Assuntos Regulamentares e Farmacovigilância
FFUC	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
FV	Farmacovigilância
GVP	<i>Good Pharmacovigilance Practices</i>
INFOSAÚDE	Instituto de Formação e Inovação em Saúde
LEF	Laboratório de Estudos Farmacêuticos
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
MUH	Medicamentos de Uso Humano
RCM	Resumo das Características do Medicamento
SWOT	<i>Strengths, Weakness, Opportunities and Threats</i>

I. INTRODUÇÃO

A formação académica transmitida pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), no curso Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) ensina e exige conhecimentos teóricos ao longo de cinco anos e, por fim, na última unidade curricular do mestrado, os alunos têm que realizar um estágio curricular em Farmácia Comunitária. Caso exista interesse nas áreas de Indústria Farmacêutica ou de Farmácia Hospitalar é dada a oportunidade de concluir um estágio curricular num desses setores, de forma a transmitir os conhecimentos adquiridos e aprender novos, permitindo vivenciar e explorar outros panoramas da área farmacêutica.

Por isto, e pelo facto de ser uma vertente que me entusiasmava conhecer, para além do estágio realizado em Farmácia Comunitária, surgiu a possibilidade de efetuar, também, um estágio em Indústria Farmacêutica, no Laboratório de Estudos Farmacêuticos (LEF), que pertence ao grupo Instituto de Formação e Inovação em Saúde (INFOSAÚDE) e localiza-se em Barcarena, na cidade de Lisboa.¹

O LEF é um laboratório prestador de um grande leque de serviços, sendo estes o desenvolvimento e validação analítica, formação e consultoria, controlo de qualidade e estabilidades, desenvolvimento farmacêutico e produção, apoio às farmácias no fabrico de medicamentos manipulados, mais recentemente estudo da planta medicinal canábida e, onde estive inserida durante três meses, assuntos regulamentares (AR) e farmacovigilância (FV). É uma entidade que integra a unidade de negócio INFOSAÚDE, que por sua vez pertence ao grupo da Associação Nacional das Farmácias (ANF), e tem a capacidade de trabalhar com uma elevada variedade de produtos, tais como suplementos alimentares, biocidas, dispositivos médicos, produtos cosméticos e de higiene corporal, medicamentos de uso humano (MUH) e produtos de uso veterinário, e de interagir com múltiplos clientes nacionais e internacionais.¹

O presente relatório diz respeito ao estágio que realizei no LEF, sob orientação da Dra. Cristina Toscano, que iniciou no dia 3 de maio de 2021 e terminou no dia 30 de julho de 2021. Durante o estágio realizei funções no Departamento de Assuntos Regulamentares e Farmacovigilância (DARFV). O objetivo deste é apresentar uma análise SWOT (do inglês Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats), que avalia os aspetos que influenciaram o meu estágio relativamente a dois níveis, sendo que a nível interno abordarei os Pontos Fortes (*Strengths*) e os Pontos Fracos (*Weaknesses*) e a nível externo referirei as Oportunidades (*Opportunities*) e as Ameaças (*Threats*).

2. DEPARTAMENTO DE ASSUNTOS REGULAMENTARES E FARMACOVIGILÂNCIA (DARFV)

O DARFV tem como *manager* a Dr. Cristina Toscano e inclui mais duas profissionais na área das ciências farmacêuticas na equipa, e as três efetuam atividades no que respeita os AR e a FV.

Sendo o LEF uma CMO (Produção sob contrato e Prestação de Serviços de Análises de Controlo de Qualidade), este presta serviços a outras empresas farmacêuticas fazendo parte destes os AR.¹ O DARFV realiza funções neste âmbito como a preparação, submissão e *follow-up* de *dossiers* de Autorização e Introdução no Mercado (AIM), atividades regulamentares de pós-AIM (alterações e renovações), preparação e revisão de materiais promocionais, traduções e preparação de *common texts* (Resumo das Características do Medicamento (RCM), Folheto informativo e Rotulagem) e tem contacto direto com as autoridades competentes.

O mesmo departamento também desempenha funções na área da FV, de acordo com as *guidelines* de *Good Pharmacovigilance Practices* (GVP), publicadas pela Agência Europeia do Medicamento, sempre com o intuito final de verificar a relação risco-benefício do medicamento. As atividades frequentemente realizadas são por exemplo, a pesquisa bibliográfica e revisão de literatura médica semanal, preparação de relatórios de segurança (relatórios periódicos de segurança, adendas clínicas e planos de gestão de risco), deteção e gestão de sinal das substâncias ativas das quais o LEF é responsável e recolha, gestão e comunicação de eventuais suspeitas de eventos adversos, informações de segurança novas, pedidos de informação médica e reclamações de qualidade dos vários produtos. O meu estágio teve um maior foco nestas e, assim adquiri conhecimento e obtive experiência em plataformas como a EudraVigilance, MedDRA e as várias existentes no INFARMED envolvidas no âmbito da FV.

3. ANÁLISE SWOT

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Receção do LEF

No dia em que iniciei o estágio fui recebida pela pessoa dos Recursos Humanos responsável pelos estágios curriculares decorridos na empresa, a qual me deu a conhecer pormenorizadamente a estrutura do edifício e das diversas equipas, o modo de funcionamento

e a política da instituição, para além de ter exibido todos os espaços comuns, os laboratórios e a localização dos vários departamentos existentes.

De seguida, apresentou-me à equipa de AR e FV da qual fiz parte, tendo sido imediatamente bem recebida. Já no DARFV demonstraram, de uma forma geral, as atividades que neste se realizavam e as funções que cada colaborador tinha. Desde o primeiro dia que a equipa me integrou excecionalmente bem, explicaram todas as atividades que ia executar e deram-me todo o material que poderia necessitar para tal, e ao longo das tarefas que me foram propostas, todas as dúvidas que surgiam eram esclarecidas. Todos os pontos referidos contribuíram de uma forma muito positiva e favorável para o meu ótimo aproveitamento no estágio.

3.1.2. Variedade de Produtos

O LEF trabalha não só com MUH, mas também com produtos de uso veterinário, cosméticos, entre outros, como inicialmente mencionado. No DARFV, os AR desempenham funções para todo o tipo de produtos e a FV apenas para MUH.

Ainda que o estágio que realizei tenha sido maioritariamente em atividades de FV, percebi a vantagem de trabalhar com produtos distintos, podendo alargar os nossos conhecimentos, dado que somos detentores destes em diversas áreas farmacêuticas, e adaptarmo-nos às necessidades e satisfações atuais, elevando a competição empresarial.

3.1.3. Aprendizagem Técnica e Pessoal

De início comecei por observar uma das colaboradoras a realizar atividades de FV, ficando a conhecer o tipo de trabalho que era necessário efetuar, o arquivo do mesmo, o funcionamento das plataformas utilizadas para tal, e fiquei ciente da responsabilidade, compromisso e proatividade que a função exigia. Mais tarde, essa função foi-me atribuída, ajudando na minha autonomia, gestão de tempo para cada tarefa e análise crítica. A nível técnico adquiri muitas noções novas e relevantes nesta área tão ampla e pude aplicar os vários conceitos de FV aprendidos na faculdade, na unidade curricular de Farmacovigilância, sendo um grande auxílio para compreender com mais eficácia o que me era pedido e falado e ter, assim, uma maior produtividade. No decorrer do estágio pude acompanhar pequenos projetos e ainda fazer parte de outros na área dos AR, na qual tive a oportunidade de explorar conceitos para os quais os meus conhecimentos eram reduzidos, apesar da elucidativa aprendizagem que temos na faculdade neste âmbito, dado que é uma área de elevada especificidade e de constante desenvolvimento.

Adicionalmente, tanto nos AR como na FV o inglês era uma das línguas mais utilizadas em situações como a pesquisa bibliográfica dos vários produtos; traduções e elaboração de textos, procedimentos e relatórios; comunicação com os diversos clientes, o que propiciou o desenvolvimento da língua num contexto mais específico e profissional.

Na minha opinião, o contacto em ambos os setores juntamente com o que previamente apreendi conferiu-me uma maior capacidade para o exercício das minhas funções enquanto estagiária, no DARFV.

3.1.4. Desenvolvimento de Competências Computacionais

O facto de estar permanentemente conectada a um computador e todo o trabalho do departamento ser neste realizado, consegui adquirir mais competências a nível das ferramentas do Office, bem como ser mais eficaz na realização das tarefas diárias que implicam uma flexibilidade elevada nas várias funcionalidades de um computador.

O Microsoft Excel[®] é das ferramentas que tenho mais dificuldade em trabalhar, porque apenas tive de utilizar o básico durante o meu percurso escolar e em outras atividades extracurriculares, e no decorrer do estágio o seu uso era diário, sendo que ganhei experiência no seu funcionamento e uma maior compreensão das funções que possui. Nas restantes aplicações do Office senti que as utilizava de uma forma mais célere e, assim, concluía os trabalhos propostos mais rapidamente e com sucesso.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Tempo de Estágio Limitado

O estágio decorrido no LEF apenas teve a duração de três meses, tal como acordado com a FFUC.

No primeiro dia de estágio foi-me atribuído um plano de estágio pela Dra. Cristina Toscano que enumerava as várias atividades que ia realizar, a qual também me transmitiu que o foco maior do meu estágio iria ser no setor da FV, dado que as funções dos AR são mais complexas e lidam com diversas plataformas e conhecimentos adjacentes, e em três meses não conseguiria ter uma aprendizagem produtiva nessa área.

Por isto, considero que o tempo de estágio no DARFV foi insuficiente por não ter conseguido adquirir conceitos de uma forma mais consistente, nem ter uma perspetiva abrangente do tipo de trabalho e das funções de um farmacêutico que são exigidos pelos AR,

uma área que tinha mais interesse em conhecer e aplicar conhecimentos adquiridos na faculdade.

3.2.2. Contacto Escasso com os Outros Departamentos

Como referido anteriormente, no LEF existem muitos outros departamentos a desenvolver os seus projetos e com diversas atividades diferentes das do DARFV.

O meu interesse inicial era ter um primeiro contacto com as funções desempenhadas na área dos AR, no entanto o trabalho que exerci na FV revelou-se de grande importância profissional e tive a oportunidade de aplicar vários conceitos lecionados na faculdade e adquirir muitos outros. Consegui, também, perceber que as duas áreas são muito significativas no ciclo de vida do medicamento e apresentam uma interligação forte com os outros departamentos.

Desta forma, considero que seria uma mais-valia, no decorrer do meu estágio, explorar as restantes áreas existentes, dado que se poderiam tornar opções de carreira profissional futuras, bem como possuir uma abrangência do funcionamento e interação entre todos os departamentos.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Formações Internas

Ao longo dos três meses de estágio tive a possibilidade de participar em diversas formações proporcionadas pelo DARFV e respetivo cliente do produto do qual eramos responsáveis, de forma a atualizar e assimilar os conhecimentos dos colaboradores no âmbito da FV e, por fim testá-los, ocorrendo, assim harmonização dos mesmos nos vários países.

Com estas formações recordei conceitos já apreendidos na faculdade, podendo pô-los em prática e perceber a sua dinâmica no dia-a-dia, e conheci outros, auxiliando na rapidez e compreensão nas tarefas que tinha de realizar.

3.3.2. Formações Externas/Congressos

Para além das formações que pude presenciar no departamento no qual integrei, ainda tive a oportunidade de assistir a formações e congressos no LEF, nos mais variados assuntos. A sensibilização ambiental foi um deles, tendo sido vantajoso para me inteirar das regras e desafios que a instituição promove de forma a torná-la mais sustentável e *environment-friendly*. Na área da qualidade quando existia qualquer alteração relativamente aos procedimentos respetivos, todos os colaboradores eram informados em pequenas reuniões virtuais, de modo a esclarecer dúvidas e poderem partilhar a sua opinião. O facto da canábis medicinal estar a

ganhar cada vez mais destaque no meio terapêutico e ter começado a ser alvo de estudo no LEF, o nível de exigência requerido na segurança e no seu conhecimento aumentou substancialmente. A aprendizagem desta planta na área regulamentar, analítica e da qualidade desempenha um papel muito relevante, daí ser indispensável a formação constante e melhoria de todos os colaboradores, tendo tido a oportunidade de poder assistir a um congresso e formações sobre o assunto.

3.4. Ameaças

3.4.1. Atualidade em AR e FV

Com a instalação do coronavírus SARS-CoV-2, o mundo empresarial necessitou de se adaptar, e a maioria das funções de muitas profissões passaram a ser executadas de forma remota.

Em maio de 2021, o país encontrava-se mais calmo e confiante e no LEF, felizmente, deram prioridade aos estágios curriculares serem presenciais, no entanto senti que muitas das atividades do departamento que fiz parte podiam ser realizadas a partir de casa.

O trabalho que fazia diariamente era conectada ao computador apenas, reconhecendo a falta de interação e comunicação entre colegas. Constatei, também, que a generalidade das reuniões com clientes outrora presenciais, onde se discutiam ideias e opiniões cara-a-cara, eram agora efetuadas através de um computador, dado que conseguem poupar tempo em viagens e preencher o calendário com mais compromissos, pensado numa produtividade aumentada, contudo, a longo prazo, na minha opinião, há descuro na relação interpessoal e ademais consequências.

3.4.2. Quantidade Elevada de Empresas no Setor dos AR e FV

Sendo o LEF uma entidade prestadora de serviços, este é contratado por diversos clientes nacionais e internacionais para efetuar atividades no âmbito regulamentar e de farmacovigilância. Tal como esta instituição existem muitas outras que apresentam os mesmos serviços e, por isso, há motivação e desejo de primarem pela excelência no trabalho desempenhado.

Aprendi que era importante numa empresa, não só ambicionar o seu sucesso, mas existirem também trabalhadores capazes, empenhados e com contínua formação nas respetivas áreas, de forma a que a mesma seja selecionada no momento de escolha dos clientes que confiam os seus produtos e objetivos.

4. CONCLUSÃO

Poder estagiar em Indústria Farmacêutica, um setor que desejo conhecer desde a minha entrada na FFUC, foi uma oportunidade única de desenvolver capacidades técnico-científicas e pessoais e aprofundar conhecimentos teóricos apreendidos na faculdade, na área regulamentar e da pós-comercialização do medicamento.

Apesar do foco do meu estágio ter sido a FV e inicialmente prever serem os AR, revelou-se uma área que, neste momento, acredito ser de elevada importância no ciclo de vida de um medicamento, bem como fundamental para a melhoria constante e uso racional do mesmo, de forma a estabelecer o seu perfil de segurança. Assim, conseguimos garantir o uso eficaz e seguro do medicamento entre a população.

A análise apresentada prova o meu parecer bastante positivo relativo ao estágio curricular realizado no LEF, considerando o primeiro contacto com uma empresa farmacêutica muito produtivo, equipando-me com ferramentas essenciais tanto a nível pessoal como a nível profissional para um futuro neste meio. Acrescento, ainda, que adquiri um novo interesse pela FV e cresceu, também, a curiosidade pelos AR, pelo que tenciono continuar a explorar as duas áreas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **LEF | PT** - [Consult. 10 jul. 2021]. Disponível em:
<https://www.lef.pt/pt/Paginas/default.aspx>

PARTE III

“Serotonergic Targets in Alzheimer’s Disease – What’s New?”

Monografia

LIST OF FIGURES

Figure 1. APP formation: Non-amyloidogenic pathway and Amyloidogenic pathway. APP amyloid β precursor protein, sAPP α soluble APP alfa, sAPP β soluble APP beta. Adapted from ¹⁴	36
Figure 2. Hyperphosphorylation of tau protein. Adapted from ⁵	38
Figure 3. Biosynthesis of serotonin (5-HT). Adapted from ²⁷	42
Figure 4. Dual signaling pathway of the 5-HT ₄ receptor agonist. ADAM10 metalloproteinase domain-containing protein 10, APP amyloid β precursor protein, BACE I β -secretase, sAPP α soluble APP α . Adapted from ¹⁹	46
Figure 5. Signaling pathways of 5-HT ₆ receptor antagonists. 5-HT serotonin, AC adenylate cyclase, ACh acetylcholine, cAMP cyclic adenosine monophosphate, ERK $\frac{1}{2}$ extracellular signal-regulated kinase $\frac{1}{2}$, GABA gamma-aminobutyric acid, Glut glutamate, MEK mitogen-activated protein kinase, mTOR mammalian target of rapamycin. Adapted from ⁴⁷	50

LIST OF ABBREVIATIONS

5-HIAA	5-hydroxyindoleacetic Acid
5-HT	5-hydroxytryptamine (or Serotonin)
AC	Adenylate cyclase
ACh	Acetylcholine
AChE	Acetylcholinesterase
AChEI's	Acetylcholinesterase Inhibitors
AD	Alzheimer's disease
ADAM10	Disintegrin and Metalloproteinase Domain-Containing Protein 10
ADAS-cog	Alzheimer's Disease Assessment Scale – Cognitive Subscale
ADCS-ADL	Alzheimer's Disease Cooperative Study Activities of Daily Living
ApoE	Apolipoprotein E
APP	Amyloid Precursor Protein
ATP	Adenosine Triphosphate
Aβ	β -amyloid
BACE 1	β -secretase
cAMP	cyclic Adenosine Monophosphate
CAS	Catalytic Anionic Site
CFS	Cerebrospinal Fluid
CNS	Central Nervous System
DBS	Dual-Binding Site
EOAD	Early-Onset Alzheimer Disease
ERK$\frac{1}{2}$	Extracellular Signal-Regulated Kinase $\frac{1}{2}$
FAD	Familial Alzheimer's Disease
FDA	U.S. Food and Drug Administration

GABA	γ -Aminobutyric Acid
G_i	inhibitory G-protein
GPCR	G-protein-coupled Receptor
G_s	stimulatory G-protein
GSK	GlaxoSmithKline
MMSE	Mini-Mental Status Examination
MoCA	Montreal Cognitive Assessment
mTOR	mammalian Target of Rapamycin
NFT	Neurofibrillary Tangles
NMDA	N-methyl-D-aspartate
PAS	Peripheral Anionic Site
PET	Positron Emission Tomography
PiB	Pittsburgh compound B
PKA	Protein Kinase A
PNS	Peripheral Nervous System
PSEN-1	Presenilin-1
PSEN-2	Presenilin-2
p-tau	phosphorylated tau
sAPPα	soluble APP α
SERT	Serotonin Transporter
TPH	Tryptophan Hydroxylase
t-tau	total tau

Abstract

Alzheimer's Disease (AD) was discovered in 1906 and characterized as a neurodegenerative, chronic and, eventually, fatal condition. It often appears in an aged population, progressively affecting an elevated number of individual's cognition and learning functions, and with a late perception of these symptoms. The diagnosis is being constantly improved to identify Alzheimer's earlier, although the exact etiology of this disease is still to be discovered. However, there are several hallmarks of AD, including, mainly, the production of insoluble β -amyloid peptides, forming prejudicial senile plaques and the accumulation of hyperphosphorylated tau protein, producing the neurofibrillary tangles, both in the brain.

Since 2003, there were no new treatments for AD, existing only two classes of medications, worldwide, to alleviate the symptoms of this disease, being acetylcholinesterase inhibitors, which augment acetylcholine in the brain, and N-methyl-D-aspartate receptor antagonists, which inhibit neurotoxicity produced by excessive glutamate. Only recently, in 2021, FDA approved a new drug for AD, which proves to decrease the amyloid load produced.

Therefore, new treatment options should be considered and other targets could be and are being studied, as a new monotherapy or as a new adjuvant therapy to treatments already implemented. Serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) has been investigated for years, demonstrating its essential role in cognition, behavior and memory performance, due to its excellent location in the brain. Through different signaling pathways, the 5-HT_{1A}, 5-HT₄ and 5-HT₆ receptor agonists/antagonists, show beneficial effects concerning the improvement of Alzheimer's symptoms. Pharmaceutical companies are investing in pre-clinical and clinical trials using these receptors, accessing the safety, tolerability and efficacy of compounds that are possibly able to revert cognition deficits and improve memory and learning capabilities.

With age currently increasing, AD is estimated to affect even more millions of people across the globe, involving a rise in costs and care burden, hence the major necessity to find a novel therapy that can alter the course of this disease.

Keywords: Alzheimer's Disease, Cognition, Serotonin, 5-HT₄ receptors, 5-HT₆ receptors, Pre-Clinical and Clinical trials.

Resumo

A Doença de Alzheimer (DA) foi descoberta em 1906 e caracterizada como uma condição neurodegenerativa, crónica e, eventualmente, fatal. Ocorre, frequentemente, numa população idosa, afetando, progressivamente, a cognição e memória de um número elevado de indivíduos, com uma perceção tardia dos sintomas. O diagnóstico realizado está constantemente a ser melhorado, de forma a identificar a doença o mais cedo possível, contudo a etiologia exata desta está ainda por descobrir. No entanto, existem várias teorias relativamente às características da DA, incluindo a produção de agregados insolúveis do peptídeo β -amiloide, formando placas senis prejudiciais e a acumulação da proteína tau hiperfosforilada, produzindo as tranças neurofibrilares, ambas no cérebro.

Desde 2003, não existiam novos tratamentos para a DA, apenas havendo duas classes de medicamentos para aliviar os sintomas da doença em todo o mundo, os inibidores da acetilcolinesterase, que aumentam a acetilcolina no cérebro, e os antagonistas do recetor de N-metil-D-aspartato, que inibem a neurotoxicidade produzida pelo glutamato em excesso. Recentemente, em 2021, a FDA aprovou um novo fármaco que demonstra ter capacidade para diminuir a carga amiloide que é produzida na DA.

Como tal, novas opções de tratamento devem ser consideradas e outros alvos podem ser e estão a ser estudados, como uma nova monoterapia ou como uma nova terapia adjuvante de tratamentos já utilizados. A serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) tem sido extensamente investigada ao longo dos anos, demonstrando o seu papel essencial na performance da cognição, comportamento e memória, devido, principalmente, ao facto de ter uma localização privilegiada no cérebro. Através de diferentes vias de sinalização, os agonistas/antagonistas dos recetores 5-HT_{1A}, 5-HT₄ e 5-HT₆ mostram efeitos benéficos relativamente à melhoria dos sintomas da DA. As empresas farmacêuticas têm investido em ensaios pré-clínicos e clínicos utilizando estes recetores, avaliando a segurança, tolerabilidade e eficácia dos compostos que, possivelmente, conseguem reverter o défice cognitivo, e melhorar a memória e aprendizagem.

Com a idade atualmente a aumentar, estima-se que a DA possa vir a afetar ainda mais milhões de pessoas em todo o mundo, envolvendo um acréscimo dos custos gastos e da carga de cuidados de saúde, daí a necessidade urgente de encontrar uma nova terapia que possa alterar o prognóstico desta doença.

Palavras-chave: *Doença de Alzheimer, Cognição, Serotonina, Recetores 5-HT₄, Recetores 5-HT₆, Ensaios Pré-Clínicos e Clínicos.*

I. Alzheimer's Disease

People from all over the world, mostly over 65 years old, can be affected by the highest prominent form of dementia which is Alzheimer's disease (AD).¹ Each year, the life expectancy increases globally, becoming an even bigger risk for the elderly to develop this type of dementia, aside from environmental and genetic factors.²

Its name becomes after the German neurologist and psychiatrist Alois Alzheimer, who in the twentieth century first described the disease when observing a 51-year-old female patient with paranoia, memory and cognition disturbance. Alois was also able to investigate the woman's brain, when she passed, discovering abnormal marks as plaques and tangles in the cerebral cortex.³

AD is a progressive neurodegenerative disorder characterized, essentially, by two pathophysiological hallmarks: extracellular deposits of β -amyloid ($A\beta$) fibrils, forming senile plaques and intracellular aggregations of neurofibrillary tangles (NFT) composed of abnormal hyperphosphorylated forms of the microtubule-associated protein tau filaments, that begin to accumulate years before the onset of clinical symptoms, leading to a neurotransmission deficiency, and consequent neuronal death.⁴ Additionally, it is known AD presents with neuroinflammation, acetylcholine deficiency and glutamate excitotoxic.¹ This severe and chronic pathology is also associated with memory and capability loss in daily life activities; difficulty in recognizing, communicating and expressing; disorientation; sleep, behavior, personality and humor swings; neurocognitive dysfunction and alterations of several neurotransmitter systems.^{2,4}

There are two main types of AD, the Late-Onset Alzheimer Disease, which is the most frequent to appear, due to various factors including cardiovascular problems, sleep disorders, lifestyle, family history, and happens mostly to people over 65 years old. It is strongly linked to a gene called apolipoprotein E (ApoE), specifically associated with the fourth allele – $\epsilon 4$, although it does not guarantee that people will definitely develop the disease, there is only a higher risk of increased neurotoxicity and formation of $A\beta$ plaques in the human brain.^{5,6} The Early-Onset Alzheimer Disease (EOAD) impairs about 5% of the cases and presents in patients below age 65, who show unusual genes that may lead to Alzheimer's. A rarer type, associated with EOAD, is also able to affect about 1% of people under this age and it is called Familial Alzheimer's Disease (FAD), caused by mutated deterministic genes such as amyloid precursor protein (APP), presenilin-1 (PSEN-1) and presenilin-2 (PSEN-2).^{4,5,11}

I.1. Epidemiology

As the geriatric population rises, the burdens not only on the global economy but on the families, caregivers and society, also rise.

Approximately 80% of the individuals presenting with Alzheimer's are older than 75 years old.⁶ The number of people living with this disease is estimated to reach over 100 million by 2050, worldwide.⁷ Moreover, the total cost spent on dementia in 2018 was expected to reach a trillion dollars.⁸ Women are considerably more affected by this disease than men and account for 65% of the deaths.⁹

According to the World Health Organization, Alzheimer's and other forms of dementia, in 2019, were among the top ten leading causes of death, as the 7th cause, globally.⁹ It is said that AD represents the only disease that still cannot be prevented, cured, or even slowed down.⁷

Since aging is expected to continue, the only way to reduce the costs and the frequency of the disease is to identify effective preventive or treatment measures. Studies estimate that if the symptoms could be delayed by 5 years, AD frequency along with the economic costs per person would decrease by nearly 50%.^{8,10}

I.2. Neurochemical Basis of Alzheimer's Disease

The complex pathogenesis associated with AD is still not fully understood, leading to several theories which attempt to find interventions that alter, delay or stop the disease. Previously it was mentioned two main abnormal structures that characterize AD, however, oxidative stress, altered insulin resistance and cerebrovascular impairments are also important features to consider.⁵

There is a general approval on two particular hypothesis – the amyloid cascade and the tau hypothesis. It is relevant to note that the cholinergic theory was the first one to be studied and is still where the current drug treatments used are based on.¹²

I.2.1. Cholinergic Hypothesis

Acetylcholine (ACh) is one of the most important neurotransmitters involved in learning and memory in the brain, thus when released into the synapse, it transmits a signal throughout the neurons. Its activity is reduced in AD brains, in contrast to the activity of acetylcholinesterase (AChE), which degrades acetylcholine.⁵

The drugs currently available were designed considering this theory aiming to improve ACh release, as well as cholinergic neurotransmission, increasing this neurotransmitter, crucial to humans.¹² Through time, it is demonstrated the existing treatment plays only a role in alleviating the symptoms of AD patients, not modifying the progression of the disease, which brought disbelief to the cholinergic theory.

1.2.2. Amyloid Cascade Hypothesis

The amyloid cascade hypothesis suggests that the deposition of A β or its reduced clearance initiates a pathological cascade in AD patients leading to neurological injury, tau phosphorylation, NFT formation, and consequent neuronal death.^{5,12}

The A β peptide is formed by sequential cleavages of the amyloid β precursor protein (APP – localized in the chromosome 21 and is associated with neuronal development and axonal transport) induced by α -secretase, β -secretase (BACE 1) or γ -secretase.¹³

There are two patterns APP splitting can have, in the α pathway or the non-amyloidogenic pathway, which occurs the most, APP is hydrolyzed by α -secretase and then by γ -secretase, producing the soluble APP alfa (sAPP α) which demonstrates neuroprotective effects, as well as it can be associated to normal synaptic signaling, plasticity and neurons survival. The β pathway or the amyloidogenic pathway happens when APP is hydrolyzed by BACE 1 in the N-terminal region, and then by γ -secretase in the C-terminal region, resulting in insoluble and neurotoxic A β , that will further polymerase and form plaques (Figure 1).^{3,5}

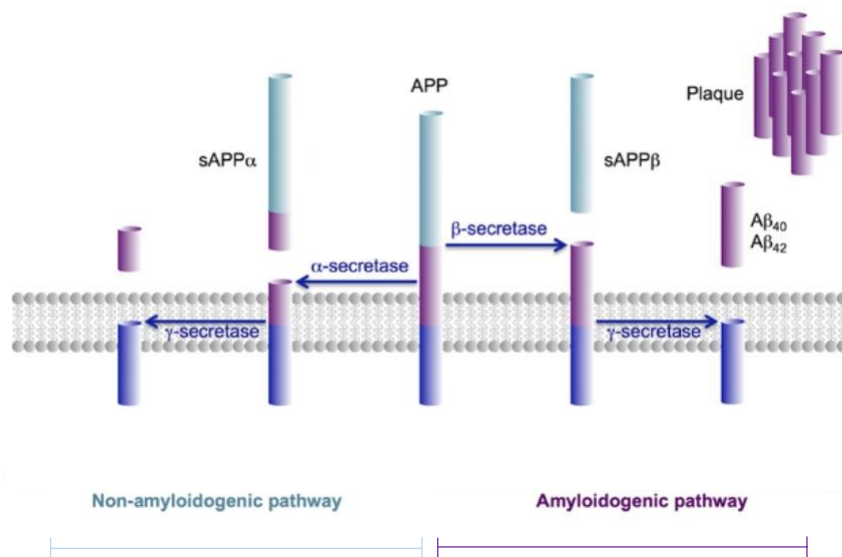


Figure 1. APP formation: Non-amyloidogenic pathway and Amyloidogenic pathway. APP amyloid β precursor protein, sAPP α soluble APP alfa, sAPP β soluble APP beta. Adapted from¹⁴

There are some pathogenic mutations clustered near the BACE I cleavage site causing the APP to more likely hydrolyze by the β pathway, leading to an excessive formation followed by accumulation of insoluble A β .^{5,12} Depending on the cleavage sites APP is split, the length of A β peptide can vary at the C-terminal domain. The A β_{1-40} isoform is the most frequent species of this peptide and is less toxic, whereas the A β_{1-42} , formed essentially via the amyloidogenic pathway, is hydrophobic and accumulates at a faster rate than the first one, being the major toxic component of senile plaques.¹² Due to autosomal dominant mutations in PSEN-1 and in PSEN-2, which are part of the γ -secretase complex, A β aggregation is also promoted. An uncommon form of Alzheimer's, FAD, is induced by these mutations and the amyloid theory is supported most by it.¹²

Dementia and cognitive impairment can be caused by multiple factors and the accumulation of amyloid plaques in the brain is one of them, although it is not a linear statement, leading to this hypothesis and its clinical trials being constantly reviewed.

1.2.3. Tau Hypothesis

The amyloid hypothesis cannot explain some facts considering the onset of the disease, in addition to the lack of effective clinical evidence, hence it is relevant to mention a different cause for the pathology of Alzheimer's.¹⁵

Tau is a microtubule-associated protein found mostly in neurons, that polymerizes tubulin and stabilizes microtubule assembly, important to regulate the transport in axons and dendrites.^{5,13} In this theory, it is believed that abnormal phosphorylation of tau proteins in AD patients starts appearing in small regions, spreading to bigger areas of the brain, which affects signal communication between neurons and thus evolves to neurodegeneration, causing apoptosis in neurons, in the end.⁵

Tau phosphoprotein activity is regulated by phosphorylation, crucial to promote and regulate tau's affinity to the microtubule. Normally, tau phosphorylation is regulated by cellular enzymes, protein kinases and phosphatases, however when the balance between kinases and phosphatases shifts, which can happen due to the accumulation of A β , it can potentially cause the aggregation and misfolding of tau and its polymerization into paired helical filaments and straight filaments leading to the formation of insoluble NFTs in the cytoplasm of the AD brain, affecting neuronal function.^{3,12} The hyperphosphorylation of tau protein can happen at the amino residues responsible for tubulin binding: Ser202, Thr205, Ser396, and Ser404. Afterward, tau starts to free itself from the microtubules forming the NFTs (Figure 2).⁵

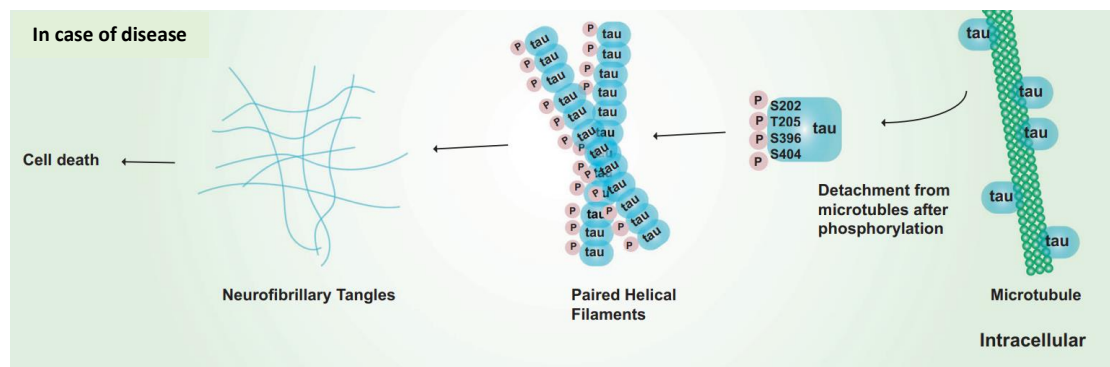


Figure 2. Hyperphosphorylation of tau protein. Adapted from ⁵

1.3. Diagnostic

Despite all the recent medical technology to diagnose numerous diseases, it is still made a great effort to differentiate Alzheimer's from other types of dementia, especially knowing this disease sets long before the clinical symptoms.¹⁶ It is equally important to establish an early diagnosis of AD, due to the growing search for new therapies along with planning management options between the patient and the family.¹⁷

There has been a search for biomarkers that might be able to accurately diagnose AD such as Plasma Biomarkers and Cerebrospinal Fluid (CSF) Biomarkers – $A\beta_{42}$, phosphorylated tau (p-tau) and total tau (t-tau). The imaging techniques are also developing and in AD the Positron Emission Tomography (PET) is used regularly to track these biomarkers. Reduced $A\beta_{42}$ levels in the CSF, as well as elevated levels of p-tau, are associated with AD progression. T-tau indicates neuronal degeneration, which is not a specific characteristic of Alzheimer's, nonetheless, we cannot exclude the hypothesis that it is AD. The deposits of $A\beta$ in the brain, which are shown in PET images through a molecule called Pittsburgh compound B (PiB) that binds to amyloid fibrils with high affinity, using radioisotopes, support an AD positive diagnosis.^{6,16,17}

It is also part of the diagnosis to perform some neuropsychological tests with a physician like the Montreal Cognitive Assessment (MoCA), the Alzheimer's Disease Assessment Scale – Cognitive Subscale (ADAS-cog) or the Mini-Mental Status Examination (MMSE) to evaluate any memory and language skills decline with a negative result regarding self-care and daily activities of the patient.^{16,17}

The clinical onset of AD can be divided into three periods: ¹⁶

- preclinical which demonstrates that the disease begins to install before symptoms occur, when A β starts to accumulate on the synapses and neuronal surface.

At this stage, the patient might already show some CFS biomarkers;

- mild cognitive impairment is when patients or their family members start to notice slight alterations concerning attention, language, memory, however it does not stop patients to do their normal daily chores. It can, nonetheless, already be noticed in neuropsychological tests and it possibly shows A β_{42} levels decreased, when using CFS biomarkers;

- Alzheimer's disease dementia can be frequently confirmed late in the disease process and with *postmortem* neurological studies. In this phase, there are significant alterations in cognition and memory performance, and it often leads to death soon.

Antemortem it is still unclear which method defines best the AD pathology, many are being developed and validated to increase the chance of a confident and accurate diagnosis and, at the moment, the combination of CSF A β_{42} with t-tau or p-tau levels, meaning, measuring the ratio of either t-tau/ A β_{42} or p-tau/ A β_{42} has an elevated sensitivity and specificity rather than using them alone.^{6,8,17}

2. Current Pharmacological Treatment

At present, there are five treatment options approved to treat cognitive symptoms of AD in the United States, divided into two different drug classes: Acetylcholinesterase Inhibitors (AChEI's) and N-methyl-D-aspartate (NMDA) Receptor Antagonists.⁷

In Europe exists only four standard-of-care medicines to alleviate part of Alzheimer's symptoms, excluding the one consisting of a fixed-dose combination with donepezil and memantine.⁷ This combination represents the ultimate clinical benefit in patients with moderate-to-severe AD, comparing to monotherapy.¹⁹

At the moment, the treatment used aims at starting patients with Alzheimer's on an AChEI during the mild-to-moderate phases and adding memantine in the moderate-to-severe stages.⁸ The therapeutic approaches mentioned above exist for over a decade and do not delay the progression of the disease nor represent a cure, nevertheless they are able to slow down some cognitive function loss.¹

As of 7 of June of 2021, U.S. Food and Drug Administration (FDA) approved the first drug for the treatment of Alzheimer's, targeting one of the main hallmarks of this disease, denominated Aduhelm (aducanumab), designed by Biogen. AD received a new therapy, an event that had not happened since 2003, using the accelerated approval pathway, which can be used when a meaningful therapeutic advantage takes place over existing treatments in case of a serious or life-threatening condition, seeking to speed the development of a drug. In several clinical studies performed, the efficacy of this drug was demonstrated in patients with AD, significantly reducing the amount of A β plaques and the clinical decline within. Although the FDA only approved a fast-track path and Biogen has to demonstrate in a post-approval study Aduhelm clinical benefit, it is a long-awaited change in AD course and a big step for the understanding of this disease and the lives suffering from it.¹⁸

2.1. Acetylcholinesterase Inhibitors (AChEI's)

The AChEI's donepezil, galantamine and rivastigmine target the neurotransmitter ACh selectively, increasing its levels in the brain, by inhibiting the enzyme AChE, responsible for catalyzing ACh degradation. A small percentage of the enzyme butyrylcholinesterase, found mostly in blood plasma, is also inhibited. Additionally, these enhance cholinergic neurotransmission in the synaptic cleft, as the death of cholinergic neurons is lower. AChEI's are considered safe and well-tolerated among AD patients, despite some reported common gastrointestinal side effects dose-related and weight loss.^{17,20}

Donepezil tablets have been approved to treat cognitive impairment in patients with mild-to-moderate AD. Galantamine has also been produced into tablets that demonstrate efficacy in individuals with mild-to-moderate AD, having an alternate mechanism, besides the inhibition of AChE already described, by binding to nicotinic ACh receptors modulating, at an allosteric site ligand, actions.²⁰ Rivastigmine, which also inhibits butyrylcholinesterase, is available as a tablet, oral solution or transdermal patch, showing improvements on both memory and thinking loss, as well as treatment adherence due to the fact the mentioned adverse effects do not appear concerning the latter one. This medicine can be used in patients with mild-to-moderate AD, as well.²

2.2. N-methyl-D-aspartate (NMDA) Receptor Antagonists

NMDA receptors are predominant in pyramidal cells in the cortex and hippocampus, which are areas involved in learning and memory mechanisms. The neurotransmitter glutamate potentiates cognition via these receptors, but when glutamate levels are extremely elevated it occurs excitotoxicity, which is undesirable for the neurons.¹⁷ The NMDA-receptor antagonist

memantine is involved in the modification of the neurotransmitter glutamate, and consequent improvements in memory and cognition performance. It is known by the glutamatergic hypothesis that NMDA glutamatergic receptors over-activate due to the accumulation of amyloid plaques in the hippocampus, therefore resulting in glutamate-induced excitotoxicity, production of free radicals, following augmented neuronal death.⁸

Memantine is the last drug approved by EMA for Alzheimer's and it was designed to block neuron excitotoxicity produced by glutamate, by inhibiting the prolonged influx of Ca^{2+} , resulting in symptomatic improvement/stabilization. It is a well-tolerated drug with side effects including confusion, headache and dizziness approved for the symptomatic treatment of moderate-to-severe AD, and it is frequently used together with donepezil causing a bigger effect and presenting additional benefits.^{8,17,20}

3. New Therapeutic Approaches

An ongoing demand for innovative and disease-modifying treatments in AD is responsible for the thousands of clinical trials running, assessing all the possible alternatives to not only discover an improvement in cognitive function, but also to identify a change in the course of the disease, which still does not exist.

Currently, many drug targets are being examined and a new drug class has been demonstrating a crucial role as a symptomatic treatment for AD, representing a possible substitute or adjuvant to the current treatment to enhance cognition, improve functioning and survival of neurons. New clinical evidence is focusing on the serotonergic receptors, found in the central nervous system (CNS) and the peripheral nervous system (PNS), especially in the prefrontal cortex and hippocampus, and are localized in areas of interest in Alzheimer's that affect learning and short- and long-term memory processes.^{4,22,23}

3.1. Serotonin Pathway

The neurotransmitter serotonin or 5-hydroxytryptamine (5-HT) is well known as an essential key in several biochemical and molecular signaling pathways throughout the brain.²³ It is largely associated with memory and learning functions through interactions with the cholinergic, dopaminergic, glutamatergic or γ -Aminobutyric Acid (GABA) neurotransmission systems.^{4,24}

Tryptophan, provided by the daily diet, is an amino acid and the precursor of 5-HT synthesis, which occurs in neurons of the brain stem, localized in the raphe nuclei. The

metabolic pathway involves hydroxylation, transforming the amino acid to 5-hydroxytryptophan (5-HTP), by a neuron-specific enzyme called tryptophan hydroxylase (TPH). Then, 5-HTP is decarboxylated by the aromatic L-amino acid decarboxylase to finally form 5-HT (Figure 3).^{23,25,26} This neurotransmitter is transported into vesicles followed by its release to the synaptic cleft, enabling its binding to pre- and/or post-synaptic receptors. The serotonin transporter (SERT), which is Na^+/Cl^- dependent, is responsible for the re-uptake of free 5-HT into the pre-synaptic axonal terminals, regulating the extracellular levels of this neurotransmitter.^{23,26}

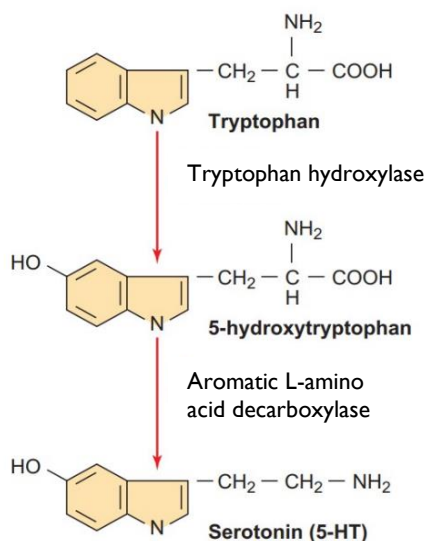


Figure 3. Biosynthesis of serotonin (5-HT). Adapted from ²⁷

Through various serotonergic projections situated in areas all around the brain, it is possible for 5-HT to play roles in the regulation of mood, cognition, memory and more, depending on the location of the serotonergic receptors and their signal pathway.^{4,23} The anatomical interactions between the serotonergic pathway in AD and the cholinergic pathway occur at different levels from the origin and raphe nuclei, to the serotonergic projections in the brain, where it is found a high density of cholinergic neurons, which in turn project to the hippocampus, cerebral cortex, amygdala, thalamus, and prefrontal cortex.⁴

With age, neuropsychological disorders often come along and a decline in 5-HT function does too. The process of forming new neurons is called neurogenesis and it is also slowed down in AD, depression and Parkinson disease, which is demonstrated in many studies. Neurogenesis was observed in the amygdala, cortex and hippocampus with no alterations in the SERT, indicative of sprouting of serotonergic axon endings, when studied in APP/PS1 transgenic mice models, in which prevails a severe amyloidosis. Increased immunoreactivity to SERT was detected in the hippocampus of the 3xTg-AD triple transgenic animal model.

Sprouting of 5-HT fibers, in response to neuronal damage, serotonergic or otherwise, may not only be triggered by A β plaques, but also by astrocytosis around these plaques and the released astroglial S100 β , a neurotrophic factor formed, stored and released by astrocytes. The neurotoxicity induced by A β involves the excitotoxicity, which in turn is generated by the glutamate released by exocytosis in glutamatergic neurons. 5-HT, whose availability is increased following the sprouting that occurs around A β plaques, by activating 5-HT_{1A/1B} receptors, leads to the opening of ATP-dependent K⁺ channels, hyperpolarization and closure of voltage-dependent Ca²⁺ channels, promoting the blockade of glutamate NMDA receptors by the Mg²⁺, going against glutamate release and neurotoxicity.⁴

Serotonergic neurons and receptors loss, reduction in synaptic efficacy, decreased expression of 5-HT receptors binding affinities are all alterations that exist in Alzheimer's, as well as mood swings and diverse atypical behaviors, as already stated.²⁶ Dysregulation of 5-HT is being studied and it is known to be linked to various brain diseases, proving this neurotransmitter responses are variable, and that they need to be identified in order to discover novel targets and develop potential drugs to treat AD.^{23,26}

3.2. Serotonin Receptors

There are at least fourteen different types of pre- and postsynaptic 5-HT receptors, divided into seven distinct classes: 5-HT₁ to 5-HT₇. They are part of the G-protein-coupled receptor (GPCR) neurotransmitter superfamily, enabling them to transmit their signals through G-proteins, except the 5-HT₃ receptor, which is an ion channel associated receptor.^{22,28} 5-HT₁ and 5-HT₅ receptors are coupled to inhibitory G (G_i) protein and have an inhibitory cell response on adenylate cyclase (AC) activity, not allowing the conversion of adenosine triphosphate (ATP) to cyclic adenosine monophosphate (cAMP). 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₆ and 5-HT₇ receptors have an excitatory effect on distinct mechanisms. 5-HT₂ receptor is coupled to G_{q/11}-protein and initiates the phospholipase C cascade, stimulating protein kinase C. 5-HT₄, 5-HT₆ and 5-HT₇ receptors are coupled to stimulatory G-protein (G_s) and activate AC, allowing the formation of cAMP followed by activation of protein kinase A (PKA), whether 5-HT₃ receptors, as ion channels, adjust the permeability to calcium, potassium and sodium ions in the nervous system.^{22,29,30}

Most 5-HT receptors control various physiological functions, namely the regulation of appetite, sleep cycle, mood, locomotion and motor system, body temperature and pain. They are also responsible for a wide range of normal and pathological behavior and emotions, and

on top of that, they can affect cognitive and learning processes, turning them into a potential class of medications in Alzheimer's.^{24,31}

With dementia, there is a reduced activity and concentration of 5-HT, together with decreased expression of its receptors and its main metabolite, 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA), in the human brain, as well as serotonergic innervation. These pathological 5-HT signaling transformations occur through aging and contribute to the impairment of cognitive processes, together with the senile plaques and NFTs present in the raphe nuclei. These characteristics are largely discovered in post-mortem AD brains, CFS and platelets.⁴ In several clinical and pre-clinical studies, 5-HT_{1A}, 5-HT₄ and 5-HT₆ receptors show preferential advantages comparing to other 5-HT receptors, regarding cognition and memory, hence the interest to explore these for future AD treatments.³¹

3.2.1. 5-HT_{1A} Receptors

The 5-HT₁ receptor has five receptor subtypes (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E} and 5-HT_{1F}) and the 5-HT_{1A} receptor is the most involved in cognition, and can be expressed in the nervous system as a pre-synaptic somatodendritic autoreceptor, as well as in the dorsal and median raphe nuclei, and as a post-synaptic heteroreceptor that receives serotonergic innervation, located in GABAergic and pyramidal neurons, in the amygdala, hippocampus and septum of the limbic system, and, naturally, both differ in their responses when activated.^{30,32,33}

The 5-HT_{1A} autoreceptors when activated by 5-HT or 5-HT_{1A} agonists, induce the opening of K⁺ channels, hyperpolarization of the cell membrane and so the closing of Ca²⁺ channels, reducing 5-HT release in most central brain areas. The regulation of the serotonergic neurotransmission and extracellular serotonin is also kept by these receptors.^{27,30,33}

The 5-HT_{1A} heteroreceptors when stimulated, it occurs a hyperpolarizing response leading to a decrease in ACh and glutamate release.^{33,34} As a result, antagonists of the 5-HT_{1A} receptor could act at post-synaptic sites and augment ACh and glutamate concentrations in the synaptic cleft, presenting as a possible improvement in learning and memory dysfunctions.³⁴

Among the elderly population struggling with Alzheimer's, it has been discovered a density and activity decline of this 5-HT receptor in specific areas of the brain, such as the hippocampus and dorsal raphe nucleus.^{22,24}

5-HT_{1A} receptor blockade by antagonists, especially the heteroreceptors which are most involved in cognitive functions, increasing cholinergic neurotransmission, might represent a novel treatment approach in patients with AD, due to their capacity of enhancing relevant

neurotransmitters into the synaptic cleft. For this reason, pre-clinical and clinical trials are being or were performed to assess their ability to revert cognition and memory deficits in patients with this neurodegenerative disease.²⁴

- **Lecozotan**

Pfizer created the selective, oral 5-HT_{1A} receptor antagonist lecozotan or SRA-333. The administration of this compound increases glutamate and ACh concentrations extracellularly, in rats. The development of this drug was based on the hypothesis that in the early stages of AD, glutamate release is deeply decreased when 5-HT in postsynaptic 5-HT_{1A} receptors is elevated, therefore when inhibiting 5-HT_{1A} receptors, glutamate release is enhanced. Because of this, in the late stages of Alzheimer's, it is highly believed the glutamatergic system is over-activated and the cholinergic system is impaired, hence the beneficial purpose to use lecozotan in cognitive deficits in the beginning of AD symptoms.³⁴

The randomized, double-blind, placebo-controlled trial tried to evaluate the safety, tolerability and efficacy of three different daily doses of lecozotan in patients with mild-to-moderate AD, already using an AChEI. In 2008, the phase II clinical investigation performed, failed to demonstrate significant changes comparing to the placebo, together with some described mild-to-moderate side effects, therefore its development was discontinued.^{29,31,64}

3.2.2. 5-HT₄ Receptors

The post-synaptic 5-HT₄ receptors are distributed in different regions of the human body, such as the gastrointestinal tract, heart, adrenal glands and in some brain structures, specifically the basal ganglia, hippocampus and amygdala, which allows the regulation of multiple functions, namely memory and learning.³⁷ The release of some neurotransmitters like ACh, dopamine and GABA is also modulated by these receptors.²⁷

Various studies demonstrate that the activation of these receptors can stimulate the release of higher quantities of ACh in the rat's hippocampus and frontal cortex, increasing memory.^{36,37} This mechanism is based on the involvement of the 5-HT₄ receptor in an increase of cAMP production, which activates cAMP-dependent PKA, and causes the blockage of Ca²⁺ and voltage-sensitive K⁺ channels, followed by reduction of the after-hyperpolarization period, which augments neuronal excitability in the CNS.^{38,39}

Furthermore, the main interest regarding this receptor relates to its almost certain influence in the non-amyloidogenic pathway of processing APP.^{24,35} As mentioned before, the accumulation of A β plaques in different areas of the brain can lead to the described

manifestations of Alzheimer's, along with other named factors. In the α pathway, also known as the non-amyloidogenic pathway, APP is cleaved by α -secretases, generating sAPP α , with great neurotrophic and neuroprotective features, preventing oxidative harm. Several evidences point to the possibility that the neuronal activity regulates APP metabolism, meaning impaired neuronal activity can contribute to anomalous processing of APP, forming senile plaques.⁴⁰ Previous data has proposed that 5-HT₄ receptor activation promotes the secretion of sAPP α , by upregulating or overexpressing α -secretase, more specifically the enzyme disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10 (ADAM10), causing a decrease in the A β production, therefore a reduction in plaque load in AD mouse models (Figure 4).^{35,41}

The two mechanisms mentioned above may prove the 5-HT₄ receptor has pro-cognitive effects, enhancing learning and memory processes in Alzheimer's brains that are shown to have a significant reduction in the 5-HT₄ receptor-binding sites, in *post-mortem* evaluations.²²

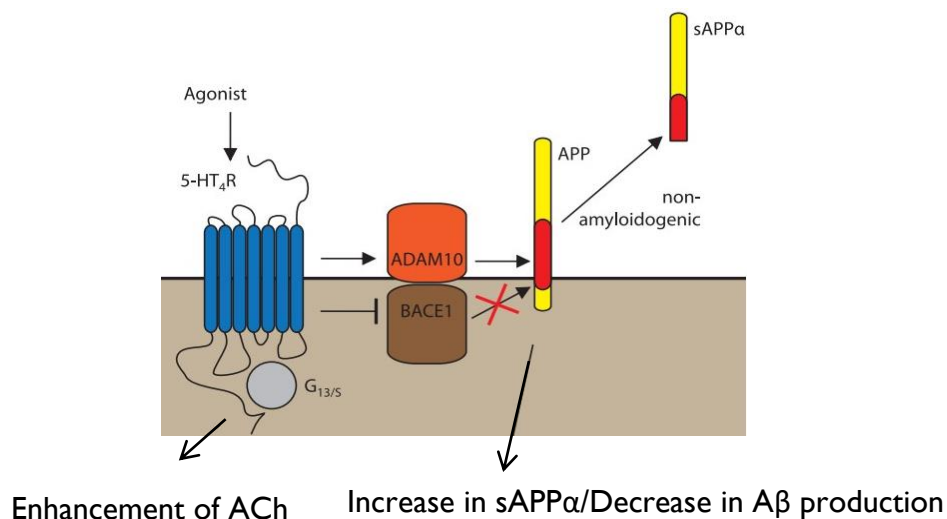


Figure 4. Dual signaling pathway of the 5-HT₄ receptor agonist. ADAM10 metalloproteinase domain-containing protein 10, APP Amyloid β Precursor Protein, BACE I β -secretase, sAPP α soluble APP α . Adapted from ¹⁹

Despite 5-HT₄ receptor agonists being a possible novel therapeutic agent, its receptors are present in the periphery in various parts of the human body, such as the cardiac atrium, which can cause undesirable adverse effects.⁴²

As discussed, 5-HT₄ receptor activation is beneficial to APP metabolism, potentiating the non-amyloidogenic pathway, producing sAPP α with favorable neurologic properties, and to the releasing of ACh throughout parts of the brain related to memory and cognition

functions (Figure 4).⁴³ Accordingly, the interest to develop compounds with these attributes started to increase in the pharmaceutical field.

- **PRX-03140**

PRX-03140 is a highly selective, oral partial 5-HT₄ receptor agonist. As an agonist it potentiates ACh release into the hippocampus and prefrontal cortex, and may repair cholinergic damages that happen in Alzheimer's, as demonstrated in rats under specific testing conditions. These effects can occur synergistically when associated with an AChEI.^{43,44,64}

In pre-clinical trials, PRX-03140 augmented cognitive performance in some animal models, including the reversal of scopolamine-induced memory deficits in rats in a water maze task and improvement of working memory performance, also in rats. It also demonstrated the capacity to reduce brain A β ₄₀ and A β ₄₂ in transgenic mice and aged dogs, followed by increased brain protective sAPP α levels.⁴⁴

Randomized, double-blind, placebo-controlled studies were performed, by Epix Pharmaceuticals, in 2008, to evaluate the efficacy of PRX-03140 in subjects with AD receiving a stable dose of donepezil and to determine the same outcome in patients treated with monotherapy only.⁶⁴ Reaching phase II, in both clinical trials, PRX-03140 showed no significant changes, despite its potential to modify the disease and modulate cognitive processes, hence its discontinuation.⁴³

- **SL 65.0155**

SL 65.0155, a novel benzodioxanoxadiazolone compound, is a selective, oral 5-HT₄ partial agonist from Sanofi-Aventis, which was studied with the idea of using it as a cognitive enhancer. While studying different compounds, scientists must be aware that 5-HT₄ ligands acting as partial agonists in the brain, can also act as full agonists in peripheral tissues or vice versa, meaning side effects can occur in the CNS or the PNS. Unlike many 5-HT₄ receptor agonists, SL 65.0155 lacks side effects in the cardiac and gastrointestinal systems, where it appears to act as an antagonist, as demonstrated in pre-clinical studies in rats, proving to be a potential compound in various diseases.^{42,45}

In spite of SL 65.0155 showing improvements in learning and memory processes, by stimulating cAMP production and increasing ACh, for example using scopolamine-induced deficits to mimic the lower doses of ACh existed in AD, it was discontinued in 2006, only reaching phase II clinical trials. Furthermore, this compound was still tested with the AChEI,

rivastigmine, which proved to have a synergistic effect in behavioral tests with aged rats, such as object recognition and the linear maze performances.^{42,45}

- **RQ-9**

Initially, RQ-9 was developed by Raqualia and now it is being studied by Askat under the name AAT-009, ready to start Phase II, after demonstrating procognitive actions in some mice models. It is established that AAT-009 is an oral, partial 5-HT₄ receptor agonist that may alter the course of Alzheimer's, however little is still known.^{31,43,46}

3.2.3. 5-HT₆ Receptors

The 5-HT₆ receptors are positively coupled to AC activity and are structurally quite different from the other 5-HT receptors having a short, third cytoplasmic loop with one intron and a long C-terminal tail.^{21,47} Their highest expression is in the *nucleus accumbens*, cortex, hippocampus, amygdala, limbic system and striatum, controlling important learning and memory functions in the CNS.²¹ As they have not been yet discovered or may exist in low quantities in the peripheral tissue, compounds that can act on this receptor have lesser chances to exhibit peripheral side effects.²⁷

The 5-HT₆ receptors are predominant on GABAergic interneurons and glutamatergic neurons within 5-HT projection fields in a postsynaptic location (Figure 5), all of which are highly implicated in cognition and memory.⁴⁸ Studies show that agonists are able to inhibit glutamatergic transmission in cortical regions of the brain and modulate neurotransmitters such as dopamine, decreasing it in the rat's brain.⁴³ On the other hand, 5-HT₆ receptor antagonists enhance glutamate levels in the frontal cortex and hippocampus.⁶⁶ Additionally, with their well-known pro-cholinergic effects, 5-HT₆ antagonists can act as a complementary therapy to AChEIs, creating a synergistic mechanism. Although 5-HT₆ receptors are not located on cholinergic neurons, their antagonists seem to be involved in the increase of ACh release explaining, in part, their efficacy in improving memory.^{67,68} Cognition in AD patients can be increased by blocking 5-HT₆ receptors with antagonists leading to higher levels of ACh and glutamate in some extracellular brain regions.^{43,48,49,50} Thus, 5-HT₆ receptor antagonists regulate the balance between neuronal inhibitory activity (GABA) and excitatory activity (glutamate) in the human brain, by increasing cholinergic and/or glutamatergic transmission via inhibition of GABAergic interneurons (Figure 5). As it is known, Alzheimer's alter multiple neurotransmitter systems and the present therapy could be more valuable with adjuvant treatments. Thereby, both agonists and antagonists of the 5-HT₆ receptor demonstrate augmented cognition, depending on the triggered biochemical pathway and the different

receptor population, located in the brain, that it occurs. Nevertheless, the explanation for their paradoxical analogous effect is currently unclear.⁴³

Further pieces of evidence demonstrate that 5-HT₆ receptors mediate different effects, which will end in different agonists and antagonists' effects in memory and cognition performance, and are based on Fyn and the mammalian Target of Rapamycin (mTOR) activation/inactivation. mTOR regulates various physiological processes in maintaining protein homeostasis, depending on its cellular signals that are, in turn, controlled by different components, such as growth factors, insulin, MAPK and p53. It has been shown that the activation of mTOR signaling cascade leads to dysfunction of autophagia, which contributes to the AD pathology and its clinical features, as it is associated with reduced clearance of abnormal proteins and formation of A β plaques and NFTs. Furthermore, mTOR activation might upregulate β - and γ -secretases, which will interfere with APP processing, and consequent A β formation. Mechanisms regarding this molecule as inhibiting mTOR with 5-HT₆ antagonists are still unclear, but they are also a possibility to revert this disease.^{51,52} Another signaling pathway still being investigated to play a role in Alzheimer's is Fyn, belonging to the Src family of non-receptor protein tyrosine kinases, which interacts with the carboxyl-terminal region of the 5-HT₆ receptor, and has elevated expression in brain regions related to cognitive functions. This molecule modulates tau and A β proteins, and 5-HT₆ receptor activation promotes Fyn phosphorylation, whereas Fyn expression increases surface expression of this receptor followed by its higher activity, proving the interaction between 5-HT₆ receptor and Fyn.⁴⁹ Once phosphorylated, Fyn can phosphorylate tau according to recent evidence, contributing to one of the Alzheimer's hallmarks. Additionally, the downstream protein Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2 (ERK1/2), is one of the kinases also involved in tau phosphorylation (Figure 5).^{49,70}

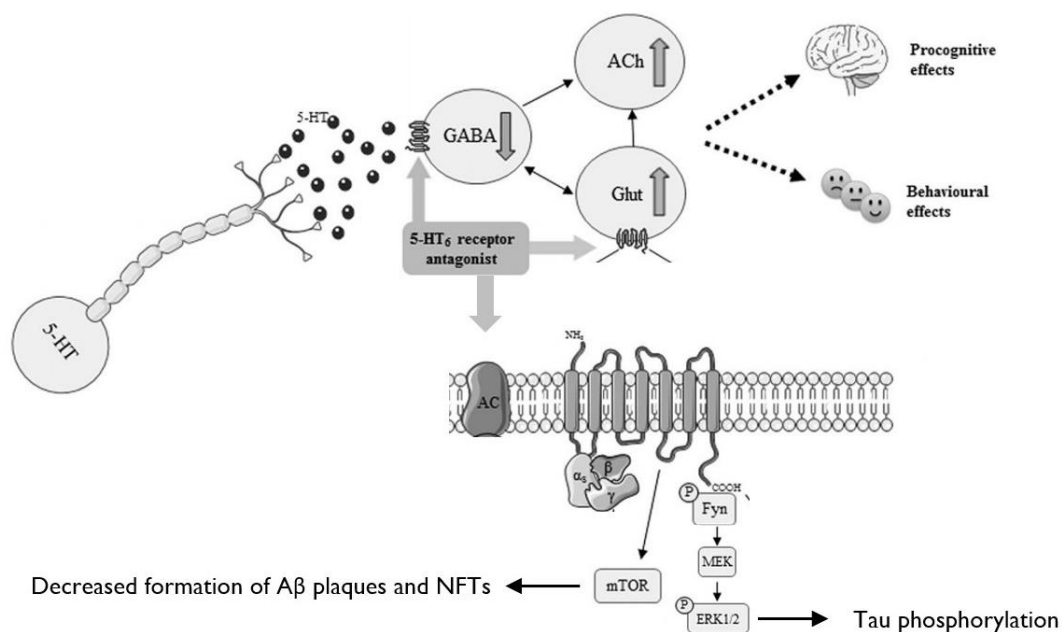


Figure 5. Signaling pathways of 5-HT₆ receptor antagonists. 5-HT Serotonin, AC adenylate cyclase, ACh acetylcholine, cAMP cyclic adenosine monophosphate, ERK^{1/2} extracellular signal-regulated kinase ^{1/2}, GABA gamma-aminobutyric acid, Glut glutamate, MEK mitogen-activated protein kinase kinase, mTOR mammalian target of rapamycin. Adapted from ⁴⁷

So far, the clinical trials performed using 5-HT₆ receptor antagonists monotherapy were not successful in patients with Alzheimer's, therefore pharmaceutical companies started to run clinical trials with 5-HT₆ antagonists as a complementary therapy to AChEI, aiming to aid cognition to the existing treatment and also treat mood alterations, without inducing peripheral cholinergic side effects.⁵³ 5-HT₆ receptor antagonists may be the most promising drugs being developed in pre-clinical and clinical studies due to their well-established procognitive effects and known mechanisms, elevated selectivity and potency, and good penetration in the CNS, even though much is still to be discovered and understood.⁴⁷ There are a few drugs that reached the final phases of clinical trials, although none were still approved for the treatment of Alzheimer's. As for the 5-HT₆ receptor agonists, there is still a scarce understanding proving its cholinergic effects and more research should be conducted, although some compounds are being or were evaluated in pre-clinical studies to reach a better knowledge of their modulation and action.

- **Intepirdine**

Intepirdine reached clinical trials to demonstrate its efficacy in mild-to-moderate Alzheimer's patients, who were also taking the AChEI donepezil.⁶⁴

It was designed as an oral 5-HT₆ receptor antagonist by GlaxoSmithKline (GSK), blocking this receptor and potentiating the release of ACh throughout the brain.⁵⁴ When used synergistically with donepezil, it increases the concentration of ACh in the brain and promotes synaptic neurotransmitter durability, expecting to decrease the characteristic symptoms of AD.^{54,55}

After demonstrating preliminary efficacy in phase I and II clinical trials achieving the primary endpoints that were cognition and function, and the secondary endpoints that included behavioral symptoms, daily living activities and caregiver burden, Axovant Sciences acquired the rights of this drug from GSK and started phase III clinical trials in 2015, denominated MINDSET. The randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial evaluated the safety, efficacy and tolerability of this compound as an adjuvant treatment in patients with mild-to-moderate AD on current donepezil 10 mg therapy. The study compared once-daily oral doses of intepirdine 35 mg to placebo. However, in 2017, MINDSET did not meet its primary endpoints measured by the ADAS-cog and the Alzheimer's Disease Cooperative Study Activities of Daily Living (ADCS-ADL), as the participants receiving intepirdine did not improve in any of the disease assessment scales compared with participants treated with a placebo, and the development of intepirdine was discontinued.^{47,50,64}

- **Idalopirdine**

Initially, idalopirdine or Lu-AE-58054, another oral 5-HT₆ receptor antagonist, was developed to treat schizophrenia. Then Lundbeck, in partnership with the Japanese company Otsuka, started to design this drug to assess the safety, tolerability and efficacy as an adjuvant to donepezil treatment in patients with mild-to-moderate AD, based on the same mechanism as intepirdine.⁷

After promising results from previous phase I and II clinical trials, demonstrating a significant improvement in cognitive function meeting its primary endpoints, measured by the ADAS-cog, three studies were developed as the STAR Phase III program, in 2013, with the names STARSHINE (study 1), STARBEAM (study 2) and STARBRIGHT (study 3). Randomized, double-blind, placebo-controlled trials used a parallel-group, fixed-dose design to investigate the dose-response relationship for idalopirdine (10 mg, 30 mg or 60 mg) among patients receiving stable treatment with donepezil 10 mg in studies 1 and 2, and any AChEI (donepezil, rivastigmine or galantamine) in study 3. In 2017, the three of them showed weak efficacy in adding idalopirdine to an AChEI, failing to reproduce the expected beneficial cognitive

outcomes as already seen in phase II trials, although this compound was considered safe and well-tolerated.^{47,53,64}

Idalopirdine is, until now, the most advanced 5-HT₆ antagonist in terms of a clinical setting, trying to demonstrate its effectiveness in enhancing cognition.

- **SUVN-502**

A recent oral 5-HT₆ antagonist, SUVN-502 or Masupirdine, is being developed by Suven Life Sciences for the treatment of patients with mild-to-moderate Alzheimer's. A successful and no-adverse effects phase I clinical trial made it possible to carry out a phase II randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial, in 2019, evaluating the safety and tolerability of this compound in Alzheimer's patients currently being treated with donepezil hydrochloride and memantine hydrochloride. This was performed due to preclinical studies conducted in animal models, that revealed SUVN-502 was effective in reversing memory deficits in adult rats and memory deficits associated with aging, in addition to showing effectiveness on all three phases of cognition, that are acquisition, consolidation and retrieval, a unique characteristic comparing to other 5-HT₆ receptor antagonists.^{56,64}

Results stated by the pharmaceutical company established SUVN-502 as safe and well-tolerated without significant adverse events. Although Masupirdine + Donepezil + Memantine triple combination missed its outcome in phase II, Suven Life still wants to work out this promising drug that is believed to increase the quantity of ACh in the CNS.⁶⁵

The diverse contributions and investments made in pre-clinical trials and/or clinical trials on 5-HT_{1A}, 5-HT₄, 5-HT₆ receptors agonists or antagonists are what researchers should focus on, since that is the way to develop advanced methods and tools to optimize studies and bring new therapies for Alzheimer's, understanding the neurochemical basis of this disease better, and not about the little improvements over the years made by using them as monotherapy or complementary therapy in patients with AD.

3.3. Targeting Multiple Serotonin Receptors

The main target of pharmaceutical companies interested in developing a modifying drug for Alzheimer's is using one compound with affinity to one receptor. Nowadays, the focus of this research is shifting and the goal is to discover compounds with the ability to bind to different receptors, leading to different beneficial effects, decreasing and/or delaying the many symptoms of the disease.

- **AVN-101**

AVN-101 was developed by Avineuro Pharmaceuticals as an orally bioavailable, 5-HT antagonist for the treatment of neurological disorders, particularly Alzheimer's. It exhibits a high affinity to the 5HT₇ receptor blocking it and has a lesser extent affinity to the 5HT₆, 5HT_{2A} and 5HT_{2C} receptors, also antagonizing histamine H₁ and adrenergic receptors (2B, 2A, and 2C). It represents, mainly, a dual 5HT₆ and 5HT₇ receptors antagonism hoping to bring higher clinical efficacy comparing to ligands only targeting one receptor, since both receptors are present in brain areas crucial to memory and cognition performance, as well as anxiety.^{50,57}

Based on pre-clinical studies showing significant efficacy in specific CNS activities in animal models, the drug progressed to phase I clinical trials demonstrating no adverse effects in certain doses. In 2009, it started phase II trials for AD and anxiety disorders, enabling the enhancement in cognitive symptoms of AD and consequent manifestations of its progression, such as depression and anxiety.^{50,57} It is believed that the focus of its current development is on anxiety disorders.

4. Multitarget-Directed Ligands (MTDL)

There is a recent, innovative pharmaceutical approach based on the design of ligands that, from a single active substance, bind to different molecular targets involved in the neurogenesis of the same specific complex disease, causing a bigger synergistic effect, called Multitarget-Directed Ligands (MTDL). Conventional medical treatments, such as the use of multiple drugs to treat a multifactorial disease or the use of drugs with multiple compounds, have an inferior pharmacokinetic profile and are less prone to accomplish patient compliance or are more likely to have drug-drug interactions, thus the need to look for alternatives.⁵⁸

In Alzheimer's, therapeutic opportunities, new pharmacological targets and disease-modifying cures are being roughly investigating through the years, on the other hand, it is a complex disease with just five single-target drugs approved worldwide, that only alleviate the symptoms for a short period of time, mostly in mild-to-moderate AD patients. In this regard, MTDL could be a new hope of finding an effective intervention, targeting, simultaneously, various pathological molecular causes of AD at once. Nevertheless, this new technique is extremely thorough and still a challenge as the rational design must be effective and well-determined, in a considerable small amount of time, to fill the urgent need of a novel Alzheimer's treatment.⁵⁸

MTDL has been studied for a few years in AD and has led to some compounds, most of them associating an AChEI. To display both AChE inhibition and 5-HT₄ receptor agonist activities, along with the fact that structural analogy promotes a higher chance for the compound to be more successful, Donecopride was created, by joining the AChEI donepezil and the partial 5-HT₄ receptor agonist RS67333. It is, then, the first MTDL to gather these two molecules and rise to pre-clinical studies in Alzheimer's.^{58,63}

4.1. Design of Donecopride

The enzyme AChE has two relevant sites associated with the development of AD and therefore, it is a good target for its treatment. They are the catalytic anionic site (CAS) and the peripheral anionic site (PAS), constituting the dual-binding site (DBS). Mainly the PAS can form a toxic complex with soluble A β , promoting the formation of fibrils, followed by their aggregation into senile plaques, one of the key hallmarks in Alzheimer's. Inhibiting the DBS in AChE, CAS will endure neurotransmitter release and PAS will also be blocked and the formation of the A β peptide slows down, in addition to the decreased breakdown of ACh.^{58,59,60} Donepezil proving its symptomatic actions, was, then, chosen to be part of the structure of donecopride.

The partial 5-HT₄ receptor agonist RS67333 is the other part of the structure of donecopride, due to its positive effects in cognition, memory, object recognition and learning tasks in several animal models of AD. This compound potentiates the release of ACh into the brain, and the non-amyloidogenic cleavage of the APP by α -secretase, producing the neuroprotective fragment sAPP α , leading to a decrease in amyloid pathology.^{58,63}

For these reasons, donecopride, through blockade of PAS and stimulation of the serotonergic subtype 4 receptor, shows a promising pharmacological profile restoring cholinergic neurotransmission.^{58,60} The created MTDL, gathering these complementary activities, may provide symptomatic and disease-modifying effects for a possible AD treatment.

4.2. Donecopride Evaluation

To build a MTDL, it is necessary to evaluate the produced synergic effect by studying through several tests the corresponding capable combination. Reaching the present donecopride molecule was difficult, and many chemical tests were performed, then in vivo investigations started, including different doses, animal models of disease and the use of common behavioral tests, revealing procognitive effects in mice, proving it to be a highly possible therapeutic achievement in treating cognitive disorders associated with AD.⁶⁰

In a scopolamine-induced deficit mouse model, donecopride showed a positive effect on working memory. Moreover, in the recognition memory test, the compound was also successful.⁶⁰ Additionally, improvement of memory performance was demonstrated on the object recognition test in mice.⁵⁸ Finally, using donecopride chronically in 5XFAD mice, which represent some of the characteristics established in the amyloid pathology, in soluble and insoluble regions of the brain a decrease in the amyloid accumulation was observed.⁵⁹

Designing ligands that can target different hallmarks of cureless diseases is a highly favorable field that combines existing therapies, augmenting their effect into one single drug. Alzheimer's is a condition that can considerably benefit from this concept and donecopride, with its demonstrated neuroprotective and neurotrophic cellular effects, together with the enhanced memory capacities, is an example of this and the hope to create more.

5. Conclusion

The present work aims to describe the best possible Alzheimer's characterization and the consequences within. Furthermore, it is explained the several serotonin targets that the scientific community attempted, are attempting and ought to attempt in the future to find an ultimate treatment or a complementary one to the existing therapy for this neurodegenerative disease.

AD is a severe, debilitating disorder and the most common cause of progressive memory and cognitive deterioration, affecting mainly the elderly. Current low natality and high life expectancy lead to an increase in the aging population, representing a major health concern across the globe, with a great economic and social impact. There are only five possible short-term treatments that simply attenuate cognitive symptoms in AD patients and that exhibit some side effects, depending on the dose.

There is still a lack of knowledge concerning the etiology and the pathogenic mechanisms leading to Alzheimer's, hence the difficulty and consequent challenge to develop pharmacological novel treatments. In spite of the huge efforts and resources spent looking for effective interventions and potential targets to prevent, reverse, slow the progression or alter the course of AD, there is still a need to explore and design medication that demonstrates actual efficacy, safety and specificity in the different stages of the disease.

Recent progress is relying upon the capability of 5-HT receptors, which exhibit an important role mainly in the frontal cortex and hippocampus modulating cognition, short and long-term memory, and learning performances as demonstrated in the several pre-clinical and clinical studies performed by multiple pharmaceutical companies. In addition, it is widely showed that in Alzheimer's individuals, as well as in postmortem AD brain studies, a decreased number and density of serotonergic neurons is present mostly in the raphe nuclei.

Throughout this text, more emphasis is given to 5-HT₆ receptor due to its well-known pro-cognitive features, in addition to its almost exclusive localization in the CNS, emerging as a promising target to treat different neuropathologies, like Alzheimer's. The clinical trials carried out were disappointing in the end, however it does not mean that the aim of using this receptor to enhance cognition should be abandoned, rather it demonstrates an opportunity to correct errors made and test different theories in order to achieve the correct treatment.

MTDL is another approach to bring a possible novel treatment in Alzheimer's considering its advantages of being a single agent targeting several receptors and consequent mechanisms of the disease, with fewer adverse effects.

While Alzheimer's still does not have a cure, current investigation and recent advances of this disease's knowledge indicate the urgent need felt by researchers to find a treatment acting via distinct mechanisms than those available at the moment. Until such discoveries and improvements are made, AD will remain an unsolved social, economic and healthcare problem, worldwide.

6. References

1. HUNG, Shih-Ya; FU, Wen-Mei - **Drug candidates in clinical trials for Alzheimer's disease**. *Journal of Biomedical Science*. 24:1 (2017) 47.
2. FISH, Paul V.; STEADMANA, David; BAYLEA, Elliott D. - **New approaches for the treatment of Alzheimer's disease**. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 29:2 (2019) 125–133.
3. TIWARI, Sneham; ATLURI, Venkata; KAUSHIK, Ajeet - **Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics**. *International Journal of Nanomedicine*. 14:14 (2019) 5541–5554.
4. RODRÍGUEZ, José Julio; NORISTANI, Harun N.; VERKHRATSKY, Alexei – **The serotonergic system in ageing and Alzheimer's disease**. *Progress in Neurobiology*. 99:1 (2012) 15–41.
5. LIU, Pei-Pei; XIE, Yi; MENG, Xiao-Yan - **History and progress of hypotheses and clinical trials for Alzheimer's disease**. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 4:1 (2019) 29.
6. RABINOVICI, Gil D. - **Late-onset Alzheimer Disease**. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*. 25:1 (2019) 14–33.
7. CALHOUN, Amanda; KO, Je; GROSSBERG, George T. - **Emerging chemical therapies targeting 5-hydroxytryptamine in the treatment of Alzheimer's disease**. *Expert Opinion on Emerging Drugs*. 22:1 (2017) 101–105.
8. KHOURY, Rita; PATEL, Kush; GOLD, Jake. - **Recent Progress in the Pharmacotherapy of Alzheimer's Disease**. *Drugs and Aging*. 34:11 (2017) 811–820.
9. **The top 10 causes of death** - [Consult. 10 mar. 2021]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
10. CUMMINGS, Jeffrey; LEEA, Garam; MORTSDORF, Travis - **Alzheimer's disease drug development pipeline: 2017**. *Alzheimer's and Dementia: Translational Research and Clinical Interventions*. 3:3 (2017) 367–384.
11. JOSHI, Aditi; RINGMAN, John M.; LEE, Albert S. - **Comparison of clinical characteristics between familial and non-familial early onset Alzheimer's disease**. *Journal of Neurology*. 259:10 (2012) 2182–2188.

12. BARAGE, Sagar H.; SONAWANE, Kailas D. - **Amyloid cascade hypothesis: Pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease.** *Neuropeptides*. 52 (2015) 1–18.
13. KAMETANI, Fuyuki; HASEGAWA, Masato - **Reconsideration of Amyloid Hypothesis and Tau Hypothesis in Alzheimer's Disease.** *Frontiers in Neuroscience*. 12 (2018).
14. CLAEYSEN, Sylvie; BOCKAERT, Joël; GIANNONI, Patrizia - **Serotonin: A New Hope in Alzheimer's Disease?** *ACS Chemical Neuroscience*. 6:7 (2015) 940–943.
15. GAO, Yu; TAN, Lin; YU, Jin-Tai - **Tau in Alzheimer's Disease: Mechanisms and Therapeutic Strategies.** *Current Alzheimer Research*. 15:3 (2018) 283–300.
16. HANE, Francis T.; ROBINSON, Morgan; LEE, Brenda Y.- **Recent Progress in Alzheimer's Disease Research, Part 3: Diagnosis and Treatment.** *Journal of Alzheimer's Disease*. 57:3 (2017) 645–665.
17. CHU, L. W. - **Alzheimer's disease: early diagnosis and treatment.** *Hong Kong medical journal*. 18:3 (2012) 228–37.
18. **FDA Grants Accelerated Approval for Alzheimer's Drug | FDA** - [Consult. 8 jun. 2021]. Disponível em: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-grants-accelerated-approval-alzheimers-drug>
19. KHOURY, Rita; GRYSMAN, Noam; GOLD, Jake. - **The role of 5-HT₆-receptor antagonists in Alzheimer's disease: an update.** *Expert Opinion on Investigational Drugs*. 27:6 (2018) 523–533.
20. SZETO, Jennifer Y.Y.; LEWIS, Simon J.G. - **Current Treatment Options for Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease Dementia.** *Current Neuropharmacology*. 14:4 (2016) 326–338.
21. RAMÍREZ, María Javier - **5-HT₆ receptors and Alzheimer's disease.** *Alzheimer's Research & Therapy*. 5:2 (2013) 15.
22. ŠTRAC, Dubravka Švob; PIVAC, Nela; MÜCK-ŠELER, Dorotea - **The serotonergic system and cognitive function.** *Translational Neuroscience*. 7:1 (2016) 35–49.
23. SAHU, Apeksha; GOPALAKRISHNAN, Lathika; GAUR, Nayana - **The 5-Hydroxytryptamine signaling map: an overview of serotonin-serotonin receptor mediated signaling network.** *Journal of Cell Communication and Signaling*. 12:4 (2018)

731–735.

24. GELDENHUYS, Werner J.; SCHYF, Cornelis J. Van Der - **Role of Serotonin in Alzheimer's Disease**. *CNS Drugs*. 25:9 (2011) 765–781.
25. BERUMEN, Laura Cristina; RODRIGUEZ, Angelina; MILEDI, Ricardo - **Serotonin Receptors in Hippocampus**. *The Scientific World Journal*. 2012 (2012) 1–15.
26. FIDALGO, Sara; IVANOV, Dobril K.; WOOD, Shona H. - **Serotonin: From top to bottom**. *Biogerontology*. 14:1 (2013) 21–45.
27. HENSLER, Julie G. - **Serotonin**. Em *Basic Neurochemistry*. 8. ed. [S.l.] : Elsevier, 2012
Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123749475000158> p. 300–322.
28. HOYER, Daniel; HANNON, Jason P.; MARTIN, Graeme R. - **Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors**. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 71:4 (2002) 533–554.
29. ŠIMIĆ, Goran; BABI, Mirjana; SELINA, Leko - **Monoaminergic neuropathology in Alzheimer's disease**. *Progress in Neurobiology*. 151 (2017) 101–138.
30. AMIDFAR, Meysam; COLIC, Lejla; WALTER, Martin - **Biomarkers of Major Depression Related to Serotonin Receptors**. *Current Psychiatry Reviews*. 14:4 (2018) 239–244.
31. RAMIREZ, Maria J.; LAI, Mitchell K. P.; TORDERA, Rosa M. - **Serotonergic therapies for cognitive symptoms in alzheimer's disease: Rationale and current status**. *Drugs*. 74:7 (2014) 729–736.
32. ALBERT, Paul R.; VAHID-ANSARI, Faranak - **The 5-HT1A receptor: Signaling to behavior**. *Biochimie*. 161 (2019) 34–45.
33. GARCIA-GARCIA, Alvaro L.; NEWMAN-TANCREDI, Adrian; LEONARDO, E. David - **P5-HT1A receptors in mood and anxiety: Recent insights into autoreceptor versus heteroreceptor function**. *Psychopharmacology*. 231:4 (2014) 623–636.
34. BERT, B.; FINKA, H.; ROTHE, J. - **Learning and memory in 5-HT1A-receptor mutant mice**. *Behavioural Brain Research*. 195:1 (2008) 78–85.
35. COCHET, Maud; DONNEGER, Romain; CASSIER, Elisabeth - **5-HT4 receptors constitutively promote the non-amyloidogenic pathway of APP cleavage and**

- interact with **ADAM10**. ACS Chemical Neuroscience. 4:1 (2013) 130–140.
36. LEZOUALC'H, Frank - **5-HT4 receptor and Alzheimer's disease: The amyloid connection**. Experimental Neurology. 205:2 (2007) 325–329.
37. REBHOLZ, Heike; FRIEDMAN, Eitan; CASTELLO, Julia - **Alterations of expression of the serotonin 5-HT4 receptor in brain disorders**. International Journal of Molecular Sciences. 19:11 (2018).
38. SPENCER, J. P.; BROWN, J. T.; RICHARDSON, J. C. - **Modulation of hippocampal excitability by 5-HT4 receptor agonists persists in a transgenic model of Alzheimer's disease**. Neuroscience. 129:1 (2004) 49–54.
39. RESTIVO, Leonardo; ROMAN, François; DUMUIS, Aline - **The Promnesic Effect of G-protein-Coupled 5-HT4 Receptors Activation Is Mediated by a Potentiation of Learning-Induced Spine Growth in the Mouse Hippocampus**. Neuropsychopharmacology. 33:10 (2008) 2427–2434.
40. ROBERT, Sylvain J.; ZUGAZA, José L.; FISCHMEISTER, Rodolphe - **The Human Serotonin 5-HT4 Receptor Regulates Secretion of Non-amyloidogenic Precursor Protein**. Journal of Biological Chemistry. 276:48 (2001) 44881–44888.
41. PIMENOVA, Anna A.; THATHIAH, Amantha; DE STROOPER, Bart - **Regulation of amyloid precursor protein processing by serotonin signaling**. PLoS ONE. 9:1 (2014).
42. MOSER, Paul C.; BERGIS, Olivier E.; JEGHAM, Samir - **SL65.0155, A Novel 5-Hydroxytryptamine 4 Receptor Partial Agonist with Potent Cognition-Enhancing Properties**. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 302:2 (2002) 731–741.
43. LALUT, Julien; KARILA, Delphine; DALLEMAGNE, Patrick - **Modulating 5-HT 4 and 5-HT 6 receptors in Alzheimer's disease treatment**. Future Medicinal Chemistry. 9:8 (2017) 781–795.
44. MILGRAM, Bill; ARAUJO, Joseph; RAGAZZINO, Michael - **PRX-03140: a novel 5-HT4 partial agonist with a dual cholinergic/disease-modifying mechanism for the treatment of Alzheimer disease**. Alzheimer's & Dementia. 2 (2006) S62–S62.
45. BOCKAERT, Joël; CLAEYSEN, S.; COMPAN, V. - **5-HT4 receptors**. ISBN 1568007043.
46. **Portfolio | AskAt, Inc.** - [Consult. 22 abr. 2021]. Disponível em: <https://askat-inc.com/portfolio/>

47. FERRERO, Hilda; SOLAS, Maite; FRANCIS, Paul T. - **Serotonin 5-HT₆ Receptor Antagonists in Alzheimer's Disease: Therapeutic Rationale and Current Development Status.** *CNS Drugs.* 31:1 (2017) 19–32.
48. JONG, Inge E. M. DE; MØRK, Arne - **Antagonism of the 5-HT₆ receptor – Preclinical rationale for the treatment of Alzheimer's disease.** *Neuropharmacology.* 125 (2017) 50–63.
49. YUN, Hyung-Mun; KIM, Sunoh; KIM, Hyun-Ji - **The Novel Cellular Mechanism of Human 5-HT₆ Receptor through an Interaction with Fyn.** *Journal of Biological Chemistry.* 282:8 (2007) 5496–5505.
50. ANDREWS, Megan; TOUSI, Babak; SABBAGH, Marwan N. - **5HT₆ Antagonists in the Treatment of Alzheimer's Dementia: Current Progress.** *Neurology and Therapy.* 7:1 (2018) 51–58.
51. MITCHELL, Ellen Siobhan - **5-HT₆ Receptor Ligands as Antidementia Drugs.** *Em International Review of Neurobiology.* [S.l.]: Elsevier Inc., 2011. v. 96. p. 163–187.
52. CAI, Zhiyou; CHEN, Guanghui; HE, Wenbo - **Activation of mTOR: A culprit of Alzheimer's disease?** *Neuropsychiatric Disease and Treatment.* 11 (2015) 1015–1030.
53. ATRI, Alireza; FRÖLICH, Lutz; BALLARD, Clive - **Effect of idalopirdine as adjunct to cholinesterase inhibitors on change in cognition in patients with Alzheimer disease three randomized clinical trials.** *JAMA - Journal of the American Medical Association.* 319:2 (2018) 130–142.
54. **Intepirdine - Alzheimer's News Today** - [Consult. 27 abr. 2021]. Disponível em: <https://alzheimersnewstoday.com/intepirdine-for-alzheimers-disease/>
55. FULLERTON, Terence; BINNEMAN, Brendon; DAVID, William - **A Phase 2 clinical trial of PF-05212377 (SAM-760) in subjects with mild to moderate Alzheimer's disease with existing neuropsychiatric symptoms on a stable daily dose of donepezil.** *Alzheimer's Research & Therapy.* 10:1 (2018) 38.
56. NIROGI, Ramakrishna; ABRAHAM, Renny; BENADE, Vijay - **SUVN-502, a novel, potent, pure, and orally active 5-HT₆ receptor antagonist: Pharmacological, behavioral, and neurochemical characterization.** *Behavioural Pharmacology.* 30:1 (2019) 16–35.
57. IVACHTCHENKO, Alexandre V.; LAVROVSKY, Yan; OKUN, Ilya - **AVN-101: A**

Multi-Target Drug Candidate for the Treatment of CNS Disorders. Journal of Alzheimer's Disease. 53:2 (2016) 583–620.

58. LALUT, Julien; PAYAN, Hugo; DAVIS, Audrey - **Rational design of novel benzisoxazole derivatives with acetylcholinesterase inhibitory and serotonergic 5-HT₄ receptors activities for the treatment of Alzheimer's disease.** Scientific Reports. 10:1 (2020) 3014.

59. ROCHAIS, Christophe; LECOUTEY, Cédric; HAMIDOUCHE, Katia - **Donecopride, a Swiss army knife with potential against Alzheimer's disease.** British Journal of Pharmacology. 177:9 (2020) 1988–2005.

60. ROCHAIS, Christophe; LECOUTEY, Cedric; GAVEN, Florence - **Novel Multitarget-Directed Ligands (MTDLs) with Acetylcholinesterase (AChE) Inhibitory and Serotonergic Subtype 4 Receptor (5-HT₄ R) Agonist Activities As Potential Agents against Alzheimer's Disease: The Design of Donecopride.** Journal of Medicinal Chemistry. 58:7 (2015) 3172–3187.

61. HAGENA, Hardy; MANAHAN-VAUGHAN, Denise - **The serotonergic 5-HT₄ receptor: A unique modulator of hippocampal synaptic information processing and cognition.** Neurobiology of Learning and Memory. 138 (2017) 145–153.

62. LAMIRAULT, Laëtitia; SIMON, Hervé - **Enhancement of place and object recognition memory in young adult and old rats by RS 67333, a partial agonist of 5-HT₄ receptors.** Neuropharmacology. 41:7 (2001) 844–853.

63. LECOUTEY, Cédric; LEGAY, Rémi; DAVIS, Audrey - **Development of Novel Potential Pleiotropic Compounds of Interest in Alzheimer's Disease Treatment through Rigidification Strategy.** Molecules. 26:9 (2021) 2536.

64. **Home - ClinicalTrials.gov** - [Consult. 13 mai. 2021]. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/>

65. **Suven Life Sciences** - [Consult. 27 mai. 2021]. Disponível em: <http://www.suven.com/drugdiscoveryresearch.aspx#clinical-pipeline-section>

66. DAWSON, L.; NGUYEN, Huy Q.; LI, P. - **The 5-HT₆ Receptor Antagonist SB-271046 Selectively Enhances Excitatory Neurotransmission in the Rat Frontal Cortex and Hippocampus.** Neuropsychopharmacology. 25:5 (2001) 662–668.

67. MARCOS, B.; GIL-BEA, FRANCISCO; Hirst, D. - **Lack of localization of 5-HT₆**

receptors on cholinergic neurons: implication of multiple neurotransmitter systems in 5-HT₆ receptor-mediated acetylcholine release. The European journal of neuroscience. 24:5 (2006) 1299–1306.

68. RIEMER, Claus; BORRONI, Edilio; LEVET-TRAFIT, Bernard - **Influence of the 5-HT₆ receptor on acetylcholine release in the cortex: pharmacological characterization of 4-(2-bromo-6-pyrrolidin-1-ylpyridine-4-sulfonyl)phenylamine, a potent and selective 5-HT₆ receptor antagonist.** Journal of medicinal chemistry. 46:7 (2003) 1273–1276.

70. RICCIONI, Teresa; BORDI, Fabio; MINETTI, Patrizia - **ST1936 stimulates cAMP, Ca²⁺, ERK1/2 and Fyn kinase through a full activation of cloned human 5-HT₆ receptors.** European Journal of Pharmacology. 661:1–3 (2011) 8–14.