

EFEITO ANTI-AMNÉSICO DE UM DERIVADO DE ARILSULFANIL-BENZO-2,1,3-TIADIAZOL EM CAMUNDONGOS: ENOLVIMENTO DA PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

KARLINE DA COSTA RODRIGUES¹; BEATRIZ FUZINATO DOS SANTOS²;
NELSON LUÍS DE CAMPOS DOMINGUES³; ETHEL ANTUNES WILHELM⁴;
CRISTIANE LUCHESE⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – line.karline@hotmail.com; ²Universidade Federal da Grande Dourados; ³Universidade Federal da Grande Dourados – nelsondomingues@ufgd.edu.br; ⁴Universidade Federal de Pelotas – ethelwilhelm@yahoo.com.br (co-orientadora); ⁵Universidade Federal de Pelotas – cristiane_luchese@yahoo.com.br (orientadora)

1. INTRODUÇÃO

As doenças neurodegenerativas afetam funções cognitivas e apresentam altos índices de morbidade e mortalidade (BAIS et al., 2016; US, 2017). Uma das principais complicações destas doenças é a demência, responsável pelo sintoma de amnésia caracterizado como a incapacidade total ou parcial de manter informações previamente adquiridas (US, 2017). Adicionalmente, estudos demonstram que o estresse oxidativo aumenta com a progressão da idade, sendo considerado um fator de risco para desenvolvimento da amnésia (NIEDZIELSKA et al., 2016; BAN et al., 2020)

Em relação aos tratamentos para doenças neurodegenerativas, a maioria destes reduzem a sintomatologia ou a progressão da doença, como por exemplo a donepezila, porém existem algumas limitações no uso (MARUCCI et al., 2021). Assim, não há um medicamento aprovado capaz de tratar estas doenças e que seja isento de efeitos adversos, demonstrando a importância de estudos visando a descoberta de novos tratamentos. Diante disto, a escopolamina (ESC) é amplamente utilizada como um indutor de demência em modelos experimentais, causando o bloqueio de neurônios colinérgicos, sendo usada para a busca de novos tratamentos para demência (SHABANI et al., 2018; LUCHESE et al., 2020).

Neste sentido, nosso grupo de pesquisa tem dedicado atenção à busca por novas alternativas terapêuticas para as desordens neurodegenerativas, tais como a demência (DA SILVA et al., 2017; LUCHESE et al., 2020). Dentre os compostos estudados, destaca-se o 5-((4-metoxifenil)tio)benzo[c][1,2,5]tiadiazol (MTDZ), derivado dos arilsulfanil-benzo-2,1,3-tiadiazóis, que apresentou previamente capacidade de inibir a atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) *in vitro* em estruturas cerebrais de camundongos (SANTOS et al., 2020). Portanto, tendo em vista esta importante propriedade, o presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito antiamnésico do tratamento com o MTDZ em modelo induzido por ESC em camundongos, bem como avaliar a relação com a peroxidação lipídica.

2. METODOLOGIA

O composto MTDZ (Fig. 1) foi sintetizado no Laboratório de Catálise Orgânica e Biocatálise, da Universidade Federal da Grande Dourados (SANTOS et al., 2020). Os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas preconizadas pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (nº CEEA 9099/2021).

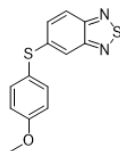


Figura 1. Estrutura química do 5-((4 metoxifenil)tio)benzo[c][1,2,5]tiodiazol(MTDZ)

Para a realização deste estudo foram utilizados camundongos machos adultos da raça Swiss (20-25g). Os animais receberam o tratamento com o MTDZ (10 mg/kg), óleo de canola (10 ml/kg) ou donepezila (Done) (10 mg/kg) pela via per oral (p.o.). Após 30 minutos, realizou-se a administração de ESC (0,4 mg/kg) ou salina 0,9% (5 ml/kg) pela via intraperitoneal (i.p.) (SOUZA et al., 2010). Os tratamentos foram realizados durante 10 dias.

Após 30 minutos da administração de ESC ou salina, do 1º e 5º dia, foi realizado a tarefa comportamental do labirinto de Barnes. Esta tarefa avalia a memória e o aprendizado espacial, e foi realizado de acordo com POMPL et al., (1999). Ao final do protocolo, os animais foram submetidos à eutanásia e o córtex cerebral, hipocampo, fígado e rim foram removidos para as dosagens dos níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúricos (TBARS), realizados de acordo com OHKAWA et al., (1979).

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.), de 8 animais por grupo. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de uma via para o teste do labirinto de Barnes e para os níveis de TBARS, enquanto foi utilizada a ANOVA de duas vias para o treino do labirinto de Barnes, seguidos pelo teste de Tukey. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Fig. 2 representa o resultado do treino na tarefa do labirinto de Barnes. Do dia 2 ao 4, a ESC causou um aumento no número de buracos visitados pelos animais (Fig. 2A), enquanto que nos dias 3 e 4, ocorreu um aumento no tempo de latência para encontrar a caixa de escape (Fig. 2B), quando comparado ao grupo controle. Este resultado indica um prejuízo na memória e no aprendizado espacial, sendo este resultado esperado para este modelo experimental. No dia 4 do treino, o tratamento com MTDZ protegeu contra as alterações comportamentais causadas pela ESC, de maneira similar a Done (controle positivo), evidenciando assim o potencial neuroprotetor desempenhado pelo composto.

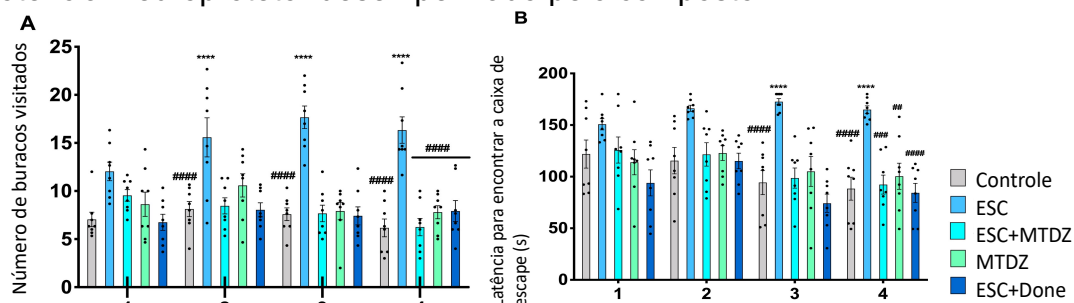


Figura 2. Avaliação do efeito do MTDZ frente o número de buracos visitados (A) e a latência para encontrar a caixa de escape (s) (B) na tarefa do labirinto de Barnes. (****) indicam $p < 0,0001$, quando comparado ao grupo controle; e (##) indicam $p < 0,01$ (###) indicam $p < 0,001$ (####) indicam $p < 0,0001$, quando comparado com o grupo ESC.

A Fig. 3 representa o teste da tarefa do labirinto de Barnes, realizado no dia 5 do protocolo experimental. Pode-se observar que a ESC aumentou o número de

buracos visitados (Fig. 3A) e também do tempo de latência para encontrar a caixa de escape (Fig. 3B), quando comparados ao grupo controle. Este resultado corrobora com o esperado, uma vez a ESC causa amnésia por meio da atividade antagônica em receptores muscarínicos no cérebro de animais (LEE et al., 2017; SHABANI et al., 2018; LUCHESE et al., 2020). Novamente, o tratamento com MTDZ protegeu contra as alterações comportamentais causadas pela ESC na tarefa do labirinto de Barnes, de maneira similar a Done (controle positivo), evidenciando novamente o potencial neuroprotetor do composto.

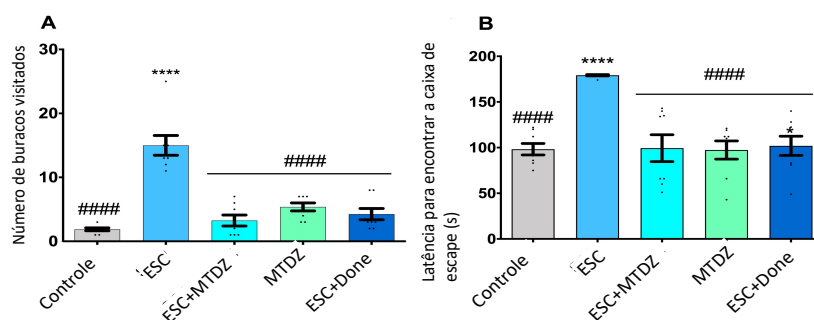


Figura 3. Avaliação do efeito do MTDZ no número de buracos visitados (A) e na latência para encontrar a caixa de escape (s) (B) no dia do teste na tarefa do labirinto de Barnes. (****) indicam $p < 0,0001$, quando comparado ao grupo controle; e (####) indicam $p < 0,0001$, quando comparado ao grupo ESC.

Estudos tem demonstrado que o estresse oxidativo está comumente envolvido na fisiopatologia de doenças neurodegenerativas (NIEDZIELSKA et al., 2016; BAN et al., 2020). Dentre os parâmetros possíveis de serem avaliados, a peroxidação lipídica, através dos níveis de TBARS, é uma dosagem comumente realizada. A Fig. 4 demonstra os níveis de TBARS em córtex cerebral (Fig. 4A), hipocampo (Fig. 4B), fígado (Fig. 4C) e rim (Fig. 4D) dos animais. Os resultados demonstraram que a ESC causou um aumento dos níveis de TBARS, causando uma peroxidação lipídica, em todos tecidos avaliados. O tratamento com o MTDZ foi capaz de proteger contra este dano aos lipídios de membrana, de maneira similar a Done, indicando que o composto pode estar agindo de forma a prevenir a oxidação de lipídios causado pela ESC, podendo esta ação estar contribuindo para a atividade neuroprotetora do composto.

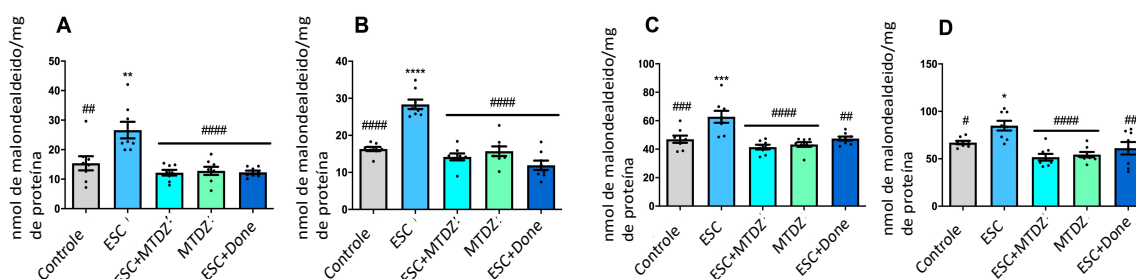


Figura 4. Avaliação do efeito do MTDZ nos níveis de espécies reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARS) no córtex cerebral (4A), (4B) hipocampo, (4C) fígado e (4D) rim de camundongos. (**) indicam $p < 0,01$, (***) indicam $p < 0,001$ e (****) indicam $p < 0,0001$ em comparação ao grupo de controle; (##) indicam $p < 0,01$, (###) indicam $p < 0,001$ e (####) $p < 0,0001$ em comparação ao grupo ESC.

4. CONCLUSÕES

Em conclusão, o presente estudo demonstra que o tratamento com MTDZ protegeu frente o declínio cognitivo causado pela ESC em camundongos, de

maneira similar ao controle positivo utilizado, a Done. Além disso, foi evidenciado que o tratamento com composto foi capaz de modular a peroxidação lipídica tecidual. Porém, mais estudos são necessários para elucidar outros possíveis mecanismos de ação exercidos pelo composto.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAIS, S., R. KUMARI AND Y. PRASHAR. A review on current strategies and future perspective in respect to Alzheimer's disease treatment. **Current Research Neuroscience**, v.6, p.1-15, 2016.
- BAN, J.T., PARK, H.K., KIM, S.K. Effect of Glycyrrhizic Acid on Scopolamine-Induced Cognitive Impairment in Mice. **International Neurology Journal**, v.21, n.1, p.48-55, 2020.
- MARUCCI, G., BUCCIONI, M., BEN, D.D., LAMBERTUCCI, C., VOLPINI, R., AMENTA, F. Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. **Neuropharmacology**, v.190, n.1, p.108352, 2021.
- DA SILVA, F.D., PINZ, M.P., DE OLIVEIRA, R.L., RODRIGUES, K.C., IANISKI, F.R., BASSACO, M.M., SILVEIRA, C.C., JESSE, C.R., ROMAN, S.S., WILHELM, E.A., LUCHESE, C. Organosulfur compound protects against memory decline induced by scopolamine through modulation of oxidative stress and Na⁺/K⁺ ATPase activity in mice. **Metabolic Brain Disease**. v.6, p.1819-1828, 2017.
- LEE, G.Y., LEE, C., PARK, G.H., JANG, J.H. Amelioration of scopolamine-induced learning and memory impairment by α -pinene in C57BL/6 mice. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**;20174926815, 2017.
- LUCHESE, C., VOGT, A.G., PINZ, M.P., DOS REIS, A.S., GOMES, C.B., ALVES, D., WILHELM, E.A. Amnesia-ameliorative effect of a quinoline derivative through regulation of oxidative/cholinergic systems and Na⁺/K⁺-ATPase activity in mice. **Metabolic brain disease**, v.1, p.1, 2020.
- NIEDZIELSKA, E., SMAGA, I., GAWLIK, M., MONICZEWSKI, A., STANKOWICZ, P., PERA, J., FILIP, M. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. **Molecular neurobiology**, v.53, p.4094-4125, 2016.
- OHKAWA, H., OHISHI, N., YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**. v.95, p.351–358, 1979.
- SANTOS, B.F., PEREIRA, C.F., PINZ, M.P., OLIVEIRA, A.R., BRAND, G., KATLA, R., WILHELM, E.A., LUCHESE, C., DOMINGUES, N.L.C. Efficient palladium-catalyzed C-S cross-coupling reaction of benzo-2,1,1-thiadiazole at C-5- position: A potential class of AChE inhibitors. **Applied Organometallic Chemistry**. p.5650, 2020.
- SHABANI, S., MIRSHEKAR, M.A. Diosmin is neuroprotective in a rat model of scopolamine-induced cognitive impairment. **Biomedicine&Pharmacotherapy**, v.108, p.1376-832018, 2018.
- SOUZA, M.A., MAGNI, D.V., GUERRA, G.P., OLIVEIRA, M.S., FURIAN, A.F., PEREIRA, L., MARQUEZ, S.V., FERREIRA, J., FIGHERA, M.R., ROVES, L.F.F. Involvement of hippocampal CAMKII/CREB signaling in the spatial memory retention induced by creatine. **Amino Acids**. 43:2491-2503, 2012.
- POMPL, P.N., MULLAN, M.J., BJUGSTAD, K., ARENDASH, G.W. Adaptation of the circular platform spatial memory task for mice: use in detecting cognitive impairment in the APP(SW) transgenic mouse model for Alzheimer's disease. **Journal of Neuroscience Methods**, 87:87-95, 1999.
- U.S. Alzheimer's Association. Alzheimer's Disease Facts and Figures. **Alzheimer's and Dementia**, v.13, p.325-73, 2017.