

ANÁLISE DA AÇÃO DE COMPOSTOS DE TIAZOLIDINONA SOBRE A AQUISIÇÃO DA MEMÓRIA EM CAMUNDONGOS

STOLL, Franciele Elisa¹; GOUVEA, Daniela²; SILVA, Daniel Schuch da ⁴,
CUNICO, Wilson^{2,4}; GAMARO, Giovana D. ^{3,4}, DA SILVA, Adriana Lourenço ^{4,5}

¹ Ciências Biológicas-UFPEL - francieleelisa.stoll@bol.com.br

² Departamento de Química Orgânica UFPEL - wjcunico@yahoo.com.br

³ Departamento de Bioquímica-UFPEL

⁴ PPGBBIO-UFPEL

⁵ Departamento de Fisiologia e Farmacologia UFPEL – arilourenco@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A memória consiste em diversos mecanismos responsáveis pela aquisição, formação, conservação e evocação de informações. Existem diversas formas para classificar a memória, em relação à duração existem as memórias de curta e as de longa duração. Elas podem ser re-divididas em três fases: a fase de aquisição, é a que transforma os estímulos sensoriais em informação que será posteriormente consolidada ou então esquecida. A fase de consolidação consiste na etapa em que essas informações são armazenadas para o uso dali a muito tempo (memória de longa duração) ou pouco tempo (memória de curta duração). A fase de evocação é que resgata as informações armazenadas na memória para o uso. O tempo para consolidação de uma memória de longa duração é de 3 a 6 horas, memórias que foram adquiridas há menos tempo são consideradas de curta duração (IZQUIERDO, 2002).

As memórias, não são armazenadas de forma integral e mesmo estabelecidas e consolidadas, não são permanentes. Este é o fenômeno do esquecimento: somos melhores na generalização e na abstração de conhecimentos do que na retenção de um registro literal de eventos. O esquecimento é fisiológico e ocorre continuamente, enfraquecendo o traço de memória do que foi aprendido. De fato, esquecer é uma função essencial ao bom funcionamento da memória: seria impossível, e pouco prático, evocar com riqueza de detalhes todas as informações que necessitamos num único dia (DALMAZ, 2004).

A mais preocupante forma de esquecimento pode ser observada na Doença de Alzheimer (DA), uma condição neurodegenerativa, que prejudica irreversivelmente a vida cognitiva do paciente. A amnésia afeta, inicialmente, os fatos recentes e a capacidade de adquirir novas memórias, e evolui afetando a memória remota do indivíduo: os hábitos diários, o reconhecimento de familiares, as habilidades e, por fim, a própria identidade. Causada pela maciça perda sináptica e de tecido cerebral, atinge o hipocampo e o córtex cerebral, regiões associadas à fala e à memória (DALMAZ, 2004; JANUS; WESTAWAY, 2001; ZHAO; TANG, 2002). Apesar de todo o conhecimento acumulado sobre a DA, as

ferramentas terapêuticas para o tratamento farmacológico do Alzheimer e de outras demências já existentes, são ainda pouco específicas e eficazes (DALMAZ, 2004). Porém, a utilização de agonistas colinérgicos tem sido uma estratégia bastante utilizada na busca de tratamentos para o combate à DA e da perda de memória que ocorre no processo de envelhecimento (BALASA et al, 2011; BUCCAFUSCO, 2003). A estimulação de vias colinérgicas por agonistas colinérgicos indiretos (inibidores de acetilcolinesterase-IACHÉ) melhoram a cognição em animais e humanos, enquanto os medicamentos anticolinérgicos tem um efeito negativo sobre as funções cognitivas em humanos (KALARIA; BALLARD, 1999; ROMÁN; TATEMICH, 1993).

As Tiazolidinonas são compostos heterocíclicos que podem ser obtidas através de reação de ciclocondensação “one-pot” entre um aldeído ou cetona, uma amina e o ácido mercaptoacético. Alguns desses compostos são conhecidos por apresentarem diversos tipos de ações no sistema nervoso central - como atividade anticonvulsivante, antipsicótica, analgésica, hipnótica e anti-amnésica (Verma; Saraf, 2008). Recentemente, esta classe de heterociclos também foi estudada como agonista colinérgico do receptor muscarínico 1 para o combate à DA (CHANDRA et al, 2008). Segundo Mattos et al(2013), os compostos derivados das Tiazolidinonas, AK26 e DP9 foram capazes de inibir *in vitro* a acetilcolinesterase-AChE (a enzima que degrada a acetilcolina), no córtex cerebral e no hipocampo de roedores, sugerindo que elas podem ser bons candidatos terapêuticos para o tratamento de disfunções colinérgicas associadas à DA.

Levando-se em consideração o potencial terapêutico e promissor das tiazolidinonas, neste experimento avaliamos a ação dos compostos DP9 e AK26 sobre a aquisição da memória em camundongos.

2. METODOLOGIA

A obtenção dos compostos foi realizada no Laboratório de Síntese Orgânica do NuQuiA (Núcleo de Química Aplicada) do Departamento de Química Orgânica da UFPel sob responsabilidade e supervisão do Prof. Dr. Wilson João Cunico Filho.

Foram utilizados camundongos machos, albinos, da linhagem *BALb/C*, com idade entre dois meses e dois meses e meio obtidos do Biotério Central da UFPel. Foram formados seis grupos experimentais nas três diferentes doses (5,0 mg/Kg, 10 mg/Kg e 20 mg/Kg), seguindo Chandra e colaboradores (2008) e dois grupos controles (solução salina 0,9% e DMSO 20%). A administração das doses foi efetuada 30 minutos antes do treino (aquisição da memória) por via intraperitoneal com seringa hipodérmica em um volume de 0,1 ml/10g de massa do animal. Cada grupo experimental composto por vinte camundongos.

Na etapa de treinamento o animal era colocado sobre a plataforma, suavemente, para então medir-se o tempo que leva para que ele desça até a grade com suas quatro patas, com um limite máximo de 30s. Ao descer da plataforma o animal recebeu uma descarga elétrica intermitente de 0,4 mA durante 10s para o condicionamento de medo do animal.

Na etapa de teste, 3 horas (memória de curta duração) ou 24 horas (memória de longa duração) da etapa de treinamento, os mesmo animais do

respectivo grupo experimental, foram colocados sobre a plataforma, mensurando o tempo de decida, com um limite máximo de 180s. Na etapa de teste os animais não receberam descargas elétricas ao descenderem da plataforma. A medida de memória foi calculada pela diferença entre o tempo de descida no treino e no teste. Os dados foram expressos em mediana e intervalo interquartil e utilizou-se o Teste de Wilcoxon (comparação treino-teste) e Kruskal-Whalis para comparação entre os grupos. Dados foram considerados significativos se $P < 0,05$.

O seguinte projeto foi aprovado pelo comitê de ética com registro no CEEA nº. 9467.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Até o presente momento, apenas o composto DP9(4-NO₂), nas doses de 5mg/kg, 10mg/kg e 20mg/kg foi testado, assim como os grupos controles, DMSO 10% e solução salina 0,9%.

É possível observar na Fig.1, que houve aquisição de memória de curta e longa duração ($P < 0,05$, Wilcoxon) em todos os grupos. Os animais tratados com DP9 não foram diferentes com relação aos grupos controles nas três doses testadas.

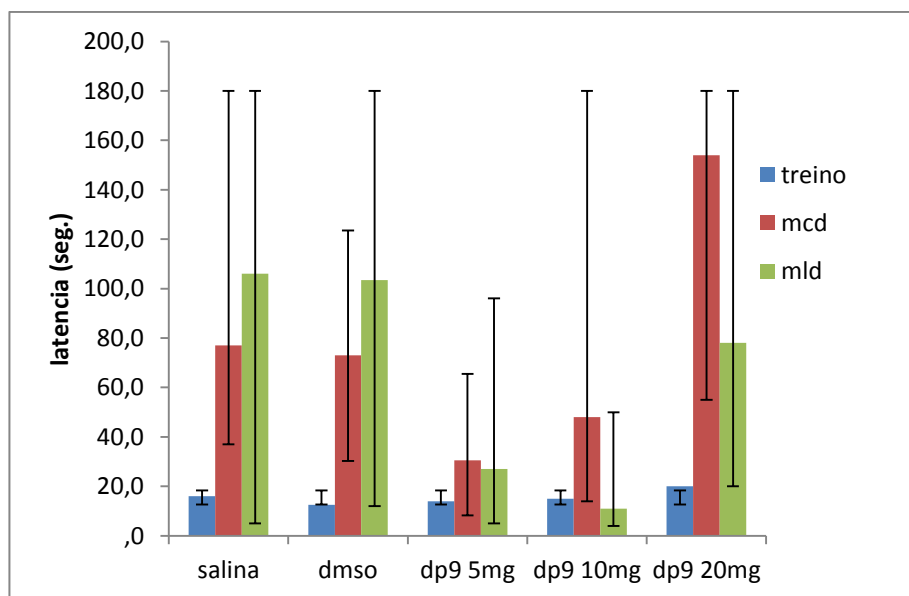


Figura 1: Efeito da DP9 (5, 10, 20mg/Kg), sobre a aquisição da memória de curta e longa duração. Dados expressos em mediana e intervalo interquartil. Kruskal-Wallis.

Apesar de inibir *in vitro* a atividade da AChE no córtex e hipocampo (Mattos et al, 2013) ao administrarmos esses compostos *in vivo*, os mesmos não demonstraram prejuízo ou melhora da memória em relação ao controle. Como não existe relato na literatura de doses efetiva *in vivo* destes compostos, é possível que a melhora da memória só ocorra em doses maiores das testadas até o momento. Sendo assim, a administração de doses maiores desses compostos, serão necessárias para que possamos observar seu efeito sobre a memória.

A continuidade deste trabalho é importante visto que não existe ainda no mercado um medicamento que tenha ação pró-mnésica, melhorando a qualidade

de vida da população idosa com leves perdas cognitivas ou capaz de reverter déficits cognitivos graves observados nas doenças neurodegenerativas como a DA (ALMEIDA, 2006; IZQUIERDO, 2002).

4. CONCLUSÕES

As doses administradas não apresentaram efeito sobre a aquisição da memória em camundongos. Por se tratar de um experimento farmacológico pioneiro, *in vivo*, o ajuste das doses tornou-se algo inevitável.

Os experimentos com doses maiores dos compostos DP9 e AK26 sobre a memória em camundongos estão em andamento, mas a pequena amostra obtida não nos permite inferir qualquer resultado neste momento.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia: Fundamentos Práticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 384 p.
- BALASA, M; GELPI, E.; ANTONELL, A.; REY, M. J.; SANCHEZ-VALLE, R.; MOLINUEVO, J. L.; LLADO, A. Clinical features and *APOE* genotype of pathologically proven early-onset Alzheimer disease. **Neurology**, v. 76, n. 20, p. 1720-1725, 2011.
- BUCCAFUSCO, J.J. The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: recent challenges and their implications for novel drug development. **J. Pharmacol. Exp**, v. 306, n. 3, p 821–827, 2013.
- CHANDRA, J. O. N. E. S.; MALVIYA, M.; SADASHIVA, C. T.; SUBHASH, M. N.; RANGAPPA, K. S.. Effect of novel arecoline thiazolidinones as muscarinic receptor 1 agonist in Alzheimer's dementia models. **Neurochemistry International**, v. 52, n. 6-8, p. 376–383, 2008.
- DALMAZ, C.; NETTO, C. A. A Memória. **Ciência e Cultura**, v. 56, n. 1, p 31–31, 2004.
- IZQUIERDO, I. **Memória**. Porto Alegre, ArtMed Editora S.A. 2002.
- JANUS, C.; WESTAWAY, D. Transgenic mouse models of Alzheimer's disease. **Physiol Behav**, v. 6, n. 5, p 86 – 100, 2001.
- KALARIA, R.N.; BALLARD, C. Overlap between pathology of the Alzheimer disease and vascular dementia. **Alzheimer Dis Assoc Disord**, v. 5, n. 4, p. 23, 1999.
- MATTOS, Bruna et al. Efeito *in vitro* de tiazolidinonas na atividade da enzima acetil colinesterase de córtex cerebral e hipocampo de ratos. In: PELOTAS XXII CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. **Anais**, 2013. Universidade Federal de Pelotas.
- ROMÁN, G.C.; TATEMICH, T. K. Vascular dementia: diagnostic criteria for research studies. Report of the NINCDS-AIREN internacional workshop. **Neurology**, v. 43, n. 3-9, p. 250-60, 1998.
- ZHAO, Q.; TANG, X.C. Effects of huperzine A on an acetylcholinesterase isoforms *in vitro*: comparison with tacrine, donepezil, rivastigmine and physostigmine. **Eur J Pharmacol**, v. 35, n. 2-3, p. 455, 2002.