

Planejamento, Síntese e Avaliação Farmacológica de um novo candidato a protótipo de fármaco ansiolítico – Possível Mecanismo Envolvido

Adriane Ferreira de BRITO^{1,2,a}, Elson Alves COSTA^{2,b}, José Luís RODRIGUES², Pablinny Moreira GALDINO³ e Ricardo MENEGATTI¹

¹Laboratório de Química Farmacêutica Medicinal, FF/UFG

²Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais, ICB-2/UFG

³Laboratório de Neurofarmacologia, CCB/UFSC

^apharmachristh@gmail.com

^bxico@icb.ufg.br

Palavras chave: Derivado piperazínico, Atividade tipo ansiolítica, Ansiedade, Mecanismo de Ação

INTRODUÇÃO

A ansiedade é um sentimento vago e desagradável de “medo”, apreensão, caracterizado por tensão ou desconforto derivado de antecipação de perigo, de algo desconhecido ou estranho (Castillo et al., 2000), é a emoção relacionada ao comportamento de avaliação de risco, que é evocada em situações em que o perigo é incerto, ou há uma ameaça potencial. A ansiedade pode ocorrer devido a um contexto novo ou porque o estímulo do perigo esteve presente no passado, porém não está mais no meio ambiente (Graeff, 2007).

Alguns derivados piperazínicos possuem atividade no Sistema Nervoso Central como, antipsicóticos (Bali *et al.*, 2010; Neves et. al., 2010), anticolinesterásico (Sadashiva et al., 2006) e ansiolíticos (Neves et. al., 2010).

Visando explorar a atividade farmacológica central de compostos piperazínicos, que sejam sintetizados de forma mais rápida, e de obtermos compostos piperazínicos mais simples este trabalho propõe a síntese e o estudo de um novo derivado piperazínico (LQFM08) com atividade farmacológica central em modelos comportamentais em camundongos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Metodologia utilizada na síntese do composto LQFM08

A rota sintética utilizada consistiu de três etapas, a primeira foi à etapa de condensação (Finar e Hurlock, 1957), seguida da etapa de formilação (Blazevic et

al., 1979), e a terceira e última etapa consistiu da reação de aminação reductiva (Luo, 2004).

Avaliação Farmacológica

Animais: Nos testes farmacológicos foram utilizados camundongos adultos machos albinos Swiss, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Goiás.. Os animais foram mantidos em ciclo claro-escuro de 12 h com temperatura controlada de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, com ração e água *ad libitum*. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Goiás (nº 104/11).

Teste Geral de Atividade Farmacológica: os animais tratados com veículo (Tween 2,0%) 10 mL/kg ou LQFM08 nas doses de 0,06; 0,30; 0,70 1,10; 2,40 ou 3,60 mmol/kg, pelas vias oral, intraperitoneal e subcutânea, foram observados em deambulação livre como descrito em metodologia adaptada de Malone (1977).

Teste do Campo Aberto: sessenta minutos após os tratamentos (v.o.) com veículo (Tween 2,0%) 10 mL/kg, LQFM08 nas doses de 100, 200 e 400 $\mu\text{mol/kg}$, ou diazepam 17,51 $\mu\text{mol/kg}$ os animais foram observados em um campo aberto como descrito por Archer (1973), adaptado de Siegel (1946).

Teste da Barra Giratória: os animais sessenta minutos após os tratamentos (v.o.) com veículo (Tween 2,0%) 10 mL/kg, LQFM08 nas doses de 100, 200 e 400 $\mu\text{mol/kg}$, ou diazepam 17,51 $\mu\text{mol/kg}$ foram colocados em uma barra giratória por um minuto, sendo observado o número de quedas e o tempo de permanência de cada animal como descrito por Dunham e Miya (1957).

Teste do Sono Induzido por Pentobarbital Sódico: os animais foram pré-tratados (v.o.) com veículo (Tween 2,0%) 10 mL/kg, LQFM08 nas doses de 100, 200 e 400 $\mu\text{mol/kg}$, ou diazepam 17,51 $\mu\text{mol/kg}$ e em seguida receberam pentobarbital sódico 50 mg/kg (i.p.) A latência e a duração do sono foram medidos como descrito por Carlini e Burgos (1979).

Teste do Labirinto em Cruz Elevado: sessenta minutos após os tratamentos (v.o.) com veículo (Tween 2,0%) 10 mL/kg, LQFM08 nas doses de 25, 50, 100, 200 e 400 $\mu\text{mol/kg}$, ou diazepam 3,51 $\mu\text{mol/kg}$, os animais foram colocados individualmente no labirinto em cruz elevado e foram observados por 5 min, para avaliação dos parâmetros comportamentais indicativos de efeito tipo ansiolítico como descrito por Lister (1987) e Pellow *et al.* (1985).

Caixa Claro-Escuro: sessenta minutos após os tratamentos (v.o.) com veículo (Tween 2,0%) 10 mL/kg, LQFM08 nas doses de 25, 50, 100, 200 e 400 µmol/kg, ou diazepam 3,51 µmol/kg, os animais foram colocados na caixa claro-escuro e observados por 5 min, para avaliação dos parâmetros comportamentais indicativos de efeito tipo ansiolítico como descrito por Crawley e Goodwin (1980).

Estudo dos Possíveis Mecanismos Envolvidos no Efeito tipo Ansiolítico: os animais foram pré-tratados (i.p) com salina 0,9%, flumazenil 6,6 µmol/kg ou NAN-190 1,3 µmol/kg e 30 min após foram tratados com veículo (Tween 2,0%) 10 mL/kg ou LQFM08 100 µmol/kg. Após 60 min dos tratamentos os animais foram submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado.

Análise Estatística: Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média. Os dados foram analisados por análise de variância (ANOVA) seguida do pós-teste de Student-Newman-Keuls. As diferenças foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A rota sintética proposta permitiu a obtenção de 195,4 mg de um sólido amarelo, com um rendimento de 55%, com fórmula molecular de $C_{17}H_{22}N_4O_2$, que foi caracterizado como um composto piperazínico.

No teste geral de atividade farmacológica O tratamento com LQFM08 causou efeitos neurotóxicos com as doses mais elevadas, estes efeitos foram convulsão seguida de morte, porém em doses menores o tratamento com LQFM08 levou a redução na movimentação espontânea, podendo indicar uma atividade depressora central.

Para o prosseguimento da avaliação da atividade central foi realizado os testes da barra giratória, do campo aberto e do sono induzido por pentobarbital sódico.

No teste da barra giratória, não houve alteração no número de quedas dos animais tratados com LQFM08, nas doses utilizadas, indicando que não há comprometimento na coordenação motora forçada.

A ausência de efeitos na atividade motora foi confirmada no teste do campo aberto, aonde o tratamento com LQFM08 não alterou o número de cruzamentos, o tempo de imobilidade e o número de levantadas, porém os animais apresentaram preferência pelo centro do campo, indicado pelo aumento no número de

cruzamentos no centro e no tempo gasto nesta área, sugerindo uma possível atividade tipo ansiolítica.

Além disso, no teste do sono induzido por pentobarbital sódico, o tratamento com LQFM08 na maior dose utilizada aumentou a duração do sono, indicando uma possível atividade depressora central.

Para confirmar a atividade tipo ansiolítica foi realizado os testes do labirinto em cruz elevado e da caixa claro-escuro. No teste do labirinto, os animais tratados com LQFM08 apresentaram preferência pelos braços abertos, caracterizado pelo aumento no número de entradas e pelo aumento no tempo gasto nos braços abertos, além de reduzir o tempo gasto na plataforma central. Já no teste da caixa claro-escuro, o tratamento com LQFM08 aumentou o número de transições e o tempo gasto na área clara da caixa. As alterações comportamentais observadas nos testes de labirinto e caixa confirmam a atividade tipo ansiolítica.

Visando esclarecer um possível mecanismo de ação da atividade tipo ansiolítica, os animais foram pré-tratados com flumazenil (antagonista benzodiazepínico) e NAN-190 (antagonista serotoninérgico). O pré-tratamento com flumazenil não alterou os parâmetros observados no labirinto, mostrando atividade tipo ansiolítica mesmo com o pré-tratamento com o antagonista benzodiazepínico. Já o pré-tratamento com NAN-190 reverteu à atividade tipo ansiolítica do composto LQFM08, demonstrando o envolvimento serotoninérgico na atividade tipo ansiolítica do composto LQFM08.

CONCLUSÕES

O composto LQFM08 é um derivado piperazínico inédito que foi sintetizado de maneira rápida. Este composto demonstrou ser neurotóxico em altas doses, e em doses menores exerceu atividade tipo ansiolítica em modelos animais de ansiedade, e essa atividade tipo ansiolítica envolve mecanismos serotoninérgicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Archer, J., **Tests for emotionality in rats and mice: a review.** Anim. Behav. 21 (2): 205 – 35, 1973

Bali, A., Sharma, K., Bhalla, A., Bala, S., Reddy, D., Singh, A., Kumar, A., **Synthesis, evaluation and computational studies on a series of acetophenone based 1-(aryloxypropyl)-4-(chloroaryl) piperazines as potential atypical antipsychotics.** European Journal of Medicinal Chemistry. Vol. 45, Issue 6, Pag. 2656-2662, 2010.

- Blazevic, N.; Kolbah, D.; Berlin, B.; Sunjic, V.; Kajfez, F.; **Synthesis**, 161, 1979
- Carlini, E.A., Burgos, V., **Screening farmacológico de ansiolíticos: Metodologia laboratorial e comparação entre diazepam e clorobenzepam**. Ver. Assoc. Bras. Psiquiatr., 1 (3): 25 – 31, S. Paulo, 1979.
- Castillo, A.R., Recondo, R., Asbahr, F.R., Manfro, G.G. **Transtornos de ansiedade**. Revista Brasileira de Psiquiatria. 22 (SupL II): 20-3; 2000.
- Crawley, J.N. and Goodwin, F.K., **Preliminary report of a simple animal behaviour for the anxiolytic effects of benzodiazepines**. Pharmacol. Biochem. Behav. **13**, p. 167–170, 1980.
- Dunham, N.W. & Miya, T.S., **A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice**. J. Amer. Pharm. Assoc. 46: 208 – 210, 1957.
- Finar, I.; Hurlock, R. **The preparation of some trinitrophenylpyrazoles**. Journal of the Chemical Society, 3024-302, 1957.
- Graeff, F.G. **Ansiedade, pânico e o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal**. Rev. Bras. Psiquiatr., Vol. 29 (Supl 9), pg S306, 2007.
- Lister, R.G. **The use of a plus maze to measure anxiety in the mouse**. Psychopharmacology, Vol. 92, n.2, p. 180-5, 1987
- Luo, G., Mattson, G. K., Bruce, M. A., WONG, H., MURPHY, B.J., LONGHI, D., ANTAL-ZIMANYI, I., POINDEXTER, G. S. **Isosteric N-arylpiperazine replacements in a series of dihydropyridine NPY₁ receptor antagonists**. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. v. 14, p. 5975-5978, 2004.
- Malone, M. H. **Pharmacological approaches to natural product, screening and evaluation**. In: New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity. Berlin: Verlag. p. 24-53, 1977.
- Neves, G., Menegatti, R., Antonio, C.B., Graziottin, L.R., Vieira, R.O., Rates, S.M.K., Noël, F., Barreiro, E.J., Fraga, C.A.M., **Searching for multi-target antipsychotics: Discovery of orally active heterocyclic N-phenylpiperazine ligands of D₂-like and 5-HT_{1A} receptors**. Bioorganic & Medicinal Chemistry. Vol. 18, p. 1925-1935, 2010
- Pellow, S.; Chopin, P.; File, S.; Briley, M., **Validation of open-closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat**. Journal of Neurosciences Methods, v. 14, p. 149 – 167, 1985
- Sadashiva, C.T., Chandra, J.N.N.S., Ponnappa, K.C., Gowda, T.V., Rangappa, K.S., **Synthesis and efficacy of 1-[bis(4-fluorophenyl)-methyl]piperazine derivatives for acetylcholinesterase inhibition, as a stimulant of central cholinergic neurotransmission in Alzheimer's disease**. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. Vol. 16, Issue 15, Pag. 3932-3936, 2006.
- Siegel, P.S. **A simple electronic device for the measurement of gross bodily activity of small animals**. J. Psychol. 21: 227 – 236. 1946

ORGÃOS FINANCIADORES: Capes, CNPq, FAPEG e FUNAPE(GO).