

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
Curso de Ciências Biológicas – Licenciatura



Trabalho de Conclusão de Curso

**Análise da ação de dois compostos de tiazolidinonas sobre a ansiedade,
aquisição e evocação da memória em camundongos**

Laura Giroletti Barreto

Pelotas, 2018

Laura Giroletti Barreto

**Análise da ação de dois compostos de tiazolidinonas sobre a ansiedade,
aquisição e evocação da memória em camundongos**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Adriana Lourenço da Silva

Pelotas, 2018

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas Catalogação na Publicação

B273a Barreto, Laura Giroletti

Análise da ação de dois compostos de tiazolidinonas sobre a ansiedade, aquisição e evocação da memória em camundongos / Laura Giroletti Barreto ; Adriana Lourenço da Silva, orientadora. — Pelotas, 2018.

41 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) — Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Ak 13. 2. Ak 26. 3. Ansiedade. 4. Doenças degenerativas. I. Silva, Adriana Lourenço da, orient. II. Título.

CDD : 614.5822

Elaborada por Ubirajara Buddin Cruz CRB: 10/901

Laura Giroletti Barreto

Análise da ação de dois compostos de tiazolidinonas sobre a ansiedade, aquisição e evocação da memória em camundongos

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial, para obtenção de grau de Licenciatura, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 30 de novembro de 2018.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Adriana Lourenço da Silva (Orientadora) Doutora em Bioquímica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Giovana Duzzo Gamaro (Banca) Doutora em Bioquímica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Giana de Paula Cognato (Banca) Doutora em Bioquímica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Prof. Dr. Izabel Cristina Custodio de Souza (Suplente) Doutora em Bioquímica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Dedico este trabalho àqueles que sempre foram a base e o pilar para a realização de todos os meus sonhos, bem como a concretização de mais essa etapa na minha vida, meus pais e meu irmão.

Agradecimentos

Primeiramente, ELE NÃO!

Antes de qualquer agradecimento, gostaria de primeiramente me parabenizar e agradecer por todos os esforços direcionados para o fim desta etapa e, inesperadamente, a realização de um sonho até então, nunca sonhado.

Inicialmente gostaria de agradecer a Universidade Federal de Pelotas por todas as oportunidades ao longo destes seis anos de caminhada e companheirismo de ensino público e de qualidade.

Gostaria de agradecer a todos os meus professores, em especial aos do IB, pois por mais que N professores tenham passado pela minha vida durante esses quase 23 anos de sala de aula, com vocês eu aprendi a enxergar-los como colegas e não mais como seres detentores do saber que sempre estiveram acima de mim aos quais deveria “Temer” e idolatrar. E assim, eu aprendi a admirar cada professor que cruzou meu caminho. Inúmeros foram os professores que me mostraram exatamente o que não fazer, aquilo que não falar, o que não reproduzir como profissional, através de práticas e metodologias medíocres, discursos de ódio, comportamentos e ações contrárias às que deveriam caracterizar um educador/professor. A esses professores queria dizer que vocês têm o meu mais singelo “obrigada!”, obrigada por me mostrarem a profissional que eu jamais gostaria de ser. Outros inúmeros professores, e tive muita sorte que foram muitos, se destacaram por suas práticas, comportamentos, palavras, incentivos e acabaram me mostrando um caminho ao qual, inconscientemente, eu descobri que amava e queria trilhar. E foi na área inicialmente mais terrível e sem graça, Botânica, que encontrei a grande inspiração do caminho ao qual trilhar e a forma como enxergar tanto a docência, como as adversidades do mundo, um agradecimento especial a Profa. Raquel, muito obrigada por trazer a paixão pelo que fazemos para a minha vida. À esses professores, vocês tem minha eterna gratidão. Vocês me presentearam com o amor pela docência e a vontade de plantar a “sementinha da mudança” e mesmo que demore anos, um dia terei o reconhecimento que hoje tenho por vocês.

Professora Adriana, obrigada por aceitar ser minha orientadora e me auxiliar na construção e realização deste projeto, que por muitas vezes pareceu infinito e inacabável, obrigada pela confiança e pela disposição.

Agradeço ao laboratório de Síntese Orgânica do Núcleo de Química Aplicada (LaQuiABio), ao professor Wilson Cunico e colaboradores pelos recursos concedidos que tornaram esse trabalho passível de execução.

Agradeço ao biotério central da Universidade Federal de Pelotas e seus colaboradores por toda a ajuda e disposição e por serem peça fundamental para a realização dos experimentos.

Aos amigos conquistados ao longo destes anos em Pelotas, vocês foram minha família e o meu apoio por milhares de vezes. Adriéle e Andreza muito obrigada por todas as palavras, todos os puxões de orelha e todas as lições de moral, muitas vezes foram vocês que me fizeram acordar e enfrentar mais um dia (ou menos um dia... hahaha), vocês sempre estiveram presentes, mesmo nos meus mais relapsos momentos, obrigada por tudo e principalmente, por me aturarem todos os dias e me desculpem pela péssima amiga que fui muitas vezes, espero ter vocês presentes na minha vida sempre e que a distância jamais seja um empecilho. Mayana, mulher da minha vida, obrigada por ser a minha pessoa, por nós sermos nós e por me fazer enfrentar todas as manhãs com o pior/melhor humor do mundo. Alison, o chuchu do meu coração, o anjo que caiu do céu para alegrar os meus dias e a minha vida para sempre, obrigada por tudo meu melhor. Dayana, mulher, obrigada por ser minha 'mãe', minha psicóloga, minha amiga para todas as horas, obrigada por me acolher e compartilhar comigo os melhores e piores momentos e obrigada por continuar sempre presente, meu melhor presente. A todos àqueles amigos e colegas que de alguma forma transformaram minha trajetória acadêmica mais agradável e menos "surtável", meu muito obrigado, vocês também fazem parte da minha história e de alguma forma, marcaram minha vida.

Aos amigos que deixei em Osório, vocês sem dúvida fazem parte da minha vida e não poderia deixar de agradecer todo o apoio, conselhos e torcida para chegar até o fim. Se hoje sou quem sou, devo muito disso a vocês, muito obrigada por serem as melhores pessoas que eu poderia querer ter ao meu lado.

Willian, obrigada por todo o apoio e amparo durante esses cinco anos. Obrigada por estar sempre presente, por enfrentar minhas crises e loucuras diárias e meu mau-humor infinito. Obrigada por todo o amor, carinho e compreensão, obrigada por ser você e por tudo o que construímos e desconstruímos juntos todos os dias, meu amor.

Carlos Henrique, meu nenê, obrigada por tomar o meu lugar e ser o irmão mais velho e racional que eu esqueci de ser muitas vezes. Obrigada por tomar conta de tudo sozinho no tempo em que fiquei fora e desculpa ter te deixado desamparado durante esse tempo. Obrigada por compreender as minhas falhas e por não desistir de mim. Obrigada por me ouvir mesmo sem querer e por compartilhar comigo tuas angústias, me mostrando que com foco e acreditando que eu sou capaz, tudo daria certo.

Finalizo agradecendo aos meus pais pela força e apoio para a conclusão desta etapa, por tudo o que tenho e por tudo o que sou. Obrigada por todo esforço e dedicação para que todos os meus sonhos pudessem ter a oportunidade de serem realizados e concretizados. Obrigada por serem o pilar do meu mundo e por serem o porto seguro ao qual sempre posso regressar, por todo o amparo e apoio necessário para seguir sempre em frente. Obrigada por todos os conselhos, todas as críticas e todos os colos e palavras de carinho nos piores momentos destes últimos seis anos, e não foram poucas as vezes que liguei querendo desistir de tudo e voltar para casa. No entanto, graças a vocês, essa etapa está finalmente se concretizando da melhor forma possível. Obrigada pelas oportunidades e por sempre me proporcionarem o mundo, mesmo quando eu achava que não era capaz, vocês me mostravam que sim, eu sou. E é com isso em mente que finalizo esta etapa, com o pensamento de que sou, como pessoa e professora, capaz de mudar o mundo.

Resumo

BARRETO, Laura Giroletti. **Análise da ação de dois compostos de tiazolidinonas sobre a ansiedade, aquisição e evocação da memória em camundongos.** 2018. 41f. Trabalho de Conclusão de Curso, Instituto de Biologia – Graduação em Ciências Biológicas – Licenciatura, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

O cérebro é, sem dúvida, uma das estruturas mais complexas existentes na natureza, está em permanente construção, assim como o repertório de memórias do indivíduo. A memória é uma função cognitiva, formada pela aquisição, conservação e evocação das informações processadas ao longo da vida. Essas informações constituem o acervo de memórias, o que caracteriza cada indivíduo. A ansiedade, por sua vez, é um sentimento vago e desagradável de medo, apreensão, caracterizada por tensão ou desconforto derivado de antecipação de perigo eminente, de algo desconhecido. Os sintomas da ansiedade podem prejudicar funções cognitivas e/ou outra comorbidade. Atualmente, poucos fármacos podem diminuir os prejuízos cognitivos, principalmente daqueles decorrentes de doenças neurodegenerativas como a Doença de Alzheimer. Os psicoestimulantes podem melhorar a atenção e conseqüentemente a memória e o aprendizado, contudo tem a tendência de aumentar a ansiedade. As tiazolidinonas são compostos heterocíclicos que apresentam diversas atividades biológicas, incluindo atividades no sistema nervoso central principalmente via transmissão colinérgica. Surgem assim como alternativa na busca de novos fármacos específicos para atenuar o déficit de memória e melhorar as funções cognitivas degeneradas. Neste estudo, foram analisados os compostos AK 26 (4-CH₃) e AK 13 (2-F) sobre a aquisição e evocação da memória de curta e longa duração e seus potenciais efeitos como ansiolíticos, utilizando três diferentes doses de cada composto, 50mg/kg, 100 mg/kg e 200 mg/kg. A tarefa comportamental utilizada para análise de memória foi a esQUIVA inibitória que consistia em etapas de treino e teste, onde no treinamento o animal recebia um choque de baixa intensidade (4 mA) e o tempo de descida foi cronometrado. Para análise da ansiedade a tarefa comportamental utilizada foi o labirinto em cruz elevado e o tempo e o número de entradas nos braços do labirinto foram contados. Os compostos AK 26 e AK 13 não apresentaram melhora na aquisição da memória de curta ou longa duração e na evocação da memória de curta duração, também não apresentaram traços ansiolíticos ou ansiogênicos.

Palavras-chave: AK 13; AK 26; ansiedade; doenças degenerativas.

Abstract

BARRETO, Laura Giroletti. **Analysis of the action of two thiazolidinone compounds upon anxiety, acquisition and evocation of memory on mice.** 2018. 41f. Trabalho de Conclusão de Curso, Instituto de Biologia – Graduação em Ciências Biológicas – Licenciatura, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

The brain is, no doubt, one of the most complex structures existent in nature, is in permanent construction, as well as memories repertoire of each individual. The memory is a cognitive function form by acquisition, conservation and evocation of information processed throughout life. This informations constitute the collection of memories, which characterize each person. The anxiety, on the other hand, is a vague and unpleasant feeling of fear or apprehension characterized by tension or discomfort driven by anticipation of imminent danger, of something unknown. The symptoms of anxiety can damage cognitive functions and/or other comorbidities. Currently few drugs can reduce the cognitives damages especially those resulting from neurodegenerative diseases like the Alzheimer's disease. The psychostimulants can improve attention and consequently memory and learning however it has the tendency to increase anxiety. The thiazolidinone are biocyclic compounds that present several biological activities including activities in the central nervous system most often by cholinergic transmission. Along side that more researches looking for new drugs specially those to attenuate memory deficit and improve the cholinergic function degenerated has been produced. In this study will be analyzed the compounds AK 26 (4-CH₃) and AK 13 (2-F) on the acquisition and evocation of short-term and long-term memory and their potential effects as anxiolytic using three different doses of the compounds, 50 mg/kg, 100 mg/kg and 200 mg/kg. The inhibitory avoidance test was performed for memory analysis and the elevated plus maze test was performed for anxiety, with the proposal of evaluating their effects upon degenerated cognitive functions due to neurodegenerative diseases or advanced age. The test used for memory analysis was an inhibitory avoidance that consists in stages of training and tests, in the training the animal received a shock of low intensity, an aversive stimulus and time of descent was timed. For anxiety analysis the test used was the elevated plus maze and the time and number of entries in the labyrinth arms were counted. The compound AK 26 didn't show improvement in the acquisition of short-term and long-term memory and in the evocation of short-term memory also didn't presente anxiolytic traits. The compound AK 13 didn't show any improvement in the steps of acquisition short-term and long-term memory and in the evocation short-term memory, anxiolytic traits were also not presented by the compound.

Key-words: AK 13; AK 26; anxiety; degenerative diseases.

Lista de Figuras

Figura 1	Efeito do AK 26 sobre a aquisição da memória	26
Figura 2	Efeito do AK 13 sobre a aquisição da memória	27
Figura 3	Efeito do AK 26 sobre a evocação da memória	28
Figura 4	Efeito do AK 13 sobre a evocação da memória	29
Figura 5	Efeito do AK 26 sobre a ansiedade (nº de entradas)	30
Figura 6	Efeito do AK 26 sobre a ansiedade (latência de descida)	30
Figura 7	Efeito do Ak 13 sobre a ansiedade (nº de entradas)	31
Figura 8	Efeito do AK 13 sobre a ansiedade (latência de descida)	31

Lista de Abreviaturas

Diferença de potencial – ddp

Dimetilsulfóxido – DMSO

Esquiva Inibitória – EI

Long Term Memory – LTM

Short Term Memory – STM

Sistema Nervoso Central – SNC

Sumário

1 Introdução	
1.1 Memória	12
1.2 Ansiedade	13
1.3 Tiazolidinonas	13
1.4 Revisão de Literatura	
1.4.1 Memória	14
1.4.2 Ansiedade	17
1.4.3 Tiazolidinonas	19
1.5 Justificativa	20
1.6 Objetivos	
1.6.1 Objetivo Geral	20
1.6.2 Objetivos Específicos	20
2 Materiais e Métodos	
2.1 Obtenção dos Compostos	21
2.2 Obtenção dos animais	21
2.3 Memória: Esquiva Inibitória	23
2.4 Ansiedade: Labirinto em Cruz Elevado	24
2.5 Análise Estatística	25
3 Resultados	
3.1 Memória	26
3.2 Ansiedade	29
4 Discussão	
4.1 Memória	32
4.2 Ansiedade	34
5 Conclusão	36
Referências	37

1 Introdução

1.1 Memória

Dentre as funções cognitivas expressas pelo cérebro humano, a memória é apresentada como um conjunto de mecanismos responsáveis pela aquisição, consolidação e evocação de informações. Pode-se classificar a memória de diversas formas, levando em conta fatores como, o tipo de conteúdo, a função que exercem e o tempo que permanecem armazenadas (IZQUIERDO, 2002).

O cérebro é, sem dúvida, uma das estruturas mais complexas existentes na natureza. Constituído basicamente por neurônios e células da glia, que através dos sistemas de neurotransmissão, são os responsáveis pelo processamento e transferência de informações necessárias ao funcionamento de todo o organismo (GRAEFF; GUIMARÃES, 2001; ALMEIDA *et al.*, 2006).

Os neurônios possuem plasticidade neural, que é a capacidade de se transformar e adaptar sua estrutura em resposta às exigências ambientais ou internas do organismo e são responsáveis pelo armazenamento, pela evocação e a modulação da memória animal (IZQUIERDO, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2006). Segundo Almeida (2006), no cérebro estão presentes os neurônios do sistema colinérgico, mediados pelo neurotransmissor acetilcolina, que auxiliam na integração sináptica. Bem como neurônios do sistema dopaminérgico, glutamatérgico, gabaérgico e adrenérgico que estão envolvidos nos processos de memória e nas funções motoras e motivacionais. Desta forma, todos os sistemas desempenham papel importante no processo de aprendizagem.

Evidências científicas indicam que a plasticidade sináptica é a responsável pela capacidade de transformação dos neurônios e pela aquisição das memórias. A memória e a plasticidade são consideradas as mais interessantes e enigmáticas fronteiras das neurociências (DALMAZ; NETTO, 2004).

1.2 Ansiedade

A ansiedade é uma experiência caracterizada como uma sensação subjetiva de inquietação, apreensão ou desconforto, vivenciada pelo organismo quando ocorre algum desequilíbrio homeostático; é um estado emocional que faz parte do espectro normal das experiências humanas e apresentam componentes psicológicos e fisiológicos. Sua finalidade também é preparar o organismo para uma possível situação de sobrevivência (ANDRADE; GORENSTEIN, 1998; ULRICH-LAI; HERMAN, 2009; SILVA, 2010; CRUZ *et al.*, 2012).

Segundo Ulrich-Lai e Herman (2009), a sobrevivência e o bem-estar de todas as espécies requerem respostas fisiológicas adequadas para os desafios ambientais e homeostáticos. A ansiedade, qualquer que seja o fator desencadeante, apresenta como agente etiológico o desequilíbrio entre mediadores estimulantes e depressores centrais (SILVA, 2010). As informações relacionadas ao estressor de todos os principais sistemas sensoriais são transmitidas para o cérebro, que recruta sistemas neurais e neuroendócrinos (efetores) para minimizar o custo líquido para o animal (ULRICH-LAI; HERMAN, 2009).

A ansiedade dentro de certos limites é considerada normal, e o indivíduo não requer nenhum tipo de tratamento. No entanto, dependendo da intensidade, da frequência e do contexto no qual é apresentada, podendo interferir com o desempenho normal do indivíduo, torna-se necessária a sua avaliação clínica e, eventualmente, a intuição de algum tipo de tratamento (SILVA, 2010; CRUZ *et al.*, 2012).

De acordo com Silva (2010) os transtornos mentais situam-se, em prevalência, no mesmo nível das doenças cardiovasculares, incluindo a hipertensão. Desses transtornos a ansiedade é o problema mais frequente encontrado em atendimento médico primário e na população de modo geral.

1.3 Tiazolidinonas

As tiazolidinonas são derivados saturados dos tiazols, compostos heterocíclicos que apresentam em sua estrutura um átomo enxofre (S) e um átomo nitrogênio (N). Suas estruturas químicas são formadas por um anel de cinco

membros, contendo dois heteroátomos, um enxofre e um nitrogênio, e um grupo carbonila na posição quatro. (SINGH *et al.*, 1981; VERMA, 2008; CUNICO *et al.*, 2008; SHARMA, 2016).

Essas substâncias têm aplicações diversas, sendo usadas tanto na medicina como na agricultura (VERMA *et al.*, 2008). Devido à sua classe importante e atividade estrutural se tornou um alvo atraente para a síntese de drogas e fármacos. Esta classe de heterocíclicos também foi estudada como agonista do receptor muscarínico para o combate ao Mal de Alzheimer (CHANDRA *et al.*, 2008; SHARMA, 2016).

1.4 Revisão de Literatura

1.4.1 Memória

Somos seres com história, construímos nossa identidade através de um processo que compõem as experiências vividas no ambiente e as nossas vivências interiores; assim, somos quem somos porque vivemos e lembramos. A memória é a aquisição, a formação, a consolidação e a evocação de informações; memória é a retenção da informação aprendida (IZQUIERDO, 2002; DALMAZ; NETTO, 2004). Segundo Abel e Lattal (2001), a memória pode ser inferida através de mudanças no comportamento de um animal em algum momento após uma tarefa de aprendizagem.

A aquisição está relacionada ao momento em que a informação chega ao sistema nervoso através das estruturas sensoriais. O estímulo atinge os órgãos receptores e através dos nervos sensitivos, chega ao sistema nervoso central. É também chamada de aprendizagem, pois só se armazena aquilo que foi aprendido (IZQUIERDO, 2002; KANDEL *et al.*, 2014; MOURÃO, 2015). A evocação é também chamada de recordação ou lembrança, pois está relacionada ao acesso espontâneo ou voluntário das informações já consolidadas. Só lembramos aquilo que gravamos, aquilo que foi aprendido. A evocação ocorre principalmente no córtex pré-frontal, através de um processo denominado memória do trabalho (IZQUIERDO, 2002; MOURÃO; MELO, 2011). A consolidação das informações ocorre no hipocampo, é caracterizada como a aquisição de novas informações ou novos conhecimentos, é

considerada o armazenamento de novas informações. Aprendemos e lembramos de muitas coisas, porém essas várias coisas podem não ser processadas e armazenadas pela mesma maquinaria neural. Não existe um mecanismo ou estrutura cerebral que, sozinhos, sejam encarregados de todo o aprendizado (MOURÃO, 2015)

A memória pode ser classificada de diversas formas, quanto ao tipo de conteúdo, à função que exerce e ao tempo que permanece armazenada (IZQUIERDO, 2002). Em relação ao tempo de armazenamento, a memória pode ser, grosseiramente, classificada em memória de curta duração e longa duração. A memória de curta duração para Izquierdo (2002) são fenômenos de natureza bioquímica, que envolvem plasticidade sináptica se relacionando com a consolidação das memórias de longo prazo. No entanto, para Baddeley (2007) as memórias de curta duração são fenômenos de natureza elétrica se resumindo no armazenamento de pequenas quantidades de informação por um breve período de tempo. Para Mourão (2015), a memória de curta duração é, na qual armazenamos informações essenciais para a resolução de problemas, uso do raciocínio rápido ou elaboração de comportamentos, que podem ser esquecidas a seguir. Pode ser ainda subdividida em memória sensorial, caracterizada como um fenômeno de natureza elétrica, é a memória que nos permite reter as informações que chegam até nós através dos sentidos e se caracteriza por ter curtíssima duração, caso o estímulo não seja recuperado. E a memória de trabalho, que serve para contextualizar o indivíduo e gerenciar as informações transitantes no cérebro, armazenadas anteriormente (GOLDBERG, 2009; MOURÃO, 2015). Pode-se dizer que a memória de trabalho tem livre acesso ao acervo de memórias armazenados pela memória de longa duração (BEAR *et al.*, 2008). Tem curta duração, pois só nos permite armazenar a informação enquanto fazemos uso da mesma, sendo descartada posteriormente. Tanto a memória sensorial como a de trabalho, são conservadas somente até que as informações sejam processadas, avaliadas e descartadas e/ou armazenadas (MOURÃO, 2015).

A memória de longa duração (ou memória remota) armazena informações por longos períodos de tempo, meses, anos e até mesmo décadas. Os limites de sua capacidade de armazenamento são ainda desconhecidos, mas sabe-se que sua capacidade é muito grande (BEAR *et al.*, 2008; MOURÃO, 2015). Quando a memória é evocada através de palavras, é chamada de memória declarativa (ou

memória explícita) que fica acessível para ser acessada prontamente à nossa consciência. Àquelas memórias que se encontram em um nível subconsciente, podendo ser evocada somente através de ações são chamadas de memória não declarativa (ou memória implícita). A formação de uma memória de longa duração leva, em média, três a oito horas (MOURÃO, 2015).

Em relação ao armazenamento das memórias, pouco ainda se sabe. Apesar dos avanços nos estudos nos últimos anos, entender como potenciais elétricos e fenômenos bioquímicos estão relacionados às representações mentais que fazemos, ainda continua um mistério. Atualmente, o que se sabe é que as informações que chegam ao cérebro formam um circuito neural, ativando uma rede de neurônios, que quando reforçada, resulta na retenção da informação (MOURÃO, 2015; ALMEIDA *et al.*, 2006). Segundo Kandel *et al.* (2014), o armazenamento de novas informações é possível graças à neuroplasticidade, e as informações ficam armazenadas em regiões difusas do cérebro, envolvendo redes complexas de neurônios que se modificam para armazenar as informações.

A memória é uma das funções cognitivas mais complexas do organismo e as evidências científicas sugerem que o aprendizado de novas informações e o seu armazenamento causam alterações estruturais no sistema nervoso. O cérebro é uma estrutura em permanente construção, assim como o repertório comportamental e as memórias do indivíduo. Para comportar tamanha carga de informações, o cérebro apresenta algumas alterações estruturais e sinápticas. Evidências indicam que a plasticidade sináptica é a responsável pela capacidade de transformação dos neurônios e pela aquisição das memórias (IZQUIERDO, 2002; DALMAZ; NETTO, 2004; MOURÃO, 2015).

As alterações estruturais compreendem a formação de novas espinhas dendríticas, permitindo que os neurônios recebam mais aferências de outros neurônios; ou a formação de novos prolongamentos axoniais, que permitem que os neurônios transmitam mais sinais aos neurônios em conexão; e também a criação de novos circuitos anteriormente não existentes. As alterações sinápticas (funcionais) estão relacionadas à otimização das conexões sinápticas, através da formação de canais iônicos ou novas proteínas sinalizadoras (IZQUIERDO, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2006; MOURÃO, 2015). Uma vez consolidadas, as memórias de longa duração se distribuem de forma difusa pelo córtex cerebral, a perda de memórias declarativas

acontece quando ocorrem lesões corticais extensas. Esse processo ocorre em pessoas que apresentam a doença de Alzheimer (MOURÃO, 2015).

A doença de Alzheimer é uma doença neurológica progressiva, degenerativa e irreversível, que afeta, predominantemente, pessoas idosas. É conhecido como um quadro patológico que vem acompanhado de várias deficiências nos processos cognitivos e psicológicos (FILGUEIRAS *et al.*, 2013). É caracterizada pela excessiva deposição de placas amilóides e emaranhados neurofibrilares intraneuronais, que impedem o fluxo de substâncias químicas no corpo celular dos neurônios e nas sinapses, resultando em deficiência de memória e disfunção cognitiva progressiva. O dano oxidativo e a disfunção do sistema antioxidante também desempenham papéis importantes nesta patologia (BEAR *et al.*, 2008; MOURÃO, 2015; ZHAO, 2015; RAMSHINI, 2017). Embora muitos medicamentos estejam disponíveis para pacientes com Alzheimer, eles não são capazes de recuperar as funções cognitivas perdidas, apenas tentam retardar sua progressão (KUBOYAMA, 2017).

1.4.2 Ansiedade

Enquanto o medo é a emoção que se dá na presença de um perigo real, a ansiedade é a sensação subjetiva de inquietação e apreensão vivenciada na presença de um perigo em potencial (CRUZ & LANDEIRA-FERNANDEZ, 2012). O termo “ansiedade” se refere a uma experiência humana muito difícil de ser definida ou caracterizada. Podemos afirmar que se trata de um sentimento já experimentado por nossos ancestrais e, portanto, de uma experiência humana conhecida, provavelmente, desde o início das civilizações. Em termos biológicos, pode ser considerada uma forma particular de inibição comportamental, ocorrendo em resposta a novos eventos ambientais, que não apresentam recompensa ou punição (ALMEIDA *et al.*, 2006).

A sobrevivência e o sucesso adaptativo das espécies dependem de respostas fisiológicas adequadas aos desafios ambientais e homeostáticos enfrentados ao longo da vida. A resposta fisiológica do indivíduo envolve um conjunto altamente eficiente e conservado de sistemas interligados, buscando manter a integridade fisiológica mesmo nas circunstâncias mais exigentes. Essas respostas coletivas são mediadas pela parte frontal do cérebro, de modo que as contribuições dos sistemas neuroendócrino e autônomo sejam sintonizadas com a modalidade estressora e a

intensidade. Quando as regiões límbicas, que são responsáveis pela regulação das respostas ao estresse, cruzam-se com as regiões responsáveis pela memória e recompensa, fornecem um meio para adaptar a resposta ao estresse em relação à experiência anterior e os resultados esperados (ALMEIDA *et al.*, 2006; ULRICH-LAI; HERMAN, 2009). O restabelecimento e a manutenção da homeostase implicam na ativação e controle de sistemas neuroendócrinos e estresse autonômico coordenado.

Qualquer que seja o fator desencadeante, o desequilíbrio entre mediadores estimulantes e depressores centrais, é apontado como agente etiológico da ansiedade (SILVA, 2010). Dados presentes na literatura têm demonstrado que a ansiedade em até certos limites, é considerada normal. Porém, quando a ocorrência, frequência e intensidade da ansiedade afeta o desempenho normal e funcional do indivíduo, torna-se necessário uma avaliação clínica e, eventualmente, prescrição de algum tipo de tratamento (Almeida, 2006; Silva, 2010; Cruz *et al.*, 2012).

Os agentes farmacológicos empregados no tratamento da ansiedade patológica são denominados ansiolíticos. Os ansiolíticos visam promover o alívio dos sintomas sem interferir em outras funções cerebrais. Os benzodiazepínicos são os ansiolíticos mais comumente prescritos aos pacientes diagnosticados com ansiedade patológica (ALMEIDA *et al.*, 2006).

Os benzodiazepínicos apresentam atividade seletiva no complexo inibidor do receptor GABA-A, aumentando a frequência de abertura dos canais de cloro e consequentemente a entrada dos íons cloreto, levando a uma hiperpolarização da membrana, aumentando o efeito inibitório de GABA, acarretando a uma diminuição da atividade neuronal, causando depressão do sistema nervoso central, característica marcante dos benzodiazepínicos (LACERDA, 2006; CHAVES *et al.*, 2017). O GABA atua como principal neurotransmissor inibitório no SNC dos mamíferos. A maioria das membranas celulares dos neurônios expressam receptores de GABA, que diminuem a excitabilidade neuronal. Os receptores de GABA, em virtude da sua ampla distribuição, influenciam muitos circuitos e funções neuronais. Os fármacos que modulam os receptores de GABA afetam a reatividade e a atenção, a formação da memória, a ansiedade, o sono e o tônus muscular, podendo causar ansiólise, sedação, hipnose, amnésia anterógrada, miorelaxamento e dependência física (LACERDA, 2006; STUART, 2009).

1.4.3 Tiazolidinonas

Os compostos heterocíclicos são compostos orgânicos cujas moléculas apresentam um ou mais anéis aromáticos, com pelo menos um heteroátomo em sua composição, constituem, de longe, a maior das divisões clássicas da química orgânica e são de extrema importância biológica e industrial. A maioria dos compostos farmacêuticos e agroquímicos são compostos heterocíclicos (CUNICO *et al.*, 2008; SHARMA, 2016).

O tiazol é um composto heterocíclico que apresentam um átomo de nitrogênio e um átomo de enxofre em sua composição aromática. O tiazol é de grande ação biológica, pois é utilizado como intermediário para fabricar drogas sintéticas, fungicidas e corantes. As tiazolidinonas são uma forma saturada dos tiazols, porém com um grupamento carbonila no quarto carbono do ciclo (VERMA *et al.*, 2008; SHARMA, 2016).

A principal rota de síntese das tiazolidinonas envolve reações multicomponentes que envolvem um aldeído ou cetona, uma amina primária e um ácido mercaptoacético, em processos de uma ou duas etapas (CUNICO *et al.*, 2008). São consideradas como uma “fração mágica” que apresenta quase todos os tipos de atividades biológicas. São uma classe importante dos compostos heterocíclicos, devido à sua atividade estrutural, têm costumado serem alvos muito atraentes para a síntese combinatória, sendo amplamente utilizadas como “blocos de construção” chaves na produção de drogas e agentes farmacêuticos (VERMA *et al.*, 2006; CUNICO *et al.*, 2008; SHARMA, 2016).

Dados da literatura têm demonstrado que as tiazolidinonas apresentam variadas ações no sistema nervoso central, como anticonvulsivante, antipsicótica, analgésica, hipnótica e anti-amnésica. Essa classe de heterocíclicos também se mostrou promissora quando estudada como agonista colinérgico do receptor muscarínico para a Doença de Alzheimer (Verma *et al.*, 2008; Chandra *et al.*, 2008).

1.5 Justificativa

O aumento da qualidade de vida da população com o passar dos anos, tem aumentado também a longevidade da população e com ela as doenças neurodegenerativas causadas, muitas vezes, pelo avanço da idade populacional. Os fármacos disponíveis atualmente, não trazem grandes benefícios a pacientes que apresentem algum tipo de transtorno cognitivo. Além disso, fármacos que melhoram a cognição são geralmente psicoestimulantes, o que pode ter como efeito adverso o aumento da ansiedade. Portanto, o estudo proposto visa verificar se dois compostos derivados de tiazolidinonas podem diminuir ou melhorar os processos de formação e evocação da memória sem afetar outros processos mentais relacionados como a ansiedade.

1.6 Objetivos

1.6.1 Objetivo Geral

Avaliar a ação de dois compostos de tiazolidinonas sobre a ansiedade, aquisição e evocação da memória de curta e longa duração em camundongos.

1.6.2 Objetivos Específicos

- Verificar o efeito do AK 26 sobre a ansiedade;
- Verificar o efeito do AK 13 sobre a ansiedade;
- Avaliar o efeito do AK 26 sobre a aquisição das memórias de curta e longa duração;
- Avaliar o efeito do AK 13 sobre a aquisição das memórias de curta e longa duração;
- Avaliar o efeito do AK 26 sobre a evocação das memórias de curta duração;
- Avaliar o efeito do AK 13 sobre a evocação das memórias de curta duração.

2 Materiais e Métodos

2.1 Obtenção dos Compostos

Os compostos utilizados, nos testes farmacológicos, para a realização deste trabalho, pertencentes ao grupo das tiazolidinonas são as moléculas AK26 (4-CH₃), sintetizada via reação multicomponente one-pot entre o 4-metilbenzaldeído, a 2-aminoetilpiperidina e o ácido mercaptoacético, e AK13 (2-F), sintetizada via reação multicomponente one-pot entre o 2-fluorbenzaldeído, a 2-aminoetilpiperidina e o ácido mercaptoacético (KUNZLER *et al.*, 2012) e solubilizadas em dimetilsulfóxido (DMSO) 20%. A derivatização e obtenção dos compostos foram realizadas no Laboratório de Síntese Orgânica do Núcleo de Química Aplicada (LaQuiABio), do Departamento de Química Orgânica, da Universidade Federal de Pelotas, sob responsabilidade e supervisão do Prof. Dr. Wilson João Cunico Filho.

2.2 Obtenção dos Animais

Os animais foram adquiridos através da análise do pré-projeto construído para a solicitação dos animais, junto ao biotério central da Universidade Federal de Pelotas. A análise e aprovação do projeto foram realizadas pelo Conselho de Ética da Universidade (CEEA 3172).

Para a realização do presente trabalho, foram utilizados 345 camundongos machos *Swiss*, da linhagem *Mus musculus*, com peso médio de 30-50 gramas e 75 dias de idade, nascidos e criados no Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Os animais foram mantidos em condições controladas de temperatura (\pm 22° C) e ciclos de claro-escuro (12h), com comida e água sempre à disposição.

Todos os animais, antes da etapa de experimentação, passaram por uma etapa de adaptação de 30 minutos, para minimizar o efeito estressor do transporte entre a sala de armazenagem e a sala de experimento.

Os camundongos foram separados em grupos de tratamentos. Os compostos AK 26 e AK 13 tiveram seis (6) grupos de tratamento para cada teste: três doses diferentes para cada composto (50 mg/kg; 100 mg/kg; 200 mg/kg) e três grupos controles Diazepam (controle positivo), solução Salina e DMSO 10% (controles negativos), totalizando dezoito (18) grupos por composto. A administração das doses foi feita via intraperitoneal com seringa de 1 ml, em um volume de 1 mg/kg de massa do animal.

AK 26 e AK 13, divisão dos grupos de tratamentos:

Teste: Aquisição da memória de curta e longa duração:

- Tratamento 50 mg/kg
- Tratamento 100 mg/kg
- Tratamento 200 mg/kg
- Grupo Controle Negativo: Salina
- Grupo Controle Negativo: DMSO
- Grupo Controle Positivo: Diazepam

Teste: Evocação da memória de curta duração:

- Tratamento 50 mg/kg
- Tratamento 100 mg/kg
- Tratamento 200 mg/kg
- Grupo Controle Negativo: Salina
- Grupo Controle Negativo: DMSO
- Grupo Controle Positivo: Diazepam

Teste: Ansiedade

- Tratamento 50 mg/kg
- Tratamento 100 mg/kg
- Tratamento 200 mg/kg
- Grupo Controle Negativo: Salina
- Grupo Controle Negativo: DMSO
- Grupo Controle Positivo: Diazepam

Os testes de aquisição da memória de curta e longa duração do composto AK 13, assim como os testes de ansiedade, não apresentam o grupo de tratamento 200

mg/kg em consequência da quantidade de composto disponível para a realização do experimento.

As doses foram administradas 30 minutos antes do teste de ansiedade, após 30 minutos, os mesmos animais foram expostos à treinamento do teste da aquisição de memória. Para os testes da evocação de memória, o composto foi administrado 30 minutos antes da etapa de teste.

Cada grupo de tratamento de memória era constituído de quinze (15) animais. Já os grupos dos testes de ansiedade foram constituídos de dez (10) animais e foram utilizados animais que passariam pelo teste de memória posteriormente, com o objetivo de reduzir o número de animais para o estudo, sem que uma análise interferisse no resultado da outra.

O descarte do material biológico foi realizado pelo Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas.

2.3 Memória: Esquiva Inibitória

Para a análise da eficiência dos compostos quanto à aquisição e evocação da memória de curta e longa duração, foi utilizado a tarefa de esquiva inibitória, o qual consiste em desenvolver a aprendizagem através de uma estímulo aversivo desencadeado por uma descarga elétrica. A esquiva inibitória é um procedimento comumente usado para estudar efeitos de diversos tratamentos farmacológicos e investigar processos de aprendizagem e memória em roedores (GOLD, 1986). O protocolo utilizado foi adaptado de Netto & Izquierdo (1985) e Almeida (2006). O equipamento utilizado nesta técnica consiste em uma caixa de condicionamento automatizada, medindo 40 x 25 x 25 cm, com assoalho formado por uma grade de barras de bronze paralelas com 1 mm de diâmetro e espaço de 1 cm entre cada barra, onde é possível aplicar uma diferença de potencial elétrico (ddp) variável. A caixa também contém uma plataforma isoladora de 5 x 5 x 4 cm.

Para a execução do experimento foram realizadas duas etapas, uma de treinamento e outra de teste. No treinamento o animal foi colocado sobre a plataforma, suavemente, para medir o tempo (latência) que para descer até a grade de bronze e tocá-la com suas quatro patas. Imediatamente após, o animal recebeu uma descarga elétrica intermitente de 0,4 mA durante 10 segundos para o

condicionamento do medo. Na etapa de teste, o animal foi novamente colocado sobre a plataforma e o tempo levado para descer (latência de descida) foi novamente medido. De acordo com Izquierdo e Medina (1997), quanto maior for a latência de descida, maiores serão os indicativos que ocorreu aprendizagem frente ao estímulo. As etapas de teste tinham limite máximo de 180 segundos (3 minutos) até a descida do animal.

Para diferenciar a aquisição das memórias de curta e longa duração foi feita uma variação no intervalo entre a etapa de treino e as etapas de teste. Para a memória de curta duração o teste foi realizado a partir de 1h e 30 min até 3 h da etapa de treino. Para avaliar a memória de longa duração o teste foi realizado 24h depois da etapa de treinamento.

A tarefa de Esquiva Inibitória visa desencadear o aprendizado a partir de uma única tentativa (etapa de treino), sendo considerado um teste ideal para estudos de processos que envolvem memória e ansiedade (IZQUIERDO & MEDINA, 1997).

2.4 Ansiedade: Labirinto em Cruz Elevado

Para analisar a eficiência dos compostos sobre a ansiedade, o método utilizado foi o “labirinto em cruz elevado”, desenvolvido por Handley & Mithani (1984) e Pellow & File (1986). O método é considerado um instrumento útil e válido para medir ansiedade, investigando aspectos comportamentais, fisiológicos e farmacológicos. O modelo visa investigar a tendência natural de roedores a explorar novos ambientes e a aversão natural de altura e espaços abertos.

O modelo consiste em quatro (04) braços (5 cm de largura e 30 cm de comprimento) (dois (02) abertos e dois (02) “fechados” com paredes laterais (15 cm de altura)) dispostos perpendicularmente uns aos outros, formando uma cruz, com alguns centímetros de elevação (38,5 cm do chão). A angulação dos braços do labirinto permite ao animal a percepção simultânea do medo e da segurança.

O procedimento foi realizado expondo o animal livremente ao labirinto por 5 minutos, inicialmente colocado no centro de conexão entre os braços. A porcentagem de entrada e o tempo gasto pelo animal nos braços fechados representam indicadores de ansiedade. Já o total de entradas ou número absoluto

de entradas em ambos os braços é atribuído como índice de atividade locomotora (CRUZ *et al.*, 1997).

Como afirmam Cruz & Landeira-Fernandez (2012), a manipulação experimental deste modelo não envolve treinos associativos não se sobrepondo a outras funções psicológicas, como aprendizagem e memória, por exemplo.

2.5 Análise Estatística

Para as análises estatísticas dos dados foi utilizado o programa de cálculo e análises estatísticas SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Os testes estatísticos de memória foram analisados separadamente para cada tratamento, pelo teste estatístico de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Mann-Whitney, também foram analisados pelo teste estatístico ANOVA de uma via, seguido pelo teste de DUNCAN. Os resultados dos testes de ansiedade foram analisados pelo teste estatístico ANOVA seguido pelo teste de DUNCAN. Todos os resultados foram apresentados graficamente em média \pm erro padrão, foram considerados significativos valores $P < 0,05$.

3 Resultados

3.1 Memória

Os resultados obtidos para o teste de aquisição da memória de curta e longa duração para o composto AK 26 estão expressos na Figura 1. O gráfico apresentado é o resultado das somas das médias (\pm) e erro padrão para cada grupo de tratamento, tendo como dados o tempo de latência do treino, do teste de curta duração (STM) e do teste de longa duração (LTM), observados através do método da esQUIVA inibitória. Analisando os resultados podemos perceber que os tratamentos 50 mg/kg, 100 mg/kg e 200 mg/kg não foram diferentes dos controles negativos (Salina e DMSO), entretanto, foram diferentes do controle positivo (Diazepam) na aquisição da memória tanto de curta (STM) como de longa duração (LTM), $P < 0,05$.

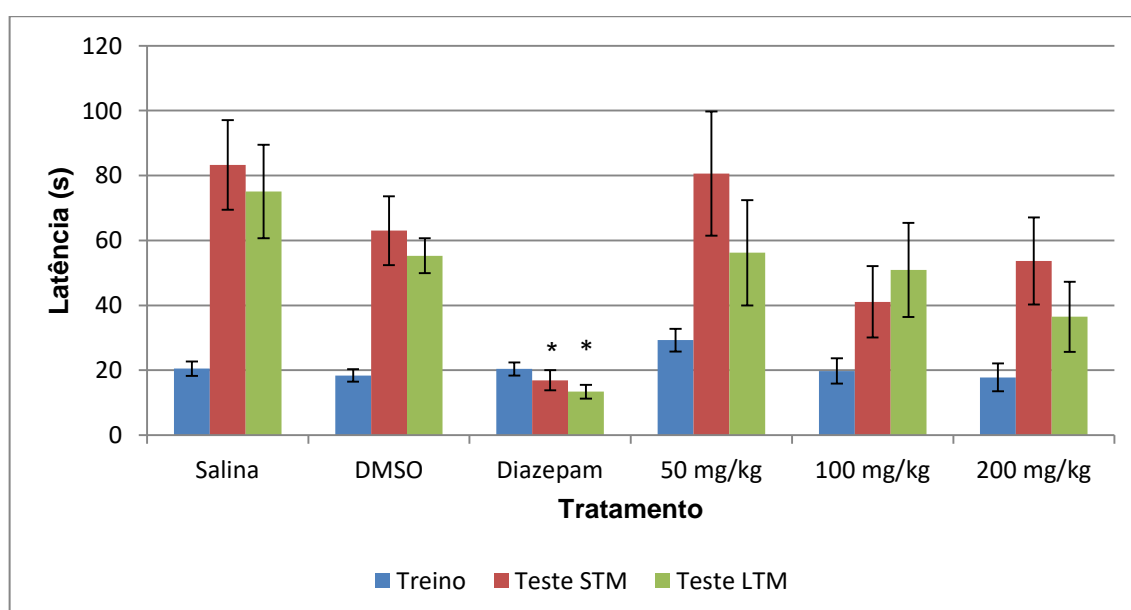


Figura 1: Gráfico expresso através da soma das médias (\pm) e erro padrão para cada grupo de tratamento do teste de aquisição da memória de curta e longa duração do composto AK 26 referente ao tempo de latência (s) para o treino, teste STM e teste LTM através método da esQUIVA inibitória. ANOVA/DUNCAN. * $P < 0,05$ comparado com controle negativo.

Já os resultados obtidos para os testes de aquisição da memória de curta e longa duração para o composto AK 13 estão expressos na Figura 2. O gráfico é resultante das somas das médias (\pm) e erro padrão para cada grupo de tratamento, analisando o tempo de latência do treino, do teste de curta duração (STM) e do teste de longa duração (LTM), observados através do método da esQUIVA inibitória. Os dados apresentados demonstram que os resultados do tratamento 50 mg/kg se assemelham aos dos controles negativos (Salina e DMSO), $P > 0,05$, para a aquisição da memória tanto de curta (STM) como de longa duração (LTM), já os do tratamento 100 mg/kg se assemelham aos dos controles negativos somente para a aquisição de curta duração (STM), $P > 0,05$, apresentando uma diminuição na latência para a memória de longa duração (LTM), resultados semelhantes aos encontrados para o controle positivo (Diazepam), $P < 0,05$.

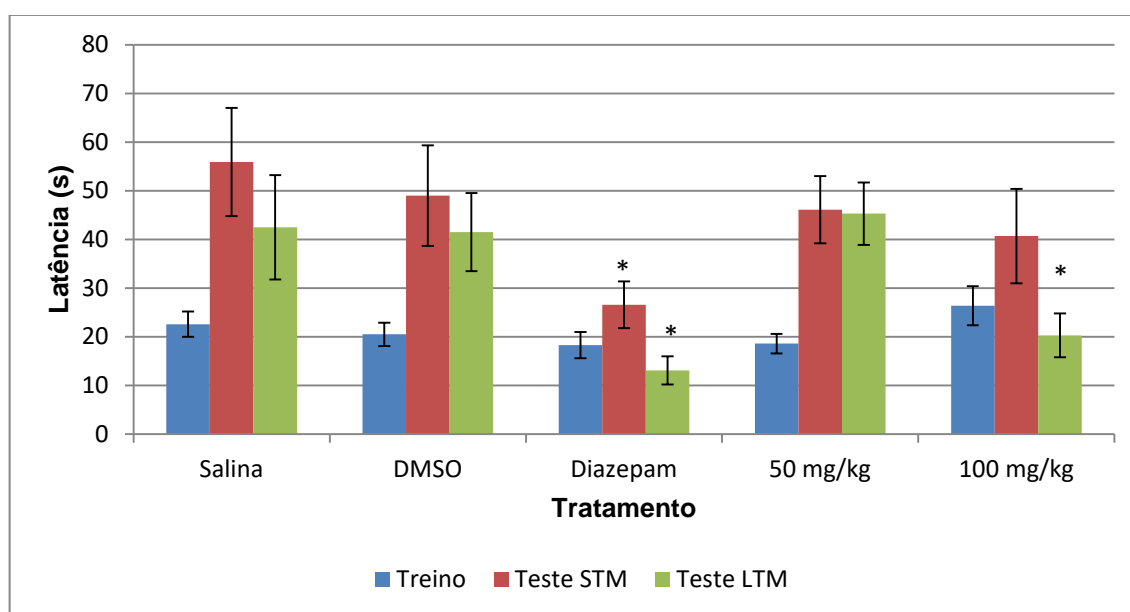


Figura 2: Gráfico expresso através da soma das médias (\pm) e erro padrão para cada grupo de tratamento do teste de aquisição da memória de curta e longa duração do composto AK 13 referente ao tempo de latência (s) para o treino, teste STM e teste LTM através método da esQUIVA inibitória. ANOVA/DUNCAN. * $P < 0,05$ comparado com controles negativos.

Os resultados dos testes de evocação da memória de curta duração para o composto AK 26, estão expressos na Figura 3. O gráfico é o resultado das somas das médias (\pm) e erro padrão para cada grupo de tratamento, analisando o tempo de latência da etapa de treino e de teste (STM). Podemos perceber que os tratamentos 100 mg/kg e 50 mg/kg obtiveram resultados diferentes dos controles negativos

(Salina e DMSO), contudo o tratamento 200 mg/kg apresentou uma diminuição da latência comparada aos controles negativos $P>0,05$. Em relação ao controle positivo (Diazepam), os resultados do tratamento de 200 mg/kg foram semelhantes para a evocação da memória de curta duração, $P>0,05$.

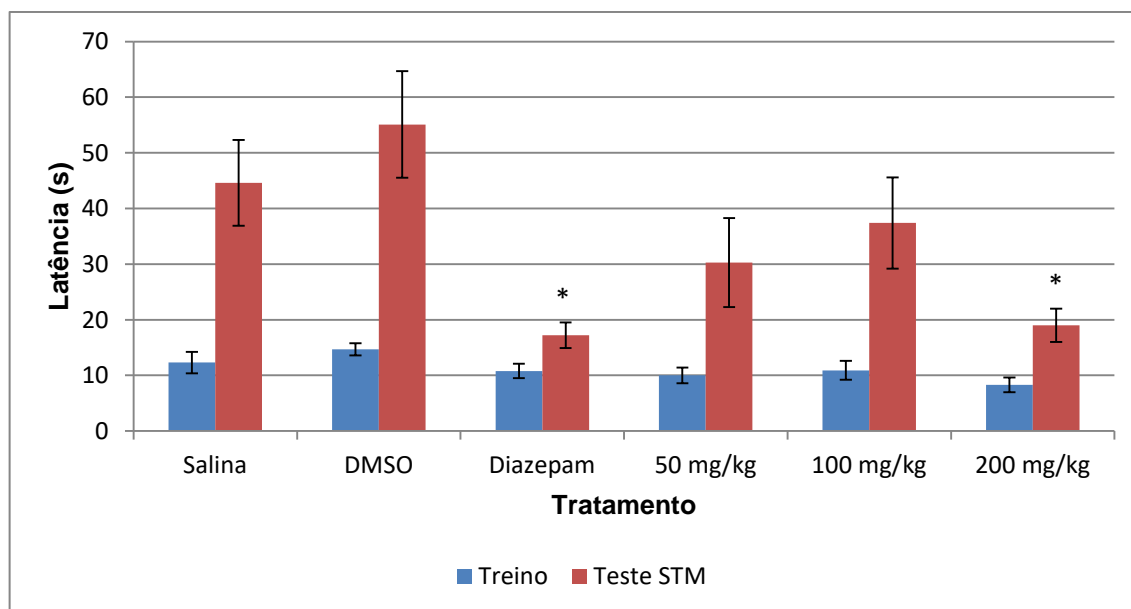


Figura 3: Gráfico expresso através da soma das médias (\pm) e erro padrão para cada grupo de tratamento do teste de evocação da memória de curta duração do composto AK 26 referente ao tempo de latência (s) para a etapa de treino e teste através método da esquiwa inibitória. ANOVA/DUNCAN. * $P>0,05$ comparado com controle negativo.

Analisando os efeitos do composto AK 13 na evocação da memória de curta duração, na figura 4 podemos perceber que os tratamentos de 50 mg/kg, 100 mg/kg e 200 mg/kg obtiveram resultados semelhantes aos dos controles negativos (Salina e DMSO) e diferentes do controle positivo (Diazepam) $P<0,05$.

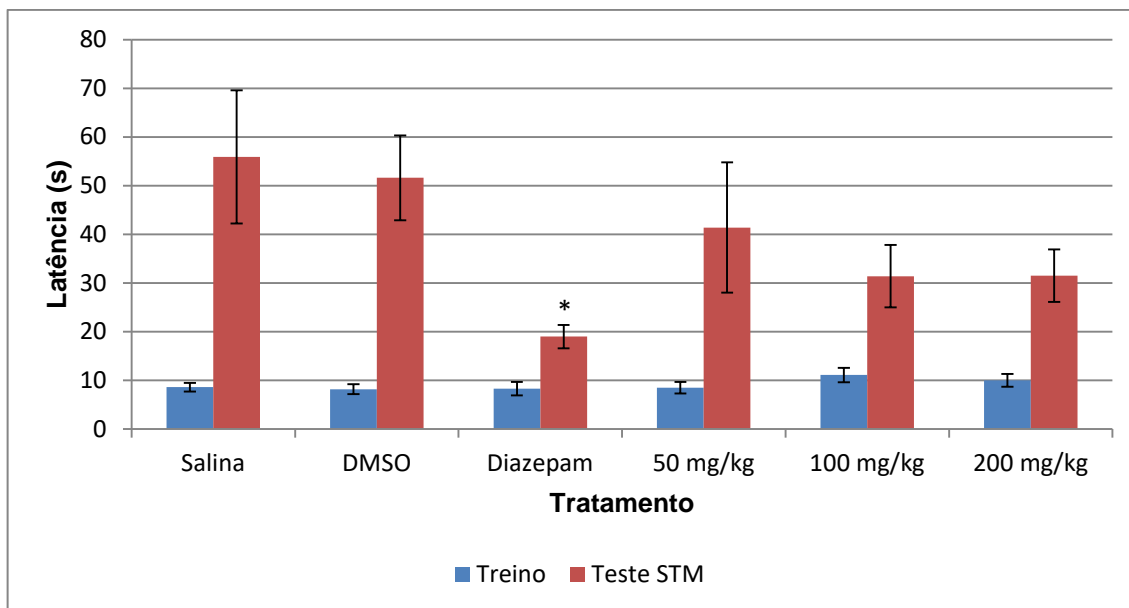


Figura 4: Gráfico expresso através da soma das médias (\pm) e erro padrão para cada grupo de tratamento do teste de evocação da memória de curta duração do composto AK 13 referente ao tempo de latência (s) para a etapa de treino e teste através método da esquiwa inibitória. ANOVA/DUNCAN. * $P < 0,05$ comparado com controles negativos.

3.2 Ansiedade

Os resultados encontrados através das análises dos dados obtidos a partir das etapas de experimentação deste trabalho para os testes de ansiedade para o composto AK 26 estão expressos nas Figuras 5 e 6. Foram analisando o número de entradas e o tempo gasto pelos animais nos braços abertos e fechados do labirinto. De acordo com os dados apresentados podemos perceber que os resultados dos tratamentos 50 mg/kg, 100 mg/kg e 200 mg/kg foram semelhantes aos encontrados nos controles negativos (Salina e DMSO) para o número de entradas nos braços abertos do labirinto. Bem como em relação ao tempo gasto (latência) em ambos os braços do labirinto $P > 0,05$.

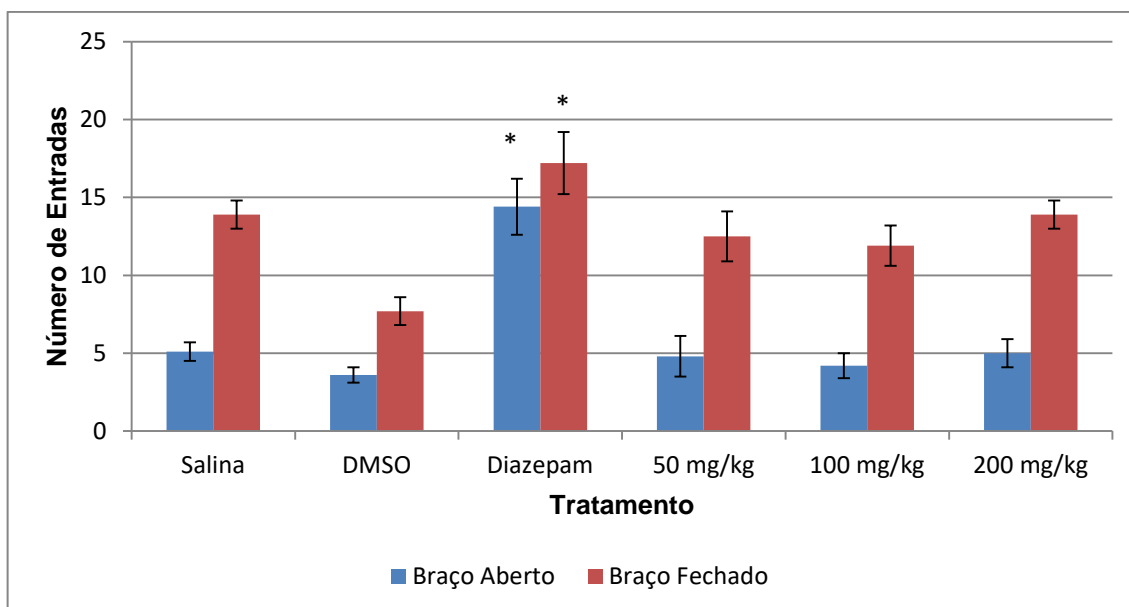


Figura 5: Gráfico expresso através da soma das médias (\pm) e erro padrão para cada grupo de tratamento do teste de ansiedade do composto AK 26 referente ao **número de entradas** dos animais nos braços abertos e fechados do labirinto em cruz elevado. ANOVA/DUNCAN. * $P < 0,05$, comparado com os controles negativos.

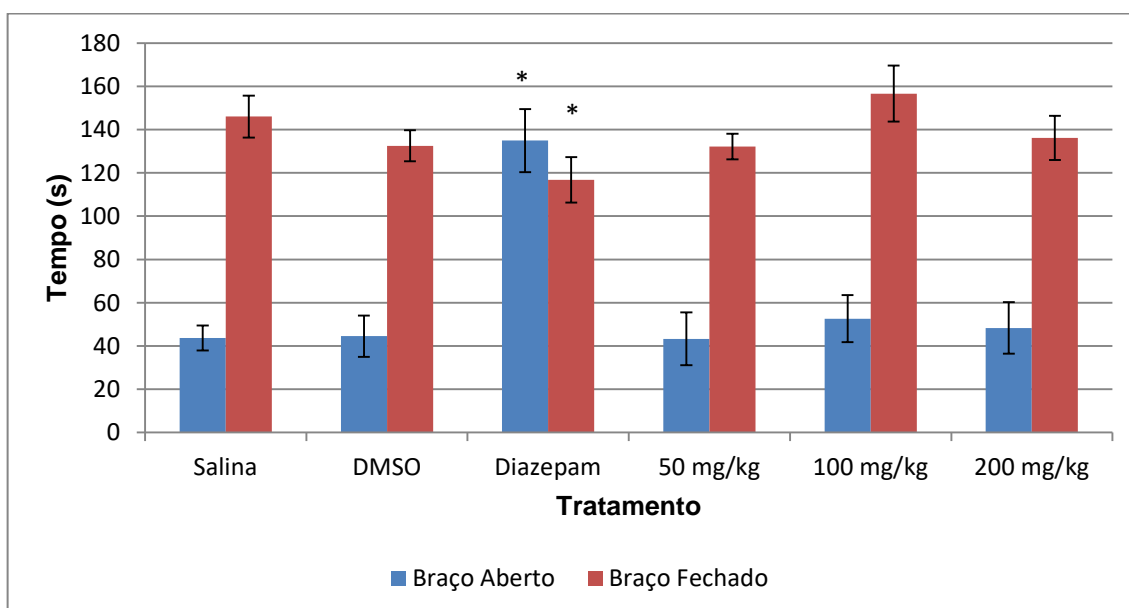


Figura 6: Gráfico expresso através da soma das médias (\pm) e erro padrão para cada grupo de tratamento para o teste de ansiedade do composto AK 26 referente ao **tempo gasto** pelos animais nos braços abertos e fechados do labirinto em cruz elevado. ANOVA/DUNCAN. * $P < 0,05$, comparado com os controles negativos.

Analisando o número de entradas e o tempo gasto pelos animais nos braços abertos e fechados do labirinto, para os testes de ansiedade do composto AK 13, estão expressos nas Figuras 7 e 8. Podemos observar que os tratamentos 50 mg/kg e 100 mg/kg, que foram as doses utilizadas para realização deste teste, apresentam resultados semelhantes aos apresentados pelos controles negativos (Salina e

DMSO) tanto para o número de entradas em ambos os braços do labirinto, quanto para o tempo gasto pelos animais nos braços abertos e fechados.

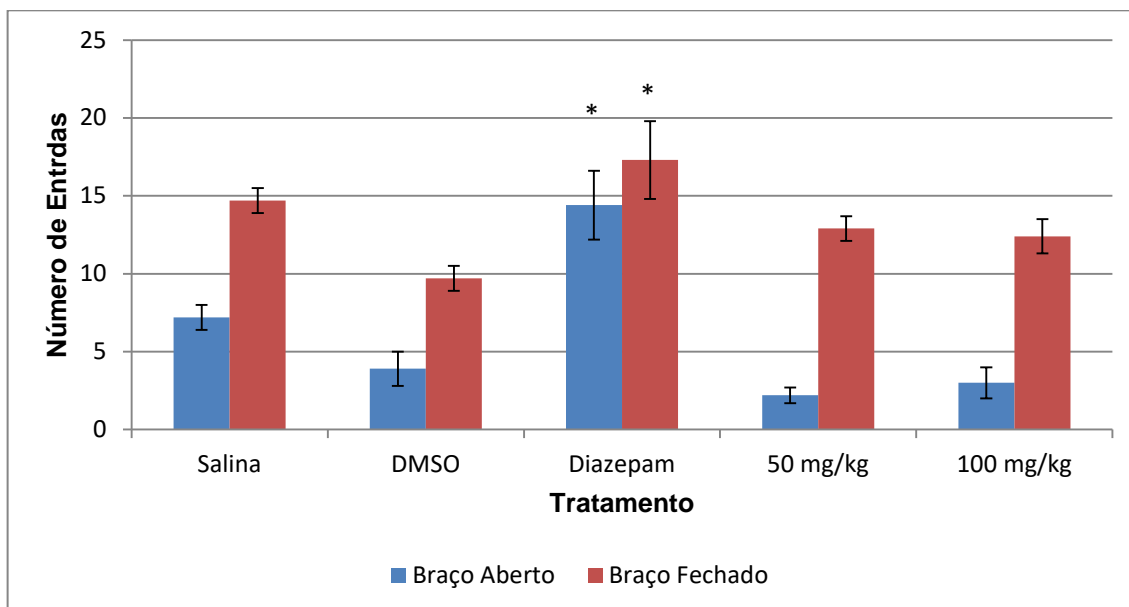


Figura 7: Gráfico expresso através da soma das médias (\pm) e erro padrão para cada grupo de tratamento do teste de ansiedade do composto AK 13 referente ao **número de entradas** dos animais nos braços abertos e fechados do labirinto em cruz elevado. ANOVA/DUNCAN. * $P < 0,05$, comparado com os controles negativos.

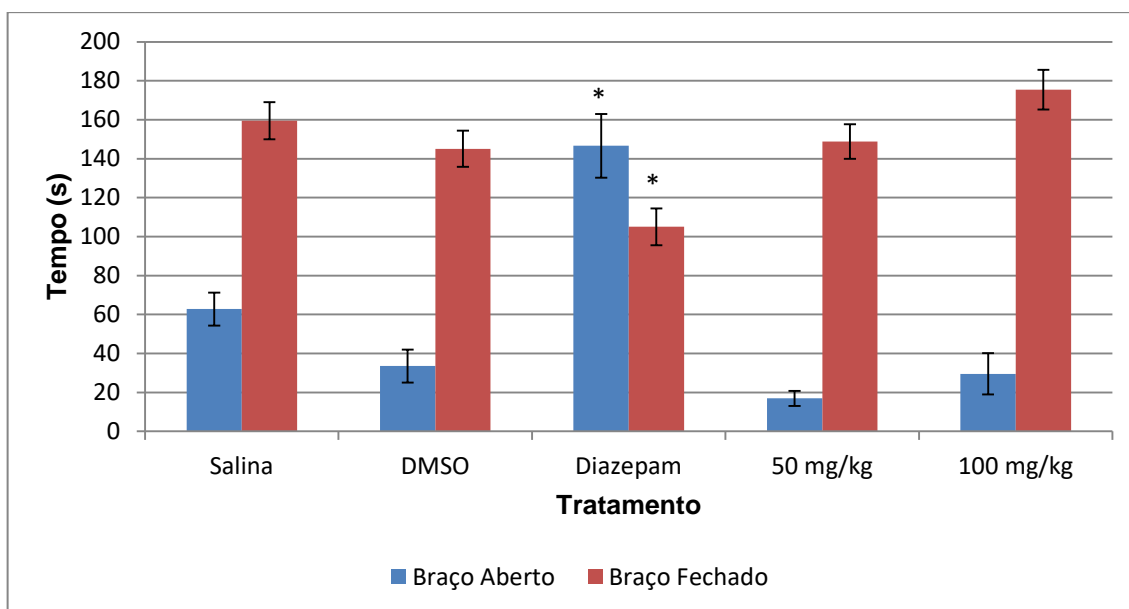


Figura 8: Gráfico expresso através da soma das médias (\pm) e erro padrão para cada grupo de tratamento para o teste de ansiedade do composto AK 13 referente ao **tempo gasto** pelos animais nos braços abertos e fechados do labirinto em cruz elevado. ANOVA/DUNCAN. * $P < 0,05$ comparado com os controles negativos.

4 Discussão

4.1 Memória

Analisando os resultados dos testes de aquisição das memórias de curta e longa duração para o composto AK 26, podemos observar que os tratamentos 50 mg/kg, 100 mg/kg e 200 mg/kg não apresentaram melhora na aquisição das memórias, também não apresentaram déficit de memória após a administração do composto, mantendo seus resultados semelhantes aos controles negativos. O que marca um contra ponto aos resultados obtidos por Stoll (2014), no qual o composto AK 26, quando administrado antes da etapa de treino para a tarefa da esQUIVA inibitória, apresentou uma melhora significativa sobre a memória quando comparada aos grupos controle Salina e DMSO (10%) utilizados no estudo, apresentando melhora acentuada nas doses de 50 mg/kg e 200 mg/kg para a memória de longa duração (LTM).

Os resultados obtidos através dos testes de aquisição das memórias de curta e longa duração para o composto AK 13, mostram que o tratamento 50 mg/kg não interferiu na memória, contudo o tratamento 100 mg/kg apresentou perfil amnésico para a aquisição da memória de longa duração, semelhantes aos resultados obtidos para o controle positivo (Diazepam), sugerindo um efeito amnésico do composto em altas concentrações. A falta de composto foi um fator limitante do estudo, pois não foi possível testar a dose de 200 mg/kg.

Os resultados dos testes de evocação da memória de curta duração para o composto AK 26 mostram que os tratamentos 50 mg/kg e 100 mg/kg não demonstram melhora para a evocação, apresentando resultados semelhantes aos resultados apresentados pelos controles negativos (Salina e DMSO). O tratamento 200 mg/kg apresentou perfil amnésico para a evocação da memória, resultados semelhantes aos encontrados no controle positivo (Diazepam). É possível observar

uma queda significativa na latência do tratamento 200 mg/kg, o que sugere que o AK 26 possa ser amnésico em altas dosagens.

Analisando os resultados encontrados para a evocação da memória de curta duração do composto AK 13, podemos observar que os tratamentos 50 mg/kg, 100 mg/kg e 200 mg/kg não interferiram na memória. Corroborando os resultados encontrados por Jensen *et al.* (1979), Nabeshima (1990) e Viana *et al.* (1994), que indicam que benzodiazepínicos como o diazepam, podem apresentar efeitos significativos na etapa de aquisição de tarefas. Os resultados obtidos por Nabeshima *et al.* (1990), demonstraram que as latências médias dos animais sob efeito de fármacos como o Diazepam antes da etapa de treinamento foram significativamente mais baixas durante a retenção da resposta da esquiva inibitória.

Segundo Cammarota *et al.* (2004), a memória para ser evocada, precisa ter sido aprendida e/ou incorporada ao repertório comportamental do animal para resultar em uma resposta aprendida do indivíduo. Sugerem que a recuperação da memória durante um teste de evitação, como a esquiva inibitória, onde o aprendizado é adquirido de forma aversiva, induz a reconsolidação ao invés da extinção do traço de memória. Segundo Cruz & Landeira-Fernandez (2012), após a aquisição dessa forma de aprendizagem (EI), o animal passa a reagir defensivamente na presença do novo estímulo (ddp). Isso foi observado através dos testes de aquisição das memórias de curta e longa duração dos compostos AK 26 e AK 13 realizados neste trabalho, os quais não apresentaram influência no processo de aquisição. Para os testes de evocação do composto AK 26, não foram observados efeitos na memória, demonstrando ainda caráter amnésico na dose de 200 mg/kg semelhante ao controle positivo (Diazepam), conhecido como um benzodiazepínico que causa amnésia anterógrada sem comprometer gravemente e a longo prazo, a memória (Clarke, 1970; Hennessy, 1991). Os testes de evocação para o composto AK 13 não apresentaram benefícios para a memória.

Como defendido por Izquierdo *et al.* (1998) e Cammarota *et al.* (2005), mesmo que as memórias de curto e longo prazo lidem com os mesmos estímulos de entrada e emitam respostas de aprendizagem equivalentes, elas não são reconhecidas como estágios sequenciais de um único fenômeno, são no entanto, adquiridas através de vias moleculares independentes. Desta forma, existem vários tratamentos que podem bloquear a memória de curto prazo, deixando a memória de longo prazo intacta para a mesma tarefa no mesmo animal (IZQUIERDO *et al.* 1998). Como

observado por Izquierdo *et al.* (1998), através do método da esquiva inibitória, observaram que tratamentos que interferem com sistemas de neurotransmissores no hipocampo, ou nos córtices afetam diferentemente esses dois tipos de memória, podendo bloquear uma memória sem afetar a outra, ou alterar ambas de forma distinta. Os resultados apresentados nas Figuras 2, sugerem, claramente, que esses dois processos envolvem mecanismos diferentes e, de certa forma, independentes.

De acordo com os resultados obtidos por Stoll (2014), a tiazolidinona AK 26 atuou de forma significativa sobre a memória sem apresentar efeitos adversos e prejuízos cognitivos nos animais, diferente dos resultados obtidos no presente trabalho. O tratamento 200 mg/kg dos testes de evocação da memória de curta duração, ainda apresentou perfil amnésico, contrapondo a hipótese levantada pela autora de que o composto seria um bom candidato terapêutico para o tratamento de disfunções colinérgicas associadas a doenças neurodegenerativas. Uma possível explicação seria que, como os compostos foram sintetizados em épocas diferentes e por pessoas diferentes, cabe ressaltar que devemos ter cuidado com a síntese de compostos, pois pequenas diferenças podem interferir nas observações experimentais *in vivo*. Desta forma, são necessárias novas análises com objetivo de confirmar os efeitos dos compostos sobre os processos de memória.

4.2 Ansiedade

Através das análises dos resultados obtidos através do método do labirinto em cruz elevado para os testes de ansiedade dos compostos AK 26 e AK 13, podemos observar que os tratamentos 50 mg/kg, 100 mg/kg e 200 mg/kg (tratamento do composto AK 26) apresentaram resultados semelhantes aos controles negativos (Salina e DMSO) tanto em relação ao número de entradas em ambos os braços do labirinto quanto ao tempo gasto pelos animais em cada braço, sinalizando não apresentarem perfil ansiolítico ou ansiogênico.

Quando submetidos à situação experimental do labirinto em cruz elevado, os camundongos tendem a evitar os braços abertos do labirinto, buscando permanecer mais tempo nos braços fechados (CRUZ *et al.*, 1997), como apontam nossos resultados. De acordo com Cruz *et al.* (1997), a porcentagem de entradas e o tempo

gasto pelo animal nos braços fechados do labirinto representam indicadores de ansiedade. Já o total ou número absoluto de entradas em ambos os braços, são atribuídos como índice de atividade locomotora.

Segundo Handley & Mithani (1984) e Pellow & File (1986), drogas ansiolíticas, assim como os benzodiazepínicos, tendem a aumentar o número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos do labirinto em cruz elevado, enquanto agentes ansiogênicos produzem um efeito oposto. De acordo com nossos resultados, os compostos não apresentam traços ansiolíticos.

Campesato (2012) mostrou em seu estudo que AK 26 e AK 13, mostraram efeito ansiolítico em diferentes dosagens, sem causar prejuízo do processo cognitivo. O oposto foi observado neste estudo, onde nenhum dos compostos testados mostraram efeito ansiolítico. Cabe destacar, que o teste de ansiedade utilizado por Campesato (2012) foi o teste de ocultar defensivo que segundo Thomas *et al.* (2009) está mais relacionado com a tensão do indivíduo do que um comportamento ansioso propriamente dito. Contudo, ambos os modelos de ansiedade são sensíveis a drogas benzodiazepínicas, mas não a ansiolíticos serotoninérgicos (CRUZ & LANDEIRA-FERNANDEZ, 2012). Desta forma, mais estudos devem ser realizados com o objetivo de confirmar as considerações a respeito dos compostos.

5 Conclusão

Com base nos resultados obtidos através das análises propostas pelo estudo, podemos concluir que ambos os compostos de tiazolidinonas utilizados não apresentaram melhora na memória, mas podem levar a uma diminuição na aquisição da memória de longa duração (LTM), para o composto AK 13 e na evocação da memória de curta duração (STM), para o composto AK 26.

Os compostos também não apresentaram efeito ansiolítico ou ansiogênico no teste do labirinto em cruz elevado. Destacamos que seriam necessários estudos adicionais, visto que em trabalhos anteriores, os compostos apresentaram um possível efeito ansiolítico em outro modelo animal de ansiedade.

Referências

ABEL, Ted; LATTAL, K. Matthew. Molecular mechanisms of memory acquisition, consolidation and retrieval. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 11, p. 180-187, 2001.

ALMEIDA, Reinaldo Nóbrega et al. **Psicofarmacologia: Fundamentos Práticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2006. 357 p.

ANDRADE, Laura Helena Silveira Guerra de; GORENSTEIN, Clarice. Aspectos gerais das escalas de avaliação de ansiedade. **Revista: Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 25, n. 6, Edição especial, p. 285-90. 1998.

BADDELEY, Alan. **Working memory, thought and action**. Oxford, UK: Oxford University Press, 2007, 432 p.

BEAR, Mark F., CONNORS, Barry W., & PARADISO, Michael A. **Neurociências: Desvendando o sistema nervoso**. 3. ed. Porto Alegre: Artes Médicas Artmed, 2008. 896 p.

CAMMAROTA, Martín; BEVILAQUA, Lia R. M.; MEDINA, Jorge H.; et al. Retrieval does not induce reconsolidation of inhibitory avoidance memory. **Neurobiology of Learning and Memory**, n. 11, p. 572-578, 2004.

CAMMAROTA, M., BEVILAQUA, L. R. M., ROSSATO, J. I., RAMIREZ, M., MEDINA, J. H., IZQUIERDO, I. Relationship between short- and long-term memory and short- and long-term extinction. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 1, n. 84, p. 25-32, 2005.

CAMPESATO, Cibeli Bastos Marques. **Análise dos efeitos de dois derivados de tiazolidinonas sobre a memória e ansiedade em camundongos**. 2012. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas – Bacharelado) – Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

CHANDRA, J. N. Narendra Sharath; MALVIYA, Manish; SADASHIVA, C. T.; SUBHASH, M. N.; RANGAPPA, Kanchugarakoppal S.; Effect of novel arecoline thiazolidinones as muscarinic receptor 1 agonist in Alzheimer's dementia models. **Neurochemistry International**, v. 52, n. 3, p. 376-383, 2008.

CHAVES, E. M. Camelo; HONÓRIO, José E. R.; SOUZA, C. N. Soares; MONTEIRO, Valdécio M.; NONATO, Dayane T. Tenório; DANTAS, Leonardo P.; LÚCIO, Ana S. S. Carneiro; BARBOSA-FILHO, José M.; PATROCÍNIO, M. C. Azevedo; VIANA, G. S. Barros; VASCONCELOS, S. M. Mendes. The anxiolytic-like effect of 6-styryl-2-pyrone in mice involves GABAergic mechanism of action. **Metabolic Brain Disease**, p. 1-11, 2017.

CLARKE, P. R. F.; ECCERSLEY, P. S.; FRISBY, J. P.; THORNTON, J. A. The amnesic effect of diazepam (valium). **British Journal of Anaesthesia**, v. 42, n. 8, p. 690-697, 1970.

CRUZ, Antonio Pedro de Mello; ZAGROSSI, Hélio Júnior; GRAEFF, Frederico Guilherme; LANDEIRA-FERNANDEZ, Jesus. Modelos animais de ansiedade: implicações para a seleção de drogas ansiolíticas. **Psicologia: Teoria e Pesquisa**, v. 13, n. 3, p. 169-278, 1997.

CRUZ, Antonio Pedro de Mello; LANDEIRA-FERNANDEZ, Jesus. Modelos animais de ansiedade e o estudo experimental de drogas serotoninérgicas. In. FERNANDEZ, J. Landeira e FUKUSIMA, S. (Org.). **Métodos em Neurociência**. São Paulo: Manole, p. 192-217, 2012.

CUNICO, Wilson; GOMES, Claudia R. B.; VELLASCO, Walcimar T. J. Chemistry and biological activities of 1,3-thiazolidin-4ones. **Mini-Reviews in Organic Chemistry**, v. 5, n. 4, p. 336-344, 2008.

DALMAZ, Carla; NETTO, Carlos Alexandre. A Memória, **Revista: Ciência e Cultura**, v. 56, n. 1, p. 30-31, 2004.

FILGUEIRAS, Alberto; LANDEIRA-FERNANDEZ, J.; CHARCHAT-FICHMAN, Helenice. Working memory in Alzheimer disease: a 5-year systematic review of empirical evidences from baddeley's working memory model. **Conexões PSI**, v. 1, n. 1, p. 57-76, 2013.

GOLD, Paul E.; The use of avoidance training in studies of modulation of memory storage. **Behavior and Neural Biology**, v. 46, n. 1, p. 87-98, 1986.

GOLDBERG, Elkhonon. **The new executive brain: frontal lobes in a complex world**. Oxford, UK: Oxford University Press, 2009, 352 p.

GRAEFF, Frederico Guilherme; GUIMARÃES, Francisco Silveira et al. **Fundamentos de Psicofarmacologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 2001. 238 p.

HANDLEY, S. L.; MITHANI, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in maze-exploration modelo of fear-motivated behavior. **Nauyn Schmiedeberg Arch Pharmacol**, v. 1, n. 327, p. 1-5, 1984.

HENNESSY, Maria J.; KIRKBY, Kenneth C.; MONTGOMERY, Iain M. Comparison of the amnesic effects of midazolam and diazepam. **Psychopharmacology**, v. 103, n. 4, p. 545-550, 1991.

IZQUIERDO, Iván; MEDINA, Jorge H. Memory Formation: The Sequence of Biochemical Events in the Hippocampus and Its Connection to Activity in Other Brain Structures. **Neurobiology of Learning and Memory**, v, 68, n. 3, p. 285-316, 1997.

IZQUIERDO, I.; BARROS, D. M.; MELLO e SOUZA, T.; SOUZA, M. M.; IZQUIERDO, L. A.; MEDINA, J. H. Mechanisms for memory types differ. **Nature**. n. 393, p. 635-636, 1998.

IZQUIERDO, Iván. **Memória**. Porto Alegre: Artes Médicas (ArtMed), 2002. 96 p.

JENSEN, R. A., MARTINEZ, J. L.; VASQUEZ, B. J.; MCGAUGH, J. L. Benzodiazepines alter acquisition and retention of an inhibitory avoidance response in mice. **Psychopharmacology**, v. 1, n. 64, p. 125-126, 1979.

KANDEL, Eric R.; SCHWARTZ, James H.; JESSEL, Thomas M.; SIEGELBAUM, Steven A.; HUDSPETH, A. J. **Princípios de Neurociências**. 5. Ed. Porto Alegre: Artes Médicas (ArtMed), 2014. 1544 p.

KUBOYAMA, Tomoharu; HIROTSU, Keisuke; ARAI, Tetsuya; YAMASAKI, Hiroo; TOHDA, Chihiro. Polygalae radix extract prevents axonal degeneration and memory deficits in a transgenic mouse modelo f Alzheimer's disease. **Frontiers in Pharmacology**. 2017.

KUNZLER, Alice; NEUENFELDT, Patrícia D.; NEVES, Adriana M. das; PEREIRA, Claudio M. P.; MARQUES, Gabriela H.; NASCENTE, Patrícia S.; FERNANDES, Maureen H. V.; HÜBNER, Silvia O.; CUNICO, Wilson. Synthesis, antifungal and

cytotoxic activities of 2-aryl-3-((piperidin-1-yl)ethyl)thiazolidinones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 64, p. 74-80, 2012.

LACERDA, Guilherme Frederico Miranda Lima de. **Ansiedade em modelos animais: efeito de droga nas dimensões extraídas da análise fatorial**. 2006. 63 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2006.

MOURÃO, Carlos Alberto Jr.; FARIA, Nicole Costa. Memória. **Psicologia: Reflexão e Crítica**, v. 28, n. 4, p. 780-788, 2015.

MOURÃO, Carlos Alberto Jr.; MELO, Luciane Bandeira Rodrigues. Integração de três conceitos: função executiva, memória de trabalho e aprendizado. **Psicologia: Reflexão e Crítica**, v. 27, n. 3, p. 309-314, 2011.

NABESHIMA, Tohyama K.; ICHIHARA, K.; KAMEYAMA, T. Effects of benzodiazepines on passive avoidance response and latente learning in mice: relationship to benzodiazepine receptors and the cholinergic neuronal system. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 255, n. 2, p. 789-794, 1990.

NETTO, C. A., IZQUIERDO, I. On How Passive is inhibitory avoidance. **Behavioral and Neural Biology**, v. 43, n. 3, p. 327-330, 1985.

PELLOW. S.; FILE, S. E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in na elevated plus-maze: a novel testo f anxiety in the rat. **Pharmacol Biochem Bevavior**, v. 24, n. 3, p. 525-529, 1986.

RAMSHINI, H.; MOGHADDASI, A. S.; ALDAGHI, L.S.; MOLLANIA, N. EBRAHIM-HABIBI, A. Silver nano particles ameliorate learning and spatial memory of male Wistar rats by prevention of amyloid fibril-induced neurotoxicity. **Archives italiennes de biologie**, v. 155, n. 3, p. 131-141, 2017.

SHARMA, Swikriti, KASHYAP, Shilpi. Synthesis and biological evaluation of novel thiazolidinone compounds. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 6, p. 625-629, 2016.

SILVA, Penildon. **Farmacologia**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2010. 1326 p.

SINGH, Shiva P.; PARMAR Surendra S.; RAMAN Krishna; STENBERG Virgil I. Chemistry and biological activity of thiazolidinones. **Chemical Reviews**, v. 81, n. 2, p. 175-203. 1981.

STOLL, Franciele Elisa. **Análise de dois compostos de tiazolidinonas sobre a aquisição e a consolidação da memória de camundongos**. 2014. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas Bacharelado) – Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014

STUART, A. Forman; CHOU, Janet; STRICHARTZ, Gary R.; LO, Eng H. Farmacologia da neurotransmissão GABAérgica e glutamatérgica. In: GOLAN, David E. (Org.). **Princípios de farmacologia**: a base fisiopatológica da farmacoterapia. Rio de Janeiro: Guanabara, 2009. P. 146-165.

THOMAS, Alexia; BURANT, April; BUI, Nghiem; GRAHAM, Deanna; YUVA-PAYLOR, Lisa A.; PAYLOR, Richard. Marble burying reflects a repetitive and perseverative behavior more than novelty-induced anxiety. **Psychopharmacology**, v. 204, n. 2, p. 361-373, 2009.

ULRICH-LAI, Yvonne M.; HERMAN, James P. Neural regulations of endocrine and autonomic stress responses. **Nature Reviews: Neuroscience**, v. 10, p. 397-409, 2009.

VERMA, Amit; SARAF, Shailendra K. 4-Thiazolidinone – A biologically active scaffold. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 897-905, 2008.

ZHAO, Lu; LIU, Sha; WANG, Yin; ZHANG, Qiaoyan; ZHAO, Wenjuan; WANG, Zejian; YIN, Ming. Effects of curculigoside on memory impairment and bone loss via antioxidative character in APP/PS1 mutated transgenic mice. **PLoS One**, v. 10, n. 7, published online, 2017.