

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica



SANDERSSONILLO DE ALBUQUERQUE DOS SANTOS

**NOVOS AGENTES ANTI-INFLAMATÓRIOS TIAZOLIDÍNICOS:
SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E EFEITOS
BIOLÓGICOS**

Recife – 2013

SANDERSSONILO DE ALBUQUERQUE DOS SANTOS

**NOVOS AGENTES ANTI-INFLAMATÓRIOS TIAZOLIDÍNICOS:
SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E EFEITOS
BIOLÓGICOS**

**Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Inovação
Terapêutica da Universidade Federal de
Pernambuco, para a obtenção do Título de
Mestre em Inovação Terapêutica**

Orientadora:

Profa. Dra. Maria do Carmo Alves de Lima

Recife – 2013

Catálogo na fonte

Elaine Barroso

CRB 1728

Santos, Sanderssonilo de Albuquerque dos

Novos agentes anti-inflamatórios tiazolidínicos: síntese, elucidação estrutural e efeitos biológicos / Recife: O Autor, 2013

130 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Maria do Carmo Alves de Lima

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Inovação Terapêutica, 2013

Inclui bibliografia e apêndice

- 1. Tiazóis 2. Analgésico 3. Inflamação I. Lima, Maria do Carmo Alves de (orientadora) II. Título**

615.1 CDD (22.ed.)

UFPE/CCB- 2014- 280

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica

REITOR:

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR:

Prof. Dr. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO:

Prof. Dr. Francisco de Souza Ramos

DIRETORA DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Prof^ª. Dr^ª. Maria Eduarda Lacerda Larrazábal da Silva

VICE-DIRETORA DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Prof^ª. Dr^ª. Oliane Maria Correia Magalhães

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO
TERAPÊUTICA:**

Prof. Dr. César Augusto Souza de Andrade

**VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
INOVAÇÃO TERAPÊUTICA:**

Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: ALBUQUERQUE DOS SANTOS, SANDERSSONILO.

Título: NOVOS AGENTES ANTI-INFLAMATÓRIOS TIAZOLIDÍNICOS:
SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E EFEITOS BIOLÓGICOS

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários ao grau de Mestre em Inovação Terapêutica, na área de concentração Fármacos, Insumos e Medicamentos para a Saúde.

Aprovada em: 27 / 02 / 2013

Banca Examinadora

Prof^a. Dr^a. Maria do Carmo Alves de Lima

Instituição: Departamento de Antibióticos - UFPE

Assinatura: _____

Prof^a Dr^a. Teresinha Gonçalves da Silva

Instituição: Departamento de Antibióticos - UFPE

Assinatura: _____

Dr^a. Michelly Cristiny Pereira

Instituição: PNPD/CAPES - UFPE

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao Senhor, que em tudo me ilumina!

À minha companheira: Aldenise Monteiro de Aguiar, pela paciência e por sempre estar ao meu lado em todos os momentos.

Aos meus avós: Geraldo Feliciano de Albuquerque, Maria José da Conceição Albuquerque, que sempre foram a razão do meu esforço.

Aos meus pais: Rosangela Maria de Albuquerque e Edilson pereira dos Santos, aos quais devo honrar.

Enfim, dedico este trabalho a minha orientadora e amiga: professora Maria do Carmo Alves de Lima (Nena). Por me ensinar além da ciência, pois me ensinou a lecionar e acima de tudo, a aprender!

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Maria do Carmo Alves de Lima, do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos – LPSF, do Departamento de Antibióticos – UFPE, pela sua paciência, sua presença, estímulo e dedicação para com os projetos e pessoas do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos.

Ao Prof. Dr. Ivan da Rocha Pitta e a Prof^a. Dr^a. Suely Lins Galdino (*in memorian*) do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos – LPSF, Departamento de Antibióticos – UFPE, pela colaboração na realização deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Teresinha Gonçalves e a Msc. Aline Standford, do Laboratório de Bioensaios para Pesquisa de Fármacos – LBPF, Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, pela colaboração na realização dos testes de atividade anti-inflamatória.

Agradeço também a toda equipe do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos: Vinícius Barros, Tiago Bento, Cleiton Diniz, Willams Leal, Luiz Carlos, César Amorim, Sandra Sarinho, Iris, Jamerson Oliveira, Talita, Leidiane, Antônio Sérgio, Andreza Tavares e Michele France.

Ao CNPq pelo suporte financeiro.

RESUMO

A inflamação é um processo complexo e dinâmico iniciado pelo corpo em resposta a uma lesão tecidual ou infecção que culmina na liberação sequencial de mediadores que conduzem à vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, formação de edema e a ativação de fibras de dor. O processo inflamatório está presente em várias patologias, como a artrite e a osteoartrite. Segundo dados do Ministério da Saúde, cerca de 80% dos brasileiros com idade acima de 70 anos são portadores de uma destas doenças, sendo imprescindível a utilização de anti-inflamatórios para combater o processo de inflamação. Contudo, esta utilização pode levar a efeitos secundários como ulceração gástrica e hemorragia, despertando a necessidade de novas drogas capazes de inibir o processo inflamatório sem apresentar os riscos advindos da sua administração. Diante desta problemática, diversos estudos apontam as tiazolidinas como portadoras de significativas atividades biológicas. Pois, estudos comprovam o potencial anti-inflamatório e analgésico de derivados tiazolidínicos com reduzidos efeitos gastrointestinais. Nesse contexto, propomos a obtenção de novos derivados tiazolidínicos, sua elucidação estrutural e determinação da atividade anti-inflamatória através dos testes de peritonite induzida por carragenina, contorções abdominais induzidas por ácido acético e determinação dos níveis de NO. Os compostos tiveram suas estruturas devidamente comprovadas por RMN-¹H, RMN-¹³C e IV. Todos os derivados foram sintetizados de acordo com uma via plena e convergente, através de reações de *N*-alquilação, condensação e posterior adição de Michael. Seis compostos foram avaliados *in vivo* e comparados com fármacos padrões. Os compostos GQ-246, GQ-252 e GQ-273 foram os mais ativos da série, apresentando um percentual de inibição da migração celular de 80,7%, 81,8% e 77,4% respectivamente, em teste de peritonite induzida por carragenina. Estes resultados comprovam mais uma vez a potencial atividade anti-inflamatória das tiazolidinadionas e nos remete a necessidade realização de testes capazes de avaliar a toxicidade destas moléculas.

Palavras-chave: Analgésico, Anti-inflamatório, Inflamação, Tiazolidina.

ABSTRACT

Inflammation is a complex and dynamic process initiated by the body in response to tissue injury or infection sequence that culminates in release of mediators which lead to vasodilation, increased vascular permeability, edema formation and activation of pain fibers. The inflammatory process is present in several pathologies such as arthritis and osteoarthritis. According to the Ministry of Health, about 80% of Brazilians aged above 70 years are suffering from one of these diseases, it is imperative to use of anti-inflammatories to combat the inflammation process. However, this use can lead to side effects such as gastric ulceration and hemorrhage, raising the need for new drugs capable of inhibiting inflammation without introducing risks from the administration. Faced with this problem, various studies point thiazolidines as having significant biological activities. Therefore, studies show the potential anti-inflammatory and analgesic derived from Thiazolidines with reduced gastrointestinal side effects. In this context, we propose to obtain new derivatives of Thiazolidines, structural elucidation and determination of anti-inflammatory activity through the tests of peritonitis induced by carrageenan induced abdominal acetic acid and determining the levels of NO. The compounds were properly supported by ¹H-NMR, ¹³C-NMR and IR. All derivatives were synthesized according to a full and convergent route through reactions of N-alkylation, condensation and subsequent Michael addition. Six compounds were evaluated in vivo and compared with standard drugs. The GQ-246, GQ-252 and GQ-273 were the most active compounds of the series, with a percentage of inhibition of cell migration 80.7%, 81.8% and 77.4% in induced peritonitis test respectively, carrageenan. These results confirm once more the potential anti-inflammatory activity of thiazolidinediones and reminds us of the need for achievement tests able to assess the toxicity of these molecules.

Keywords: Analgesic, Anti-Inflammatory, Inflammation, thiazolidine.

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Diagrama de síntese dos derivados tiazolidínicos	49
Esquema 2: Mecanismo de reação da formação dos intermediários <i>N</i> -alquilados	50
Esquema 3: Mecanismo de reação da formação dos ésteres cianocinâmicos	51
Esquema 4: Mecanismo de reação dos novos derivados tiazolidínicos	51
Esquema 5: Síntese dos intermediários GQ-175 (R_1) e GQ-176 (R_2)	52
Esquema 6: Síntese dos intermediários IP's	53
Esquema 7: Síntese dos novos derivados tiazolidínicos finais	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Cascata do ácido araquidônico (Adaptado de CELOTTI e DURAND, 2003)	24
Figura 2: Anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs)	26
Figura 3: Inibidores seletivos da COX-2	27
Figura 4: iCOX/5-LOX	29
Figura 5: 4-Tiazolidinona	30
Figura 6: Síntese de 4-tiazolidinona 2,3-dissubstituída (Adaptado de BARRECA et al., 2001)	30
Figura 7: Reatividade das tiazolidinonas	31
Figura 8: Formação do sal da tiazolidina	31
Figura 9: Formação da N-alquil-tiazolidina-2,4-diona	32
Figura 10: Reação de oxidação com KMnO ₄ (LIESEN et al., 2008)	32
Figura 11: Reação de oxidação com H ₂ O ₂ (TAXAK et al., 2011)	33
Figura 12: Reação de condensação em meio com PEG 400 (MALI et al., 2010)	34
Figura 13: Reação de condensação das tiazolidina-2,4-dionas	34
Figura 14: Adição de Michael (McLEOD, 1983).	35
Figura 15: Adição de Michael com presença de grupo de partida no C-β (McLEOD, 1983).	36
Figura 16: Reação de acoplamento de tiazolidinas com sais de diazônio (LIESEN et al., 2008)	37
Figura 17: Reagente de Lawesson (SCHEIBYE et al., 1981)	37

Figura 18: Reação de tionação (ALEGAON e ALAGAWADI, 2011)	37
Figura 19: Análogos da 4-tiazolidina sintetizados por Verçoza et al, (2009)	39
Figura 20: Derivados sintetizados por Tenório et al, (2005)	40
Figura 21: Derivados da tiazolidinadiona com potencial atividade antidiabética (Adaptado de OGUCHI et al., 2000)	41
Figura 22: Derivado tiazolidínico sintetizado por Góes et al, (2004)	43
Figura 23: Compostos sintetizados por Vigorita et al, (2001).	44
Figura 24: Rosiglitazona e derivado arilideno-tiazolidina-2,4-diona sintetizado por Barros et al (2010)	45
Figura 25: SF23 (FAINE et al, 2011)	45
Figura 26: Derivados GQ-246, GQ-251, GQ-252, GQ-261, GQ-273 e GQ-274 e percentual de inibição da migração de PMNL	72

LISTA DE GRÁFICOS E TABELAS

Tabela 1: Número de PMNL (média $\pm$ desvio padrão) e percentual de inibição da inflamação pelos derivados Tiazolidínicos no teste da peritonite induzida por carragenina.	71
Tabela 2: Número de contorções abdominais (média $\pm$ desvio padrão) e percentual de inibição do derivado tiazolidínico GQ – 246, no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético.	74
Gráfico 1: Percentual de inibição de migração de células polimorfonucleares	70
Gráfico 2: Número contorções abdominais	73
Gráfico 3: Concentração dos níveis de óxido nítrico	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA – Ácido araquidônico
AIDS – Síndrome da imunodeficiência adquirida
AINEs – Anti-inflamatórios não esteroidais
CIM – Concentração inibitória mínima
COX – Cicloxigenase
FDA – Food and Drug Administration
H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio
HETEs – Ácidos hidroxeicosatetraenóicos
HIV – Virus da imunodeficiência humana
HOONO – Ácido peróxido nitroso
HPETEs – Ácidos hidroperoxeicosatetraenoicos
iCOX/5-LOX – Inibidores duais das enzimas cicloxigenase e 5-lipoxigenase
IL-1 β – Interleucina 1 β
IL-6 – Interleucina 6
iNOS – Óxido nítrico sintase indutível
IV – Infravermelho
KMnO₄ – Permanganato de potássio
LOX – Lipoxigenase
LTs – Leucotrienos
MCPBA – Ácido *m*-cloro-perbenzóico
NO – Óxido nítrico
PEG 400 – Polietilenoglicol 400
PGs – Prostaglandinas
PLA₂ – Fosfolipase A₂
RMN-¹³C – Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN-¹H – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
TNF- α – Fator de necrose tumoral
TXs – Tromboxanos

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE ESQUEMAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE GRÁFICOS E TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	21
2.1. Objetivo geral	21
2.2. Objetivos específicos	21
3. REVISÃO DA LITERATURA	23
3.1. Inflamação	23
3.2. Anti-inflamatórios	25
3.3. Inibidores seletivos da COX-2	26
3.4. Inibidores duais 5-LOX/COX	28
3.5. Tiazolidina	29
3.6. Reatividade das 4-Tiazolidinas	30
3.6.1. Reações de N-alquilação das tiazolidinadionas	31
3.6.2. Reações de Oxidação das tiazolidinadionas	32
3.6.3. Reações de condensação das tiazolidina-2,4-dionas	33
3.6.4. Reações de adição das tiazolidina-2,4-dionas	35
3.6.5. Reações das tiazolidina-2,4-dionas com sais de diazônio	36
3.6.6. Reações de tionação	37
3.7. Atividades biológicas das tiazolidinas	38
3.7.1. Ação esteroideogênica	38

3.7.2. Atividade antibacteriana e antifúngica	38
3.7.3. Atividade antiprotozoária	39
3.7.4. Atividade hipoglicemiante	40
3.7.5. Atividade anti-retroviral	41
3.7.6. Atividade anti-inflamatória e analgésica	42
4. PARTE QUÍMICA	48
4.1. Material	48
4.1.1. Equipamentos	48
4.1.2. Reagentes e solventes	48
4.2. Procedimento experimental	49
4.2.1. Mecanismos reacionais	50
4.3. Metodologias de síntese	52
4.3.1 Síntese dos derivados 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona	52
4.3.2. Síntese dos ésteres cianocinâmicos	52
4.3.3. Síntese dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona	53
4.4. Resultados	55
5. PARTE BIOLÓGICA	61
5.1. Animais	61
5.2. Métodos	61
5.2.1. Peritonite induzida por carragenina	61
5.2.2. Contorções abdominais induzidas por ácido acético	62
5.2.3. Determinação dos níveis de óxido nítrico	62
5.3. Análise dos resultados	63
5.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
5.4.1. Peritonite induzida por carragenina	63

5.4.2. Contorções abdominais induzidas por ácido acético	66
5.4.3. Determinação dos níveis de óxido nítrico	67
CONCLUSÕES	70
REFERÊNCIAS	72
ANPENDICE	83

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Para um bom funcionamento do organismo é indispensável a função correta de um tecido. Quando os tecidos sofrem danos físicos ou são infectados por microrganismos, por exemplo, são ativadas respostas sistêmicas com o principal objetivo de eliminar os fatores problemáticos o mais rápido possível para restaurar a integridade do tecido. O resultado desse conjunto de atividades é uma resposta fisiológica frente aos danos e à infecções, ou seja, a inflamação (BANNENBERG, ARITA e SERHAN, 2007).

A resposta inflamatória é uma reação estereotipada, homeostática e geralmente benéfica do organismo frente a uma lesão. Porém, quando o processo inflamatório é excessivo, aberrante, ou prolongado, pode dar origem a efeitos indesejáveis que causam dor e até mesmo destruição do tecido, sendo necessária a utilização de fármacos anti-inflamatórios para minimizar esses efeitos (CRAIG e STITZEL, 1994; CECCON e VAZ, 2004).

O processo inflamatório está presente em várias patologias, como a artrite e a osteoartrite. Segundo dados do Ministério da Saúde, cerca de 80% dos brasileiros com idade acima de 70 anos são portadores de uma destas doenças, fato que as torna um importante problema de saúde pública, uma vez que estão frequentemente associadas a complicações que comprometem a produtividade e qualidade de vida do indivíduo (SEDA e SEDA, 2008).

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) estão entre os agentes terapêuticos mais utilizados, principalmente para o tratamento da dor e inflamação. Uma variedade de fármacos como a aspirina, ibuprofeno, cetoprofeno e naproxeno atuam através da inibição da enzima cicloxigenase (COX), justificando a administração de AINEs, por exemplo, para o tratamento de doenças reumáticas como osteoartrite e artrite reumatoide, que possuem como um dos principais sintomas, o desenvolvimento de processo inflamatório (VANE, BAKHLE e BOTTING, 1998; DANNHARDT e KIEFER, 2001).

Nesse contexto, com o surgimento dos inibidores duais das enzimas cicloxigenase e 5-lipoxigenase (iCOX/5-LOX) e com a descoberta e caracterização da COX-2, e a utilização dos inibidores seletivos da COX-2, têm-se resolvido esse problema encontrado na terapêutica anti-inflamatória que é suprimir a inflamação sem gerar os efeitos colaterais causados pelos AINEs

tradicionais com a proposta de ampliar a resposta biológica e manter as atividades anti-inflamatória, analgésica e antipirética. Pois, sabe-se que tanto os efeitos terapêuticos quanto os efeitos secundários desta classe de medicamentos anti-inflamatórios são consequência do seu mecanismo bioquímico de ação, e a utilização de AINEs, inevitavelmente leva a diminuição de prostaglandinas, substâncias responsáveis por diversas funções fisiológicas no estômago, rins e plaquetas (VANE, BAKHLE e BOTTING, 1998; CELOTTI e DURAND, 2003).

Os inibidores seletivos da COX-2 como meloxicam, nimesulida e os “coxibes”, como o celecoxibe, rofecoxibe e valdecoxibe, surgiram com o objetivo de eliminar os efeitos indesejáveis dos AINEs tradicionais, ou pelo menos a maior parte deles, pois não provocavam os efeitos adversos consequentes da inibição da COX-1 sem perder o efeito anti-inflamatório (LUENGO, 2005; BALAJI, RAMANATHAN e MENONC, 2007).

Contudo, o aumento significativo no risco de eventos cardiovasculares, fato que fez com que o rofecoxibe e o valdecoxibe deixassem de ser comercializados, despertou a necessidade da pesquisa de outros fármacos e ou até mesmo a busca por um novo alvo biológico capaz de reduzir os efeitos da inflamação (CHEN, RAO e KNAUS, 2006).

Diante da necessidade de novos compostos que sejam potenciais agentes anti-inflamatórios, porém com efeitos colaterais reduzidos, as tiazolidinas surgem como uma alternativa no tratamento dos distúrbios inflamatórios (SANTOS et al., 2005; BARROS et al., 2010).

Diversos estudos apontam a utilização dos derivados tiazolidínicos como uma alternativa promissora ao uso dos AINEs tradicionais, pois têm demonstrado bons resultados tanto frente a inibição da COX, com reduzidos ou efeitos ulcerogênicos ausentes, como ligantes dos PPARs, atuando na inibição da indução de mediadores pró-inflamatórios (LEHMANN et al., 1995; VIGORITA et al., 2001 SANTOS et al., 2005; DESMET et al., 2005).

OBJETIVOS

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Síntese e caracterização estrutural e atividade anti-inflamatória de novas moléculas 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidinadionas e determinação da atividade anti-inflamatória.

2.2. Objetivos específicos

- Sintetizar as novas moléculas tiazolidínicas através da modificação molecular, partindo de uma tiazolidina-2,4-diona;
- Caracterizar estruturalmente os compostos sintetizados por métodos espectrométricos, tais como infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênios e carbono 13 e espectrometria de massas;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória dos compostos sintetizados através de peritonite induzida por carragenina em camundongos;
- Determinar a concentração de NO no exsudato inflamatório de animais tratados com os compostos em estudo;
- Avaliar a atividade antinociceptiva dos derivados tiazolidínicos no modelo experimental de nocicepção induzida por ácido acético.

REVISÃO DA LITERATURA

REVISÃO DA LITERATURA

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Inflamação

A inflamação corresponde a um mecanismo de defesa natural do organismo a agressões sofridas (LUENGO, 2005). A complexidade e o dinamismo do processo inflamatório envolvem diversos agentes mediadores na participação de eventos interdependentes, sendo que este evento pode variar tanto na duração quanto na intensidade, o que dependerá em última instância do tipo de injúria ou estímulo nocivo (WERNER e GROSE, 2003).

Exemplos de fatores que podem desencadear uma resposta inflamatória são: (a) agentes químicos como ácidos e bases; (b) agentes físicos como traumas mecânicos, radiação, calor ou frio; e (c) fatores biológicos, que envolvem infecções fúngicas, bacterianas, virais ou provocadas por protozoários (BALBINO, PEREIRA e CURI, 2005).

Com relação às infecções, os agentes invasores promovem uma indução de eventos fisiológicos conhecidos como resposta inflamatória. Esta resposta se caracteriza pela mobilização de componentes celulares específicos através dos vasos sanguíneos, levando ao acúmulo de fluidos e leucócitos com objetivo de destruir, diluir e isolar os agentes invasores promovendo proteção aos tecidos e restringindo os danos no local afetado (BILATE, 2007).

Entre 42 a.C. e 37 d.C. os fenômenos da inflamação já eram descritos por Cornelius Celsus pela presença de quatro sinais cardeais: rubor, tumor, calor e dor. Estes fenômenos são mediados, entre outros, por metabólitos do ácido araquidônico como prostaglandinas e leucotrienos, substâncias de conhecidas como eicosanoides (LUENGO, 2005; MONTANARI, 2011).

O ácido araquidônico (AA) é um ácido graxo derivado dos fosfolípidios de membrana oriundo da ação da fosfolipase A₂ (PLA₂), liberado após a célula sofrer estímulos mecânicos, químicos ou físicos. Os leucotrienos (LT's) e prostaglandinas (PG) são mediadores de respostas biológicas como dor, febre e inflamação, que, além de aumentar a permeabilidade vascular, provocam vasodilatação levando a formação de edema. Tais mediadores são sintetizados

após ação da lipoxigenase (LOX) e da clicoxigenase (COX), sob o ácido araquidônico (GILROY, 2004).

A cascata ilustrada na Figura 1 demonstra a liberação dos metabólitos do AA após ação da Fosfolipase A₂. Após sofrer ação da 5-LOX, o AA dará origem aos ácidos hidropoxieicosatetraenóicos (HPETEs) e hidroxieicosatetraenóicos (HETEs) bem como aos LT's. Quando metabolizado pela COX, dará origem as prostaglandinas, tromboxanos (TX's) e prostaciclina. Estes metabólitos, por sua vez, são substâncias biologicamente ativas e detém importante papel na fisiopatologia da inflamação (LEVAL et al., 2002).

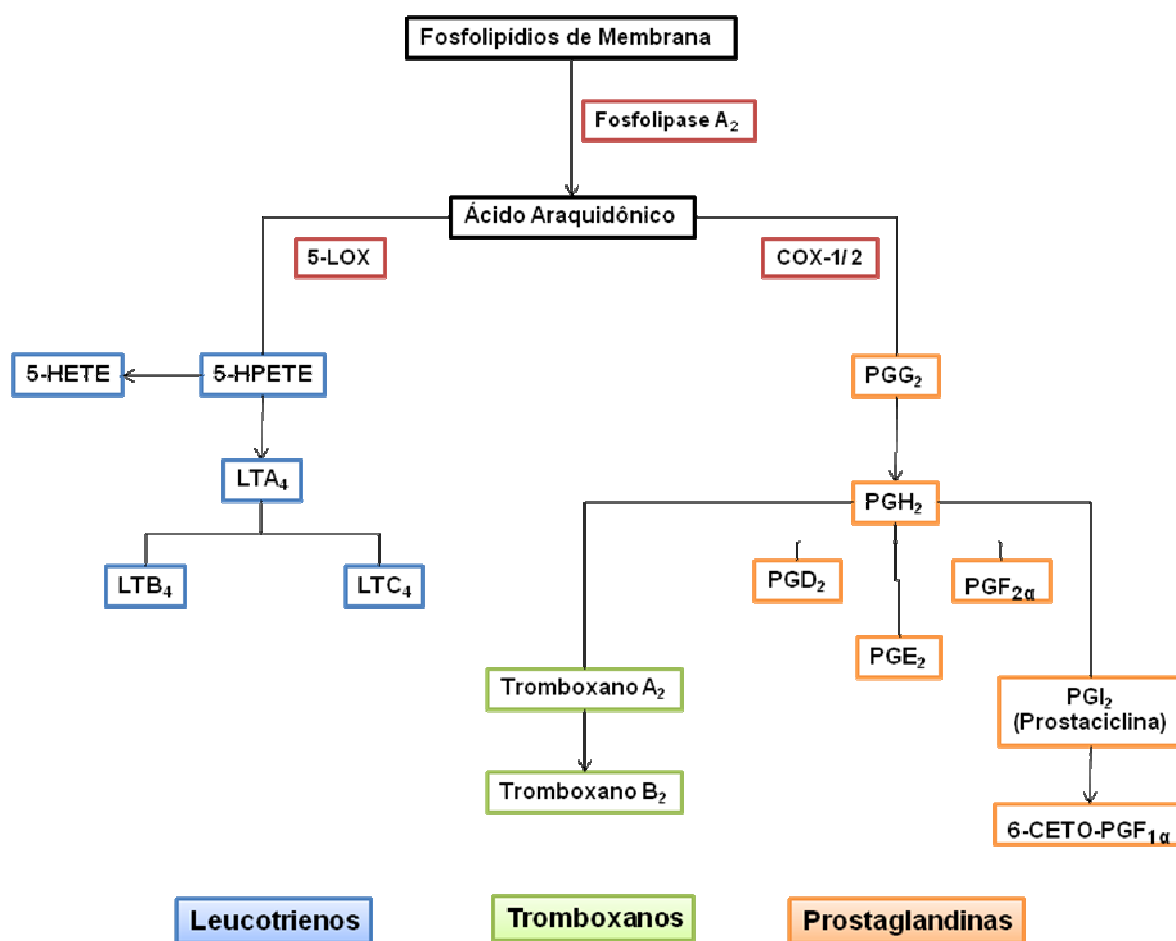


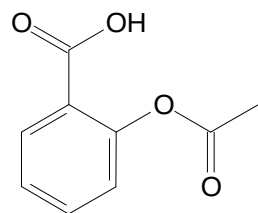
Figura 1: Cascata do ácido araquidônico (Adaptado de CELOTTI e DURAND, 2003)

O TXA_2 é responsável por induzir a síntese de citocinas inflamatórias como interleucina 1β ($IL-1\beta$) e o fator de necrose tumoral ($TNF-\alpha$) enquanto a PGE_2 é responsável pelo aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação e hiperalgesia. A união dos efeitos desses mediadores inflamatórios resulta nos sintomas clínicos comuns presentes em doenças inflamatórias: dor, calor, vermelhidão, inchaço e perda de função (STAMP, JAMES e CLELAND, 2005).

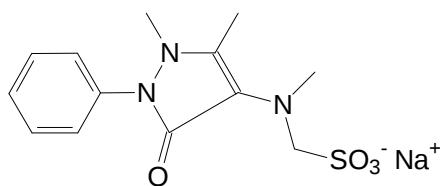
Embora uma resposta inflamatória geralmente traga benefícios ao organismo, efeitos indesejados estão presentes quando ocorra de forma exacerbada. Os danos incluem lesão tecidual progressiva sendo necessária em alguns casos a utilização de fármacos anti-inflamatórios para modular o processo inflamatório (ABAAS et al., 2002; CECCON e VAZ, 2004).

3.2. Anti-inflamatórios

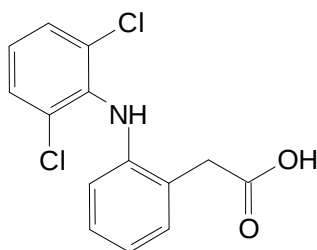
Os AINEs constituem um grupo heterogêneo de moléculas que, apesar de muitas vezes não estarem relacionadas quimicamente, possuem ações terapêuticas em comum, tais como: atividade analgésica, anti-inflamatória e antipirética. Esses efeitos tornam essa classe de fármacos a primeira escolha para o tratamento de doenças degenerativas inflamatórias como, por exemplo, desordens reumáticas (FIORUCCI et al., 2001). Exemplos de moléculas utilizadas devido suas propriedades anti-inflamatórias podem ser visualizados na figura 2.



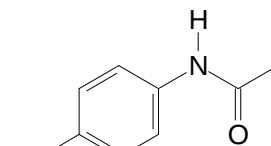
Ácido Acetilsalicílico



Dipirona Sódica



Diclofenaco



Paracetamol

Figura 2: Anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs).

A atividade anti-inflamatória dos AINEs deve-se à inibição da via das cicloxigenases, o que interfere na biossíntese das PG's (PETRUZZELLI et al., 2007). Contudo, a principal limitação na utilização dessa classe de anti-inflamatórios está ligada aos seus efeitos colaterais secundários, onde se destacam a atividade ulcerogênica gastrointestinal e o broncoespasmo (FIORUCCI et al., 2001).

3.3. Inibidores seletivos da COX-2

Até algum tempo atrás, certos efeitos colaterais como ulceração gastrointestinal e hemorragia, dano renal e disfunção das plaquetas eram tidos como consequências inevitáveis da inibição de atividade COX e consequente prevenção da síntese de PGs em condições inflamatórias (VANE, BAKHLE e BOTTING, 1998).

Entretanto, atualmente sabe-se que a COX possui três isoformas, sendo a que COX-1 é constitutiva e responsável pela proteção da mucosa gástrica e manutenção da homeostase, enquanto a COX-2 é indutiva e expressa na

inflamação do tecido, ou seja, está associada com a inflamação, mas não com a síntese fisiológica de PGs citoprotetoras. Essa informação permitiu o desenvolvimento de inibidores seletivos da COX-2, ofertando possibilidade de inibir a inflamação sem afetar as PGs geradas pela COX-1 no estômago, rins e plaquetas. Já a COX-3 está em estudo para uma melhor elucidação da ação (VANE, BAKHLE e BOTTING, 1998; KAM e SO, 2009; EL-SAYED et al., 2012;).

O meloxicam e a nimesulida foram os primeiros inibidores seletivos da COX-2, surgiram na década de 1980 e posteriormente, surgiram os fármacos popularmente conhecidos como “coxibes”, como o celecoxibe, o rofecoxibe, o etoricoxibe, e valdecoxibe e o parecoxibide, cujas estruturas estão demonstradas na figura 3 (LUENGO, 2005).

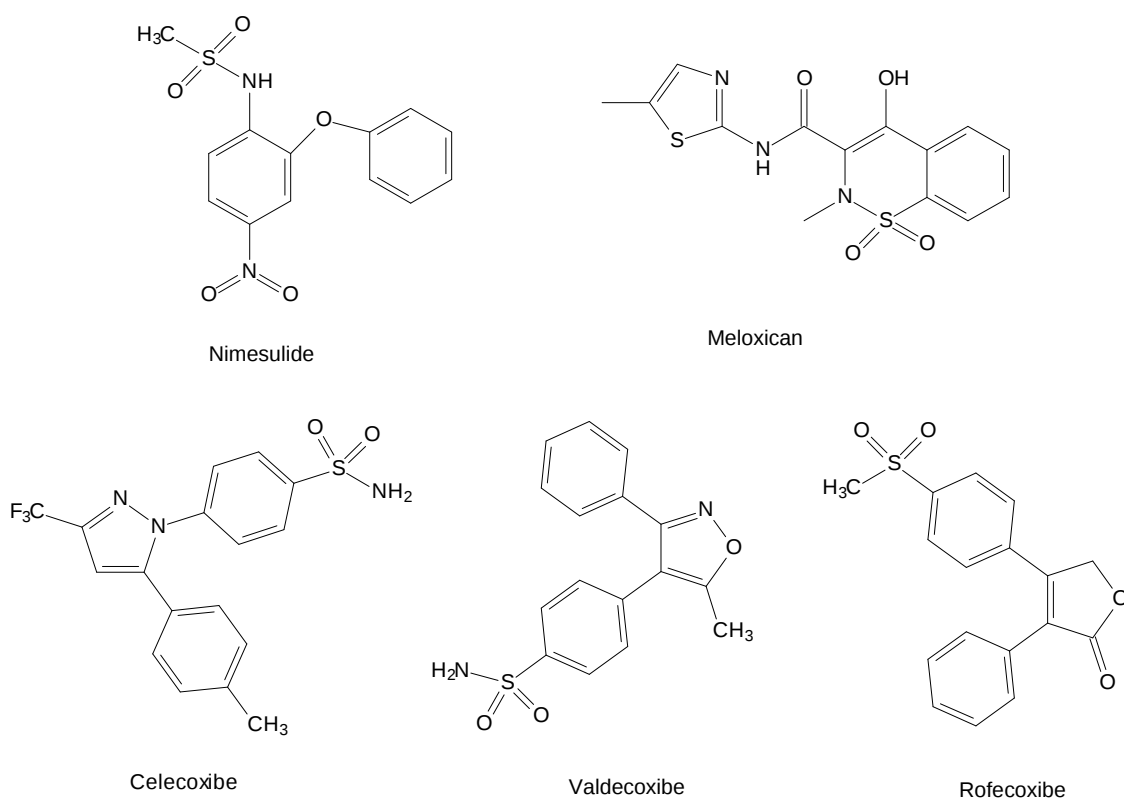


Figura 3: Inibidores seletivos da COX-2

Mesmo tidos como seletivos, estudos realizados por Fitzgerald (2003) revelou que inibidores da COX-2 provocaram efeitos cardiovasculares adversos

em voluntários sadios. Estes efeitos foram atribuídos a diminuição do nível de PGI_2 e ao aumento do nível de tromboxano A_2 , que levam a um aumento significativo no risco de eventos cardiovasculares, como infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral oclusivo, eventos que culminaram na retirada do rofecoxibe e valdecoxibe do mercado farmacêutico (HOEFLE, 2004; ENGH, 2001; CHEN, RAO e KNAUS, 2006).

3.4. Inibidores duais 5-LOX/COX

O ácido araquidônico pode ser metabolizado tanto pelas COXs quanto pelas LOXs, principalmente a 5-LOX, e que dará origem aos leucotrienos, outro mediador envolvido no processo inflamatório. Os leucotrienos são potentes broncoconstritores, atuam como um mensageiro químico para os leucócitos e também estão relacionados com a fisiopatologia no desenvolvimento de úlceras gastrointestinais (ASAKO et al., 1992). Por esta razão, o desenvolvimento de compostos que inibem tanto a COX quanto a 5-LOX ao mesmo tempo, surge como uma alternativa que poderia conduzir a um efeito anti-inflamatório reforçado e apresentar reduzidos efeitos indesejáveis (BERTOLINI, OTTANI e SANDRINI, 2001; LEVAL et al., 2002).

Vários esforços foram realizados ao longo de anos na busca por moléculas que inibam tanto a COX quanto a LOX, principalmente COX-2 e 5-LOX. Como resultado, uma gama de moléculas foram sintetizadas e testadas. Porém, dentre os iCOX/5-LOX, destacam-se o licofelone (ML3000), considerado o mais potente da classe, os derivados imidazolidínicos Tepoxalin e ER-34122 e o derivado tiazolidínico S-2474 ilustrados na Figura 4 (NAVEAU, 2005; FIORUCCI et al., 2001).

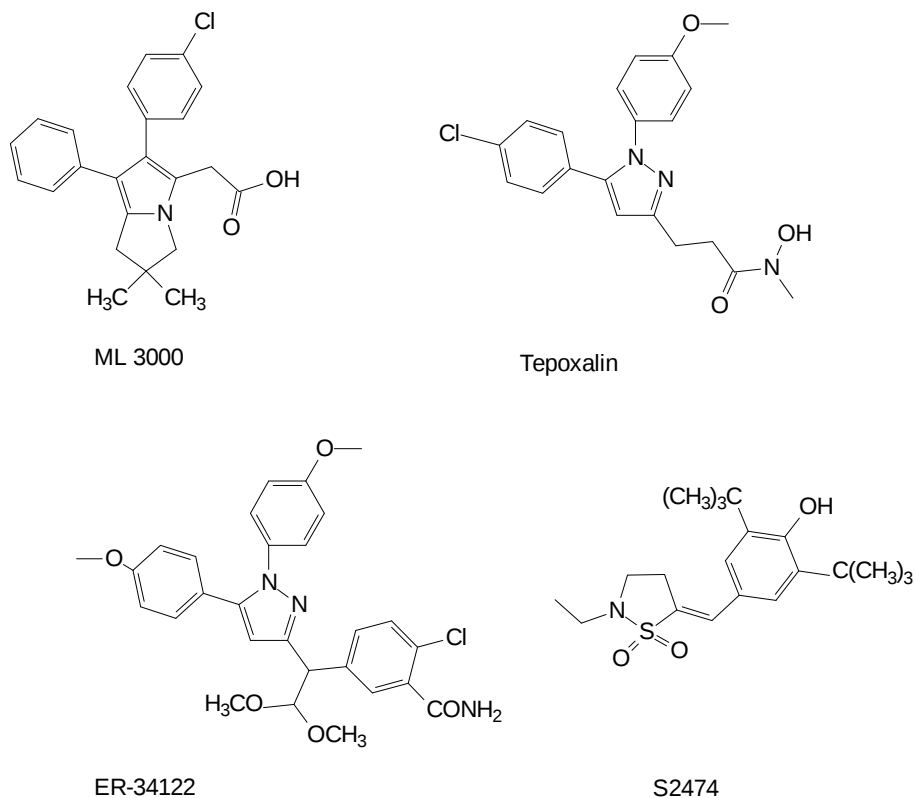


Figura 4: iCOX/5-LOX

Sendo assim, o desenvolvimento de iCOX/5-LOX podem representar uma alternativa promissora no tratamento da inflamação. Pois podem levar a um melhor efeito anti-inflamatório, acompanhado por reduzidos efeitos colaterais (FIORUCCI et al., 2001).

3.5. Tiazolidina

A estrutura química base de compostos derivados da tiazolidina apresenta um anel de cinco membros contendo dois heteroátomos, um átomo de enxofre na posição 1 e um átomo de nitrogênio na posição 3, uma carbonila na posição 4 e, em geral, podem apresentar diversos substituintes nas posições 2, 3 e 5, como mostra a Figura 5 IUPAC (PANICO, POWELL e RICHER, 1993 apud LIESEN, 2008).

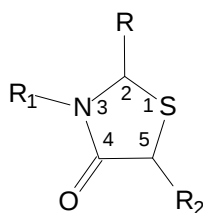


Figura 5: 4-Tiazolidinona

Brown (1961) e Singh et al., (1981) descreveram em seus trabalhos modos de obtenção da 4-tiazolidinonas por meio de reações de ciclização envolvendo ácido α -aceto-halogenado ou ácido α -mercaptoacético com tiouréia.

Outro método para a obtenção de 4-tiazolidinonas é reagindo aminas primárias com aldeídos e ácido α -mercaptoacético em uma reação de condensação do tipo “*one pot*”, onde todos os reagentes são misturados em um único balão para facilitar a purificação e o isolamento dos compostos, o que levará a formação de 4-tiazolidinonas 2,3-dissubstituídas conforme ilustrado na Figura 6 (BARRECA et al., 2001; RAO et al., 2004).

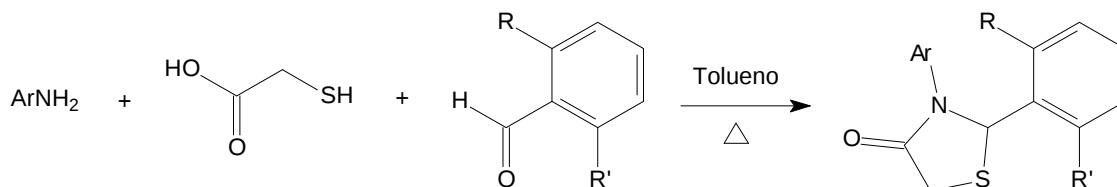


Figura 6: Síntese de 4-tiazolidinona 2,3-dissubstituída (Adaptado de BARRECA et al., 2001)

3.6. Reatividade das 4-Tiazolidinas

O núcleo tiazolidínico possui características que favorecem determinadas reações, tais como: substituição nucleofílica de segunda ordem na posição 3 do anel, reações de tionação na posição 4 e reações de condensação, adição e com sais de diazônio na posição 5 (LIMA, 1998; BROWN, 1961), além de

tionação e oxidação (ANDRADE et al., 2002; Johnson et al., 1983 *apud* LIESEN et al., 2008).

A figura 7 mostra esquematicamente cada átomo do anel tiazolidínico correlacionado com os tipos de reações que os mesmos podem ser submetidos.

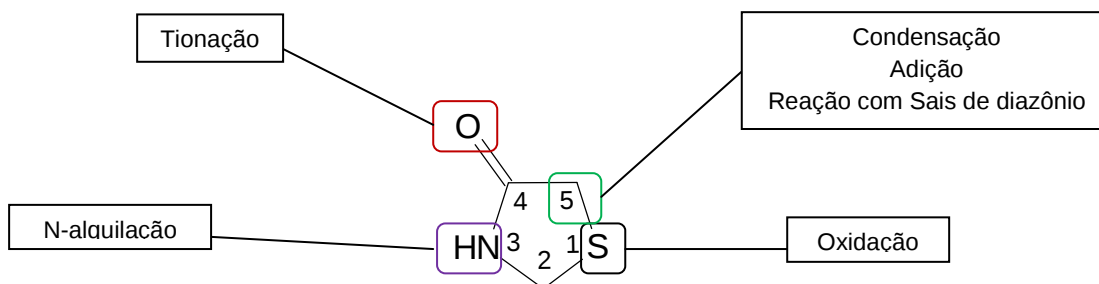


Figura 7: Reatividade das tiazolidinonas

3.6.1. Reações de *N*-alquilação das tiazolidinadionas

As reações de *N*-alquilação envolvendo tiazolidinadionas estão bem descritas na literatura (GOES et al., 2004; ARAÚJO et al., 2011). Acontecem facilmente na presença de base, pois o nitrogênio presente no núcleo tiazolidínico, quando não substituído, comporta-se como ácido fraco favorecendo a formação de um sal da tiazolidina e posterior ataque deste ânion que se forma, como pode ser visualizado na Figura 8.

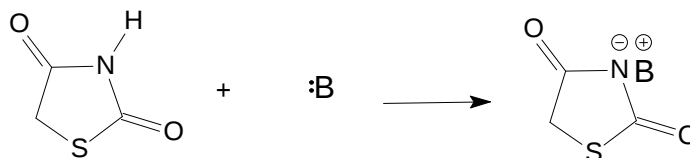


Figura 8: Formação do sal da tiazolidina

O que difere nas metodologias descritas na literatura é a base e o solvente utilizados na formação do sal da tiazolidina, dentre elas foram encontradas reações com carbonato de potássio dimetilformamida (XIAO-

FANG et al., 2003); hidróxido de potássio e etanol (SONAWANE e BARI, 2011); hidróxido de sódio e etanol (BARROS et al., 2010); metóxido de sódio e metanol (MADHAVAN et al., 2006) e hidreto de sódio e tetrahydrofurano (GOES et al., 2004) e o ânion formado ataca facilmente haletos de alquila (BARROS et al., 2010; ARAÚJO et al., 2011). A Figura 9 mostra a formação da tiazolidina-2,4-diona *N*-alquilada...

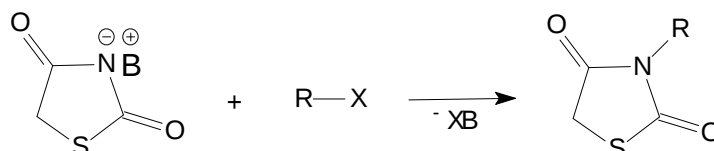


Figura 9: Formação da *N*-alquil-tiazolidina-2,4-diona

3.6.2. Reações de Oxidação das tiazolidinadionas

Liesen e colaboradores (2008) destacam reações de oxidação na posição 1 do anel tiazolidínico que utilizam permanganato de potássio (KMnO₄) em ácido acético aquoso sob baixa temperatura, para a formação de 1,1-dioxo-4-tiazolidinonas e outra metodologia que utiliza o ácido *m*-cloro-perbenzóico (MCPBA), em clorofórmio, como agente oxidante (JOHNSON et al., 1983; FUSCHIGAMI et al., 1992 *apud* LIESEN et al., 2008).

A Figura 10 mostra a reação de oxidação da tiazolidia-2,4-diona com KMnO₄.

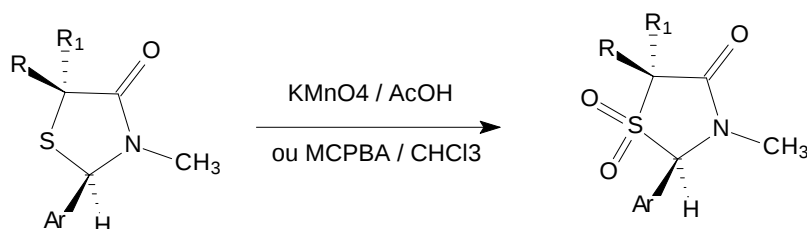


Figura 10: Reação de oxidação com KMnO₄ (LIESEN et al., 2008)

Visando compreender a geração de metabólitos, devido o processo de S-oxidação em condições fisiológicas, Taxak e colaboradores (2011) realizaram estudo teórico sobre a S-oxidação da tiazolidina-2,4-diona com diversos agentes oxidantes como peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ácido peróxido nitroso (HOONO) em modelos de catalisadores orgânicos e foram capazes de constatar a energia necessária para que esta reação ocorra (Figura 11).

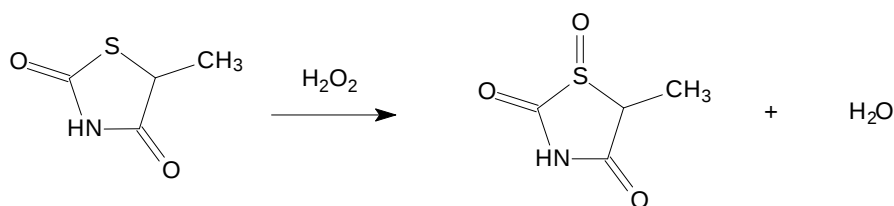


Figura 11: Reação de oxidação com H_2O_2 (TAXAK et al., 2011)

3.6.3. Reações de condensação das tiazolidina-2,4-dionas

As reações de condensação das tiazolidina-2,4-dionas são bastante utilizadas e estão bem descritas na literatura, sendo o catalisador e os solventes utilizados diferem em diferentes metodologias. Por exemplo, pode ser utilizado ácido acético e acetato de sódio (XIAO-FANG et al., 2003), hidróxido de amônio e cloreto de amônio em etanol (GOES et al., 2004) ou piperidina em etanol, respectivamente (SONOWANE and BARI, 2011).

Mali e colaboradores (2010) realizaram a síntese de derivados tiazolidínicos condensados na posição 5 em meio contendo polietilenoglicol 400 (PEG 400) e constataram um aumento da eletrofilicidade do carbono do aldeído e conseqüentemente uma diminuição no tempo da reação (Figura 12).

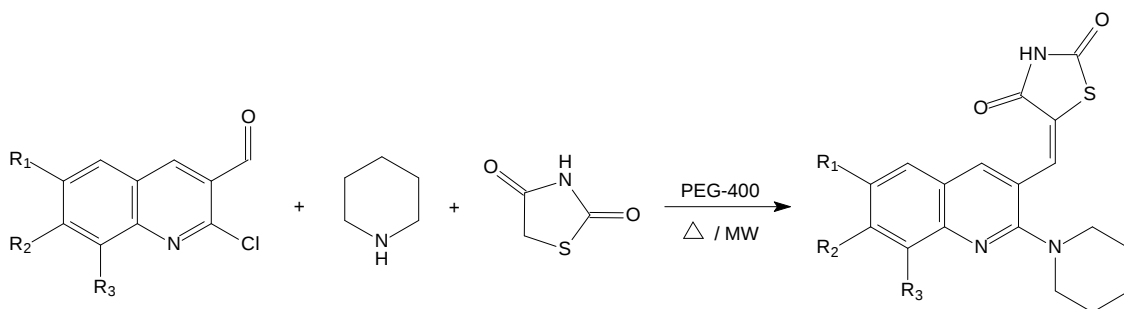


Figura 12: Reação de condensação em meio com PEG 400 (MALI et al., 2010)

As reações de condensação do tipo Knoevenagel com tiazolidina-2,4-dionas ocorrem normalmente em presença de uma base, pois os hidrogênios do grupo metilênico na posição 5 do anel tiazolidínico tornam-se ácidos devido aos efeitos gerados pelo heteroátomo de enxofre e da carbonila vizinhos ao metileno, que por sua vez, comporta-se como nucleófilo sob a forma de um ânion permitindo reações de condensação com aldeídos aromáticos ou seus derivados (PRATAP et al., 2011; LIMA, 1998). A Figura 13 mostra a formação da condensação da tiazolidina-2,4-diona com aldeído.

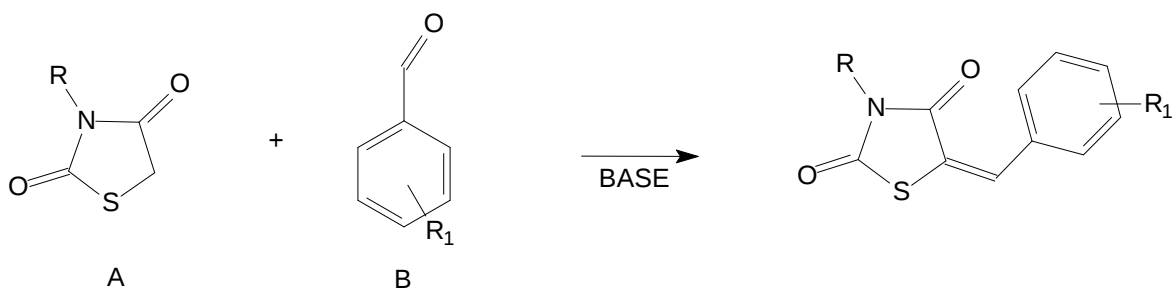


Figura 13: Reação de condensação das tiazolidina-2,4-dionas

Por outro lado, como alternativa ao uso de catalisadores orgânicos, diversos estudos vêm utilizando a biocatálise em reações de condensação com tiazolidinas (PRATAP et al., 2011; SONOWANE et al., 2010). Sonowane e colaboradores (2010) realizaram estudo com a utilização de lipase como catalisador em condensação de Knoevenagel e obteve excelentes resultados. Similarmente, Pratap e colaboradores (2011) desenvolveram uma metodologia

que apresentou bons rendimentos, onde se aplica levedura de pão para catalisar a condensação entre tiazolidina-2,4-diona e aldeídos aromáticos.

3.6.4. Reações de adição das tiazolidina-2,4-dionas

As tiazolidina-2,4-dionas são capazes de reagir com compostos carbonílicos, aromáticos ou não, através de uma adição nucleofílica que dará origem a derivados tiazolidínicos substituídos na posição 5 (MOURÃO et al., 2005).

Trata-se de uma adição de Michael, reação entre compostos com metileno ativo que reagem com compostos carbonílicos α, β -insaturados. Esta reação inicia-se da formação de um carbânion com posterior introdução de um composto α, β -insaturado para o passo condensação, onde a reação se equilibra com uma polimerização após acidificação do meio, como mostra a Figura 14 (McLEOD, 1983).

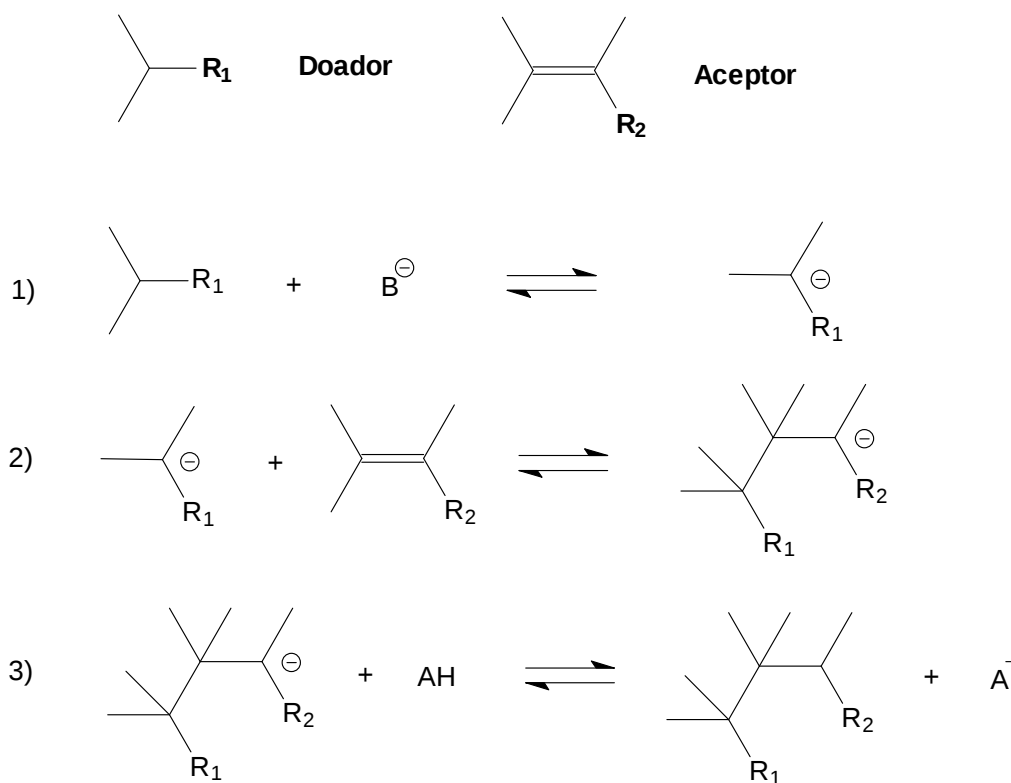


Figura 14: Adição de Michael (McLEOD, 1983)

Contudo, se um bom grupo de saída (X) está presente no carbono β , então a sequência de reação resulta em uma rápida eliminação do grupo de partida (Figura 15).

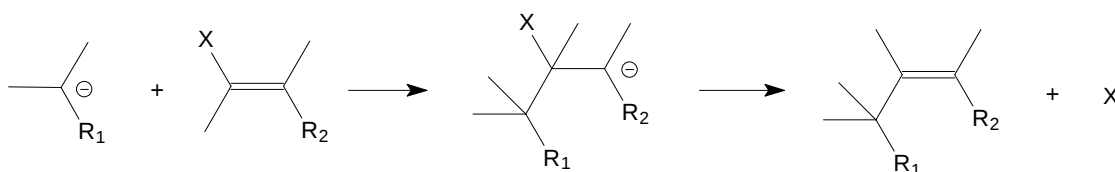
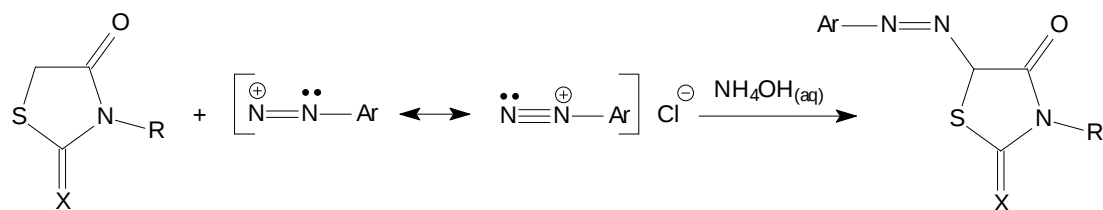


Figura 15: Adição de Michael com presença de grupo de partida no C- β (McLEOD, 1983).

Desta maneira, partindo-se da reação entre a tiazolidina-2,4-diona e etil-(2-ciano-3-fenil)-acrilatos, diversos autores têm obtido a síntese de compostos 5-arilideno-tioazolidínicos, (BARROS et al., 2010; ARAÚJO et al., 2011; FAINE et al., 2011).

3.6.5. Reações das tiazolidina-2,4-dionas com sais de diazônio

Patil e colaboradores (2010) Liesen e colaboradores (2008) afirmam que as reações de acoplamento entre tiazolidinas e sais de diazônio são realizadas através da formação de enolato (Figura 16).



R = Aril, Alquil ou Heterociclo

X = O, S ou NR

Figura 16: Reação de acoplamento de tiazolidinas com sais de diazônio (LIESEN et al., 2008)

3.6.6. Reações de tionação

A tionação de tiazolidina-2,4-dionas pode ser realizada utilizando o reagente de Lawesson (Figura 17), como descrito por Alegaon e Alagawadi (2011) para a síntese de 4-tioxotiazolidin-2-ona a partir de tiazolidina-2,4-diona, em dioxano anidro (Figura 18).

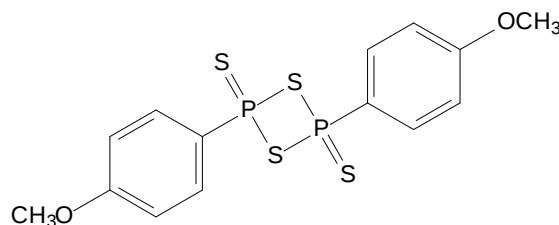
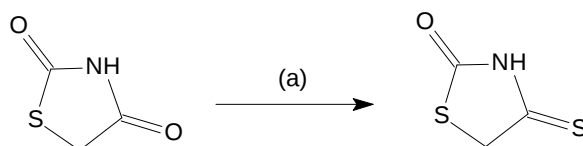


Figura 17: Reagente de Lawesson (SCHEIBYE et al., 1981)



(a) Lawesson's Reagent, dioxane, microwave irradiation

Figura 18: Reação de tionação (ALEGAON e ALAGAWADI, 2011)

3.7. Atividades Biológicas das Tiazolidinas

As sínteses e as atividades biológicas das 4-tiazolidinonas têm sido extensivamente revistas, em especial as tiazolidinadionas. Estas moléculas e seus derivados apresentam propriedades químicas e atividades biológicas bastante significativas, tais como: antibacteriana (BABAUGLU, et al., 2003), hipoglicemiante (LEITE et al., 2007), anti-inflamatória e analgésica (VIGORITA, 2001), antifúngica (VERÇOZA et al., 2009), antiprotzoária (LIESEN et al., 2010), anti-retroviral (RAO et al., 2004), antitumoral (ONEN-BAYRAM et al., 2012; GOUDA e ABU-HASHEM, 2010), dentre outras, o que as torna uma classe de compostos de grande interesse científico.

A seguir será abordado um breve levantamento bibliográfico sobre as atividades biológicas das tiazolidinadionas com um enfoque na atividade anti-inflamatória. Sabendo-se das diversas atividades biológicas das tiazolidinas e seu potencial anti-inflamatório e analgésico, propomos nessa pesquisa a síntese de novos derivados da tiazolidina-2,4-diona e a avaliação biológica destes compostos para esta finalidade.

3.7.1. Ação esteroidogênica

A fim de avaliar a resposta esteroidogênica de células de Leydig produzida pelo uso crônico do derivado tiazolidínico GQ-06, composto com potencial atividade hipoglicemiante (MOURÃO et al., 2005), Couto et al. (2012) realizou estudo e verificou que o tratamento com GQ-06 aumenta a função de múltiplas enzimas, incluindo esteroidogênicas resultando num aumento na produção de testosterona tanto pela via hCG / dbcAMP, como induzida por 22-hidroxicolesterol e pregnenolona.

3.7.2. Atividade Antibacteriana e Antifúngica

4-tiazolidinas 2,3 dissustituídas estudadas por Kavitha et al., (2006) apresentaram atividades significantes frente a cepas de *Pseudomonas fluorescens* e de fungos como *Trichoderma*. Vale ressaltar que, quando comparadas com fármacos padrões como estreptomicina e nistatina, foram

obtidos menores valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) nesse estudo.

Resultados similares também foram encontrados por Verçoza et al (2009) que sintetizaram derivados da 4-tiazolidinona e avaliaram sua atividade frente à bactérias Gram-positivas e fungos dos gêneros *C. albicans* e *Malassezia furfur*. Revelando compostos com atividade antimicrobiana melhor que a rifampicina frente ao *Mycobacterium smegmatis* e *Mycobacterium tuberculosis* e ligeiramente mais ativo que a nistatina, frente ao *M. furfur*. Porém, apresentou mesmos valores de CIM quando testados contra *C. albicans*.

A Figura 19 ilustra a estrutura geral dos derivados testados por Verçoza e colaboradores (2009).

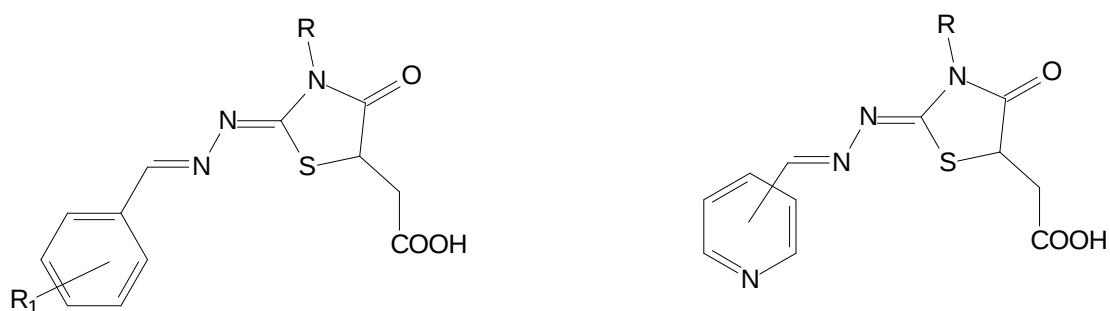


Figura 19: Análogos da 4-tiazolidina sintetizados por Verçoza e colaboradores (2009)

3.7.3. Atividade Antiprotozoária

Derivados das 4-tiazolidinonas e seus precursores (tiossemicarbazonas) possuem potente atividade anti-*Toxoplasma gondii*, pois atuam inibindo a ribonucleotídeo redutase, enzima que catalisa a formação de desoxirribonucleótidos que são utilizados na síntese do DNA do parasito. Verificou-se que as 4-tiazolidinonas são mais efetivas que as tiossemicarbazonas na interrupção do crescimento deste parasito intracelular (TENÓRIO et al., 2005; AQUINO et al., 2007).

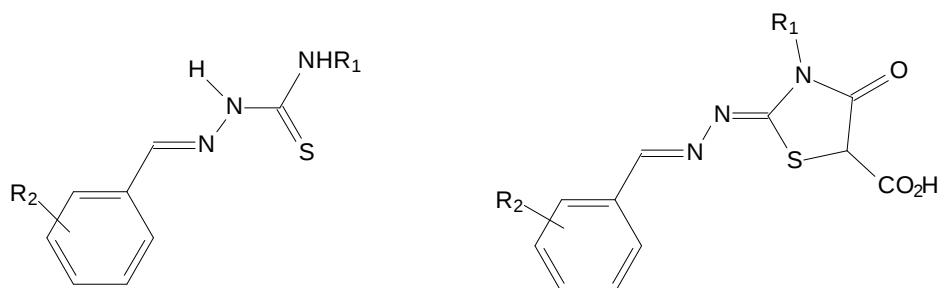


Figura 20: Derivados sintetizados por Tenório e colaboradores (2005)

Estudo realizado por Liesen et al., (2010) revelou que derivados da tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinonas apresentaram-se mais efetivos que a hidroxiuréia e sulfadiazina, fármacos de referência para o tratamento anti-*T. gondii*. Inclusive um derivado 4-tiazolidínico foi o composto mais seletivo contra o *T. gondii*, apresentando baixos índices de citotoxicidade, reforçando o trabalho realizado por Aquino et al., (2007).

3.7.4. Atividade hipoglicemiante

A busca por novos compostos capazes de melhorar a resistência à insulina permite um tratamento contínuo e melhora da qualidade de vida dos pacientes com diabetes *melitus* (BARNETT et al., 1977). Nesse contexto, compostos derivados da tiazolidinadiona representados por ciglitazona, troglitazona, englitazona, pioglitazona, e a rosiglitazona se mostraram como potenciais compostos hipoglicemiantes (OGUCHI et al., 2000). A Figura 21 ilustra a estrutura química desses compostos.

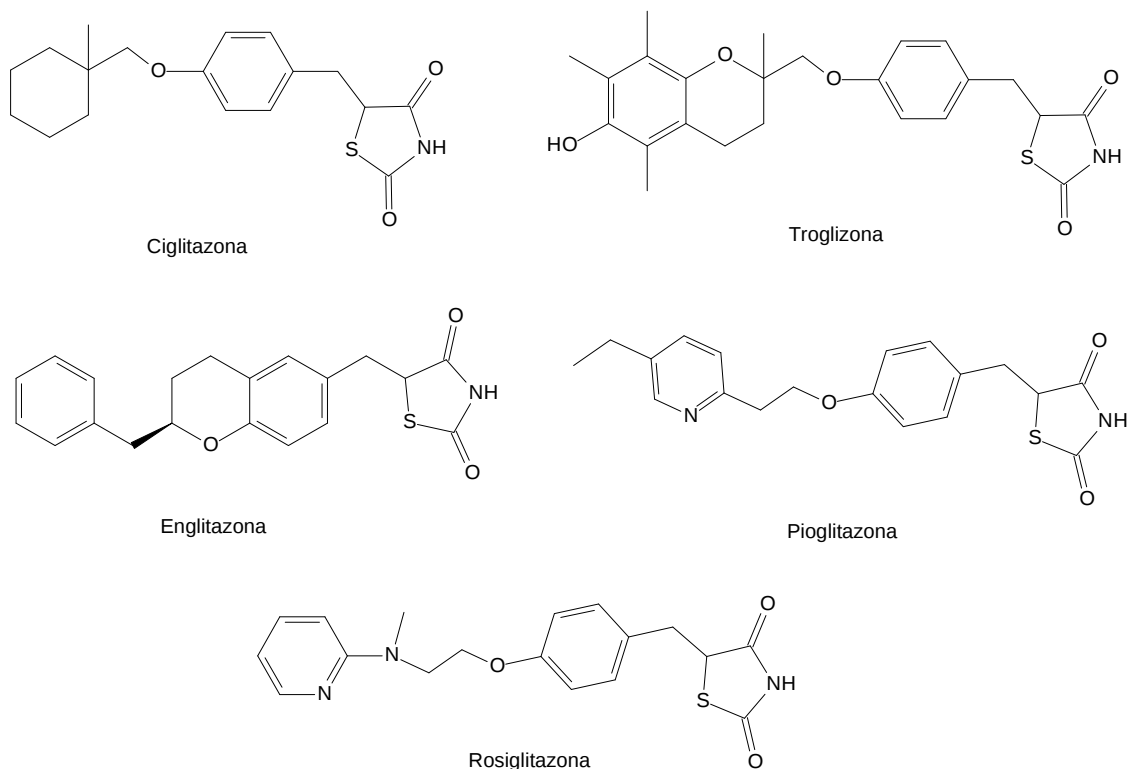


Figura 21: Derivados da tiazolidinadiona com potencial atividade antidiabética (Adaptado de OGUCHI et al., 2000)

A rosiglitazona é um potente agente hipoglicemiante (CANTELLO et al., 1994). Contudo, devido a um aumento do risco de eventos cardiovasculares com o uso da rosiglitazona, a “*Food and Drug Administration*” (FDA) recentemente restringiu seu uso e ressaltou a necessidade de novas medicações que sejam capazes de sensibilizar a insulina e que não apresentem efeitos adversos cardiovasculares (AMATO et al., 2012).

Recentemente o Departamento de Antibióticos publicou resultados satisfatórios apresentados por derivados da tiazolidina-2,4-diona. Um dos derivados mostrou-se 34% mais potente que a rosiglitazona em estudo de índice de resistência à insulina e de níveis séricos de glicose e insulina em jejum (ARAÚJO et al., 2012).

3.7.5. Atividade Anti-retroviral

Após a descoberta do vírus da imunodeficiência humana (HIV) e do seu papel como o agente causador na transmissão e no desenvolvimento da

síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) foram extensos os esforços na elucidação do processo de replicação deste vírus bem como numa maneira de inibi-lo, chegando a um alvo hoje bastante conhecido, a transcriptase reversa (TUNER and SUMMERS, 1999; JONCKBEERE, ANNÉ and De CLECQ, 2000).

A literatura revela que alguns derivados da 4-tiazolidinona demonstraram uma maior seletividade e menor citotoxicidade quando comparados com derivados benzimidazóis, potentes supressores da transcriptase reversa do vírus da imunodeficiência humana tipo I (RT-HIV-1), refletindo sua potencial atividade anti-retroviral (BARRECA et al., 2002; RAO et al., 2004; RAWAL et al., 2007).

3.7.6. Atividade Anti-inflamatória e Analgésica

Atribuem-se a atividade anti-inflamatória e analgésica das tiazolidinas devido ao seu potencial de inibição das ciclooxigenases e ativação dos receptores ativados por proliferador de peroxissomo (PPAR) (LEHMANN et al., 1995; VIGORITTA et al., 2003; SANTOS et al., 2005).

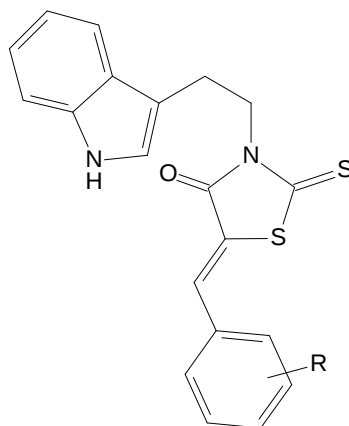
Seu potencial anti-inflamatório está ligado à capacidade de inibição tanto da ativação dos macrófagos e monócitos quanto da expressão de mediadores inflamatórios como IL-1 β , interleucina 6 (IL-6), TNF α , entre outros (JIANG, TING e SEED, 1998; RICOTE et al., 1998).

Efeitos benéficos foram relatados através de modelos animais in vivo capazes de simular doenças inflamatórias, potencial atividade farmacológica e a consequência do seu tratamento com AINEs tais como artrite reumatoide (KOUFANY et al., 2008), analgesia (VIGORITA et al., 2001) e ulceração gástrica (BEKHIT e FAHMY, 2003), sugerindo um potencial anti-inflamatório geral para tiazolidinas.

Koufany et al., (2008) realizaram estudo *in vivo* em modelo animal com artrite reumatoide e constatou que nem rosiglitazona nem pioglitazona foram capazes de retardar o aparecimento, reduzir a incidência de artrite e perda da mobilidade.

Derivados tiazolidínicos sintetizados por Góes et al., (2004) foram avaliados quanto a sua atividade antiedermatogênica e demonstraram bons

resultados. Um dos compostos, ilustrado na Figura 22, inibiu 63,2% da inflamação aguda enquanto que a indometacina inibiu apenas 22,5%.



R = 2,6-di-*terc*-butil-4-OH

Figura 22: Derivado tiazolidínico sintetizado por Góes et al., 2004

Bekhit e Fahmy (2003) sintetizaram compostos contendo núcleo oxazolidina e tiazolidina e avaliaram seu potencial como agentes anti-inflamatórios. Os resultados obtidos revelaram uma atividade anti-inflamatória comparável com a da indometacina, que apresentou ulceração em 100% dos animais enquanto que todos os compostos testados mostraram perfis de segurança superiores, com ulceração em apenas 80% dos animais nas mesmas condições experimentais.

Em ensaios específicos para inibição da COX e estudo de modelagem molecular, derivados tiazolidínicos demonstram possuir não somente boa atividade frente a inibição das COXs, mas também seletividade para COX-2 (VIGORITTA et al., 2003; UNSAL-TAN et al., 2012).

Resultados promissores são descritos na literatura quanto às propriedades analgésicas dos derivados tiazolidínicos quando comparados com fármacos já existentes no mercado como indometacina e fenilbutazona (VIGORITA et al., 2001; GOEL et al., 1999; GARG et al., 2011).

Derivados 5-arilideno-tiazolidina-2,4-diona sintetizados por Garg et al. (2011) apresentaram significantes resultados anti-inflamatório e analgésico comparados a indometacina.

Estudos em camundongos demonstraram excelentes resultados para atividade analgésica. Quando comparadas com a fenilbutazona, 4-tiazolidinonas 2,3-substituídas demonstraram uma excelente redução do edema em ratos induzido por carragenina, demonstrando seu importante papel na analgesia (GOEL et al., 1999).

Vigorita et al. (2001) sintetizaram derivados 2-aryl-4-tiazolidinonas e realizaram teste de edema da pata induzida por carragenina e teste de incidência de lesões gastrointestinais em ratos e tiveram resultados excelentes tanto na redução do edema quanto no percentual ulcerogênico causados pela utilização destes compostos. Inclusive, todos os compostos testados produziram lesão gástrica menor do que os fármacos de referência, e dois compostos, 4b e 8b (Figura 23), não demonstraram qualquer efeito ulcerogênico.

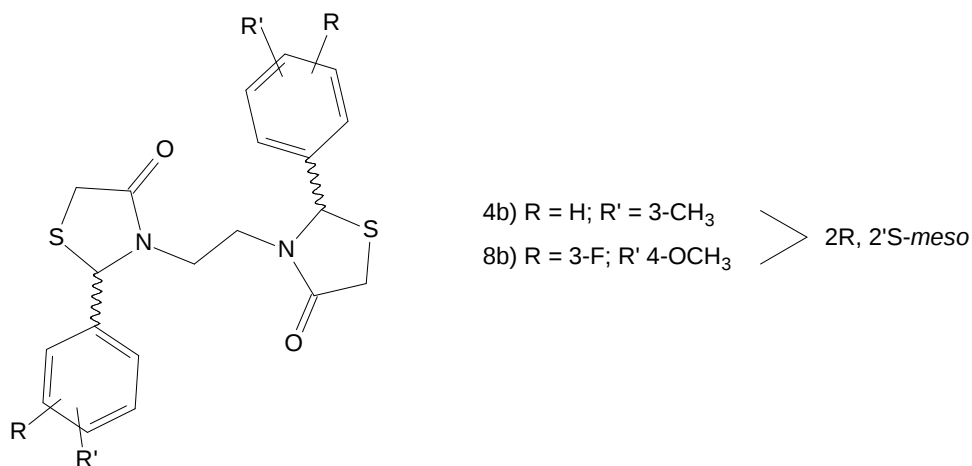


Figura 23: Compostos sintetizados por Vigorita et al., 2001.

Barros et al. (2010) realizaram estudo de docking molecular com derivados arilideno-tiazolidina-2,4-dionas e encontraram um composto com atividade antiinflamatória superior a rosiglitazona, mesmo sendo constado que este derivado possui cerca de 200 vezes menos afinidade pelo PPAR γ que a rosiglitazona, sugerindo que a possível atividade anti-inflamatória dos ligandos PPAR γ não está diretamente correlacionada com a afinidade do composto a este receptor.

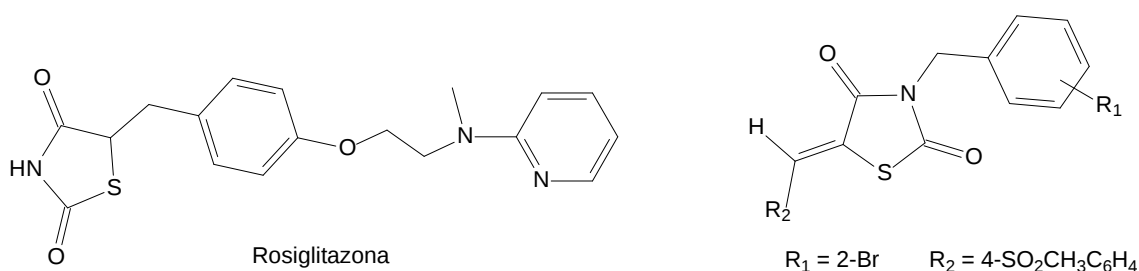


Figura 24: Rosiglitazona e o derivado arilideno-tiazolidina-2,4-diona sintetizado por Barros et al (2010)

Estudo comparativo entre outro derivado arilideno-tiazolidina-2,4-diona (SF23) e a rosiglitazona sobre a expressão de genes pró-inflamatórios através da avaliação de enzimas iNOS (óxido nítrico sintase indutível) e COX-2, revelou que a expressão da proteína de iNOS e COX-2 foram significativamente menores quando os macrófagos foram tratados com ambos SF23 e rosiglitazona do que qualquer um dos fármacos por si só, remetendo a indicação de um efeito sinérgico (FAINE et al., 2011).

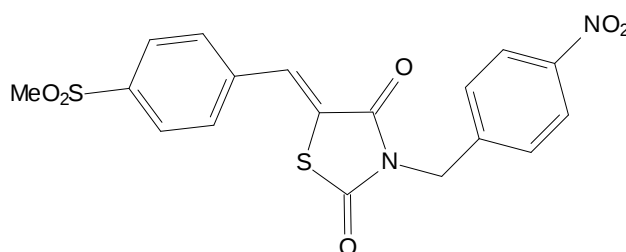


Figura 25: SF23 (FAINE et al., 2011)

Diante da necessidade de novos compostos que sejam capazes de inibir o processo inflamatório bem como apresentar reduzidos efeitos colaterais. As tiazolidinas podem oferecer uma nova alternativa terapêutica devido a sua potencial atividade anti-inflamatória e analgésica, haja em vista que são capazes de atuar tanto na inibição da COX, sem apresentar os efeitos ulcerogênicos causados pelos AINEs tradicionais, como na indução de

mediadores pró-inflamatórios via ativação dos PPARs (LEHMANN et al., 1995; VIGORIA et al., 2001 SANTOS et al., 2005; DESMET et al., 2005).

PARTE QUÍMICA

PARTE QUÍMICA

4. PARTE QUÍMICA

4.1. Material

4.1.1. Equipamentos

A caracterização estrutural dos compostos foi realizada através da espectrofotometria de absorção no infravermelho (IV), em espectrofotômetro FTIR Bruker Modelo IFS 66, pastilhas de KBr. Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H) e carbono 13 (RMN¹³C) foram efetuados em espectrofotômetro Varian Modelo Plus 400 MHz. Os espectros de massas foram registrados sobre impacto eletrônico a 70 eV em espectrômetro R1010C Delsi-Nermag, acoplado a CPG HP5890.

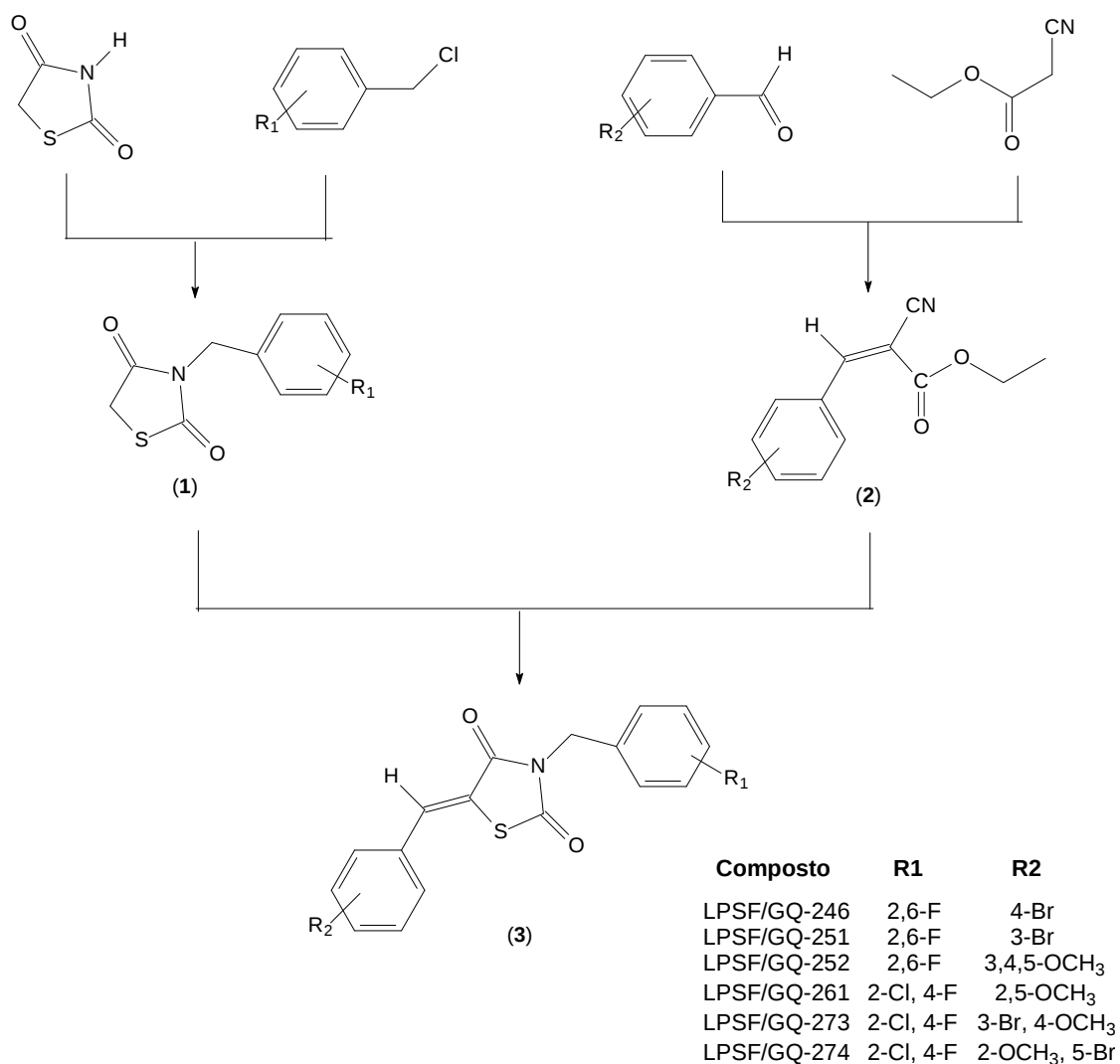
Na cromatografia em camada delgada foram utilizadas placas de sílica gel 60 Merck F254, de 0,25 mm de espessura, reveladas em luz ultravioleta (254 ou 366 nm). A determinação dos pontos de fusão foi realizada em aparelho Quimis Modelo 340.27.

4.1.2. Reagentes e Solventes

Os seguintes reagentes e solventes foram utilizados para obtenção dos compostos: aldeídos aromáticos substituídos (3-bromo-benzaldeído, 4-bromo-benzaldeído, 3-bromo-4-metóxi-benzaldeído, 2-metóxi-5-bromo-benzaldeído, 2,4-dimetóxi-benzaldeído, 3,4,5- trimetóxi-benzaldeído), haletos de benzila substituídos (cloreto de 2,6-difluoro-benzil, brometo de 2-cloro-4-cloro-benzil), trietilamina, morfolina, benzeno, cianoacetato de etila, etanol absoluto, hidróxido de sódio, acetato de etila, *n*-hexano, Os reagentes e solventes utilizados nas diferentes etapas da síntese pertencem às marcas Sigma, Aldrich, Acros, Merck, Vetec ou Quimis.

4.2. Rota sintética

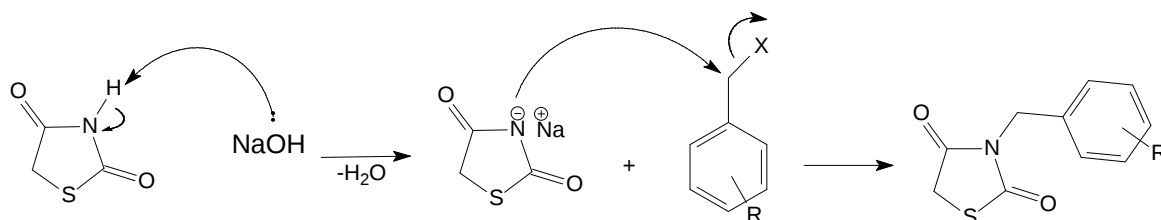
A síntese dos derivados tiazolidínicos foi de acordo com a via plena e convergente (Esquema 1), sendo realizada paralelamente, a síntese dos derivados 3-benzil-tiazolidínicos (1), através da reação de *N*-alquilação e a síntese dos ésteres de Cope (2), através da condensação de Knoevenagel. Posteriormente, realizou-se a adição de Michael entre os intermediários, obtendo-se os derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona (3).



Esquema 1: Diagrama síntese dos derivados tiazolidínicos

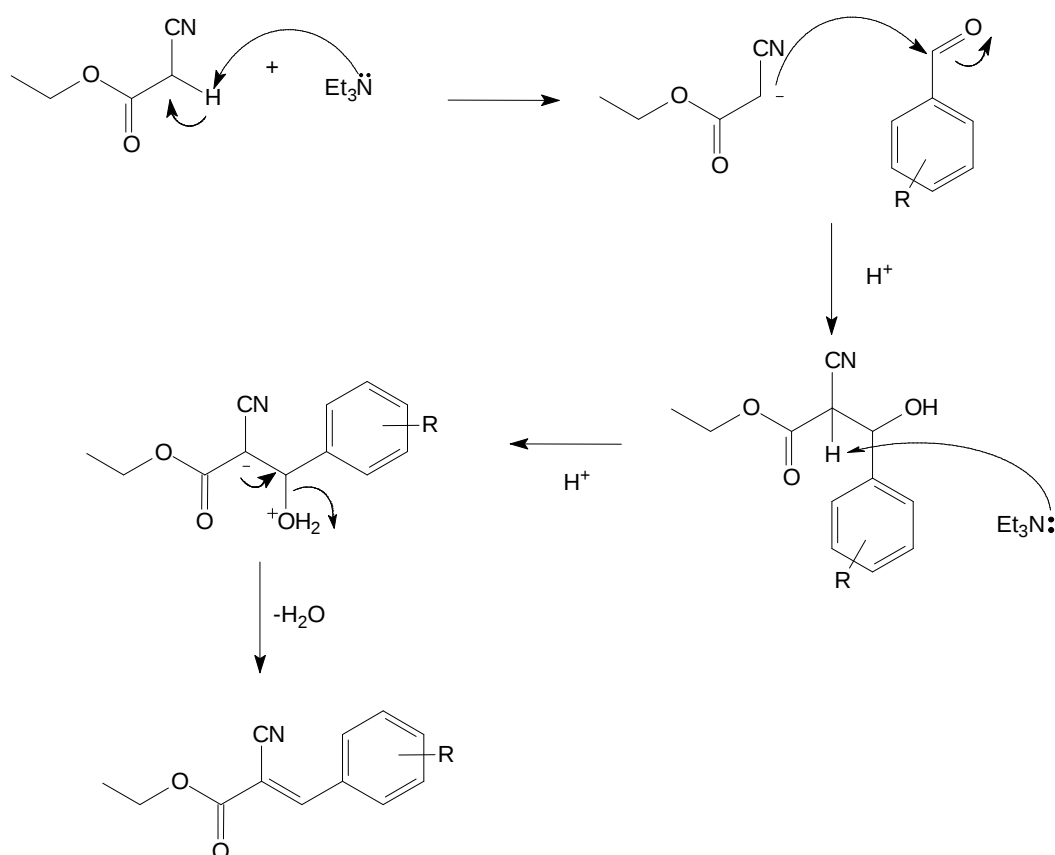
4.2.1. Mecanismos Reacionais

A rota sintética inicia-se com a reação de *N*-alquilação entre a tiazolidina-2,4-diona e o haleto de benzila substituído. Na primeira etapa da reação ocorre a formação de um sal após a abstração do próton ácido do nitrogênio da tiazolidina-2,4-diona pela ação de uma base. A segunda etapa compreende a reação de substituição nucleofílica de segunda ordem (S_N2) e ocorre devido ao ataque nucleofílico do nitrogênio ao carbono parcialmente positivo do haleto de benzila, originando os intermediários GQ-175 e GQ-176 (Esquema 2).



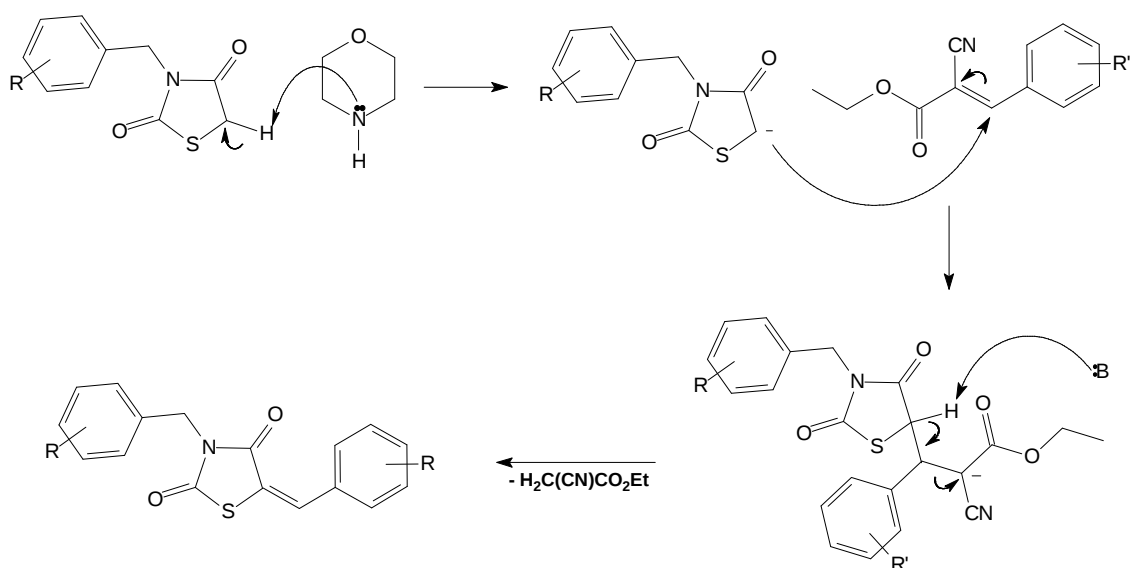
Esquema 2: Mecanismo de reação da formação dos intermediários *N*-alquilados.

A obtenção dos ésteres cianocinâmicos compreende uma condensação de Knoevenagel. O mecanismo reacional, ilustrado no Esquema 3, se inicia com a formação do carbânion, através da desprotonação do carbono alfa do cianoacetato de etila pela base (triethylamina), estabilizado através do equilíbrio com o grupamento cianonitrila. Posteriormente, ocorre o ataque nucleofílico ao carbono da carbonila do aldeído substituído, que apresenta uma carga parcialmente positiva devido aos efeitos retiradores de elétrons exercidos pelo oxigênio. Em seguida, ocorre uma desprotonação do carbono que está ligado o grupo ciano com posterior formação de uma dupla ligação e eliminação de água no meio, originando os ésteres de Cope (IPs).



Esquema 3: Mecanismo de reação da formação dos ésteres cianocinâmicos.

Para a formação dos novos derivados tiazolidínicos-3,5-dissubstituídos foi realizada uma reação de adição ilustrada no Esquema 4, com o intermediário GQ e o intermediário IP em presença de morfolina.



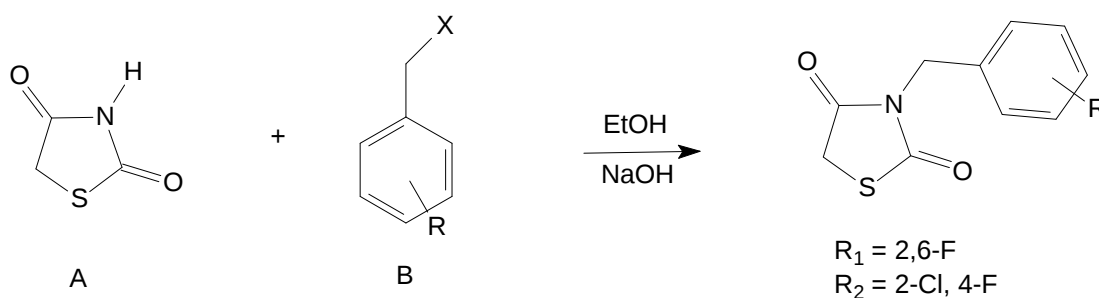
Esquema 4: Mecanismo de reação dos novos derivados tiazolidínicos

Trata-se de uma adição de Michel, iniciada com a abstração do próton ácido do C5 do núcleo tiazolidínico pela morfolina, levando a formação de um carbânion que atua como nucleófilo frente ao intermediário IP, conduzindo à formação dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona.

4.3. Metodologias de Síntese

4.3.1 Síntese dos derivados 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona

Em um balão volumétrico de 250 mL de fundo redondo adicionou-se 0,04269 mol de tiazolidina-2,4-diona (A), solubilizando-a em 50 mL de etanol. Logo em seguida adicionou-se 0,03075 mol de NaOH dissolvido em etanol. Após 1 hora adicionou-se 0,04269 mol do haleto de benzila (B). Após 24h a reação foi filtrada e lavada com etanol, para purificação, conduzindo assim a formação dos intermediários GQ-175 e GQ-176, com rendimentos de 53 e 60%, respectivamente.

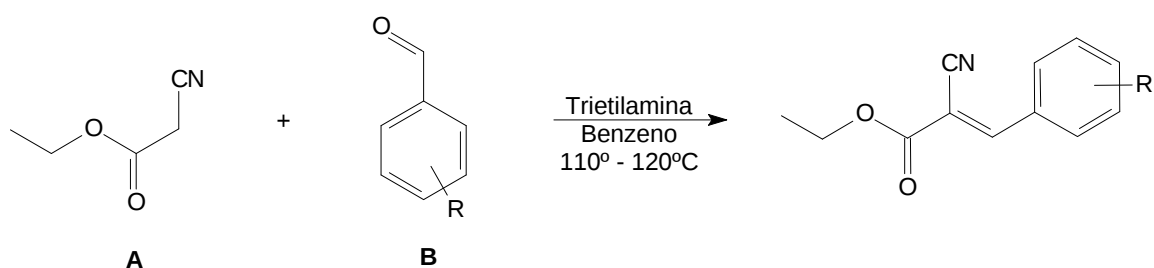


Esquema 5: Síntese dos intermediários GQ-175 (R_1) e GQ-176 (R_2)

4.3.2. Síntese dos ésteres cianocinâmicos

Em um balão volumétrico de 250 mL de fundo redondo adicionou-se 0,03008 mol de benzaldeído substituído e solubilizando-o em 30 mL de benzeno. Em seguida adicionou-se 0,03008 mol cianoacetato de etila e 2 mL de trietilamina como catalisador. A reação foi acoplada a um Dean-stark e mantida sob refluxo à aproximadamente 110°-120°C, por um período de 24

horas. Após finalizada a reação, o balão contendo a mistura reacional foi acoplado a um evaporador rotativo para retirar o excesso de solvente e o produto final foi obtido após recristalização em EtOH. Os rendimentos variaram entre 38 e 99%.

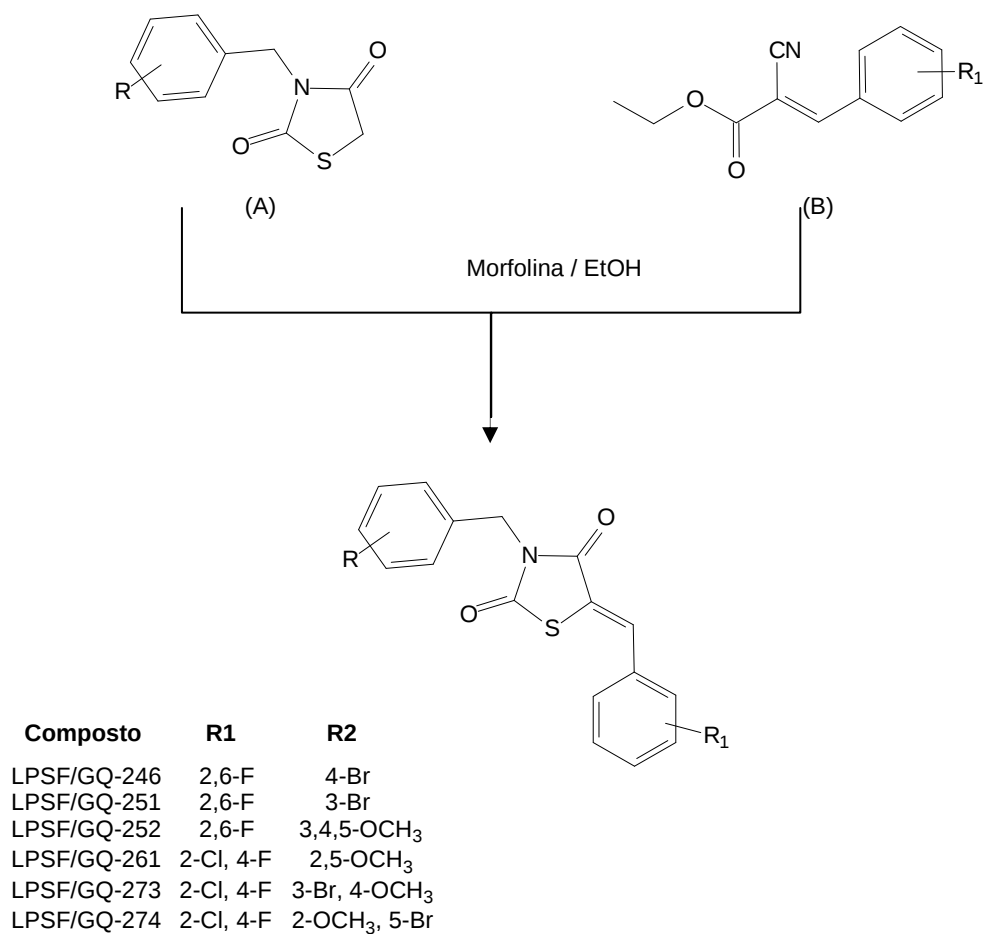


R = 3-Br; 4-Br; 3-Br, 4-OCH₃; 2-OCH₃, 5-Br; 2,4-OCH₃; 3,4,5-OCH₃

Esquema 6: Síntese dos intermediários IP's

4.3.3. Síntese dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona finais

Em um balão volumétrico de 250 mL de fundo redondo adicionou-se 0,01233 mol do intermediário 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (A), solubilizando-o em 30 mL de etanol, e uma quantidade equimolar do intermediário LPSF/IP (B). Posteriormente adicionou-se 2 mL de morfolina como catalisador. A reação foi mantida sob refluxo à uma temperatura de 60°C. A reação durou cerca de 24 horas. O produto final foi filtrado e tratado com EtOH e os rendimentos variaram entre 44 e 80%.

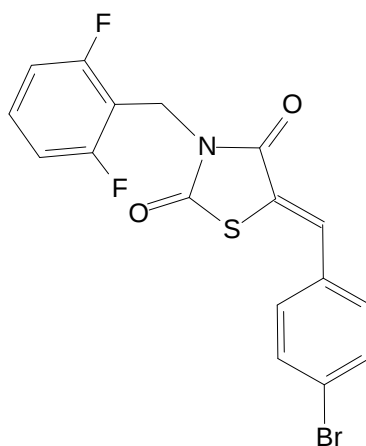


Esquema 7: Síntese dos novos derivados tiazolidínicos finais

O procedimento para a síntese desses derivados se inicia com a adição do intermediário GQ a um balão contendo etanol e adição da morfolina. Em seguida, adiciona-se o intermediário IP para a formação dos novos derivados tiazolidínicos finais. As reações duraram aproximadamente 24 horas e os rendimentos variaram entre 38 e 53%.

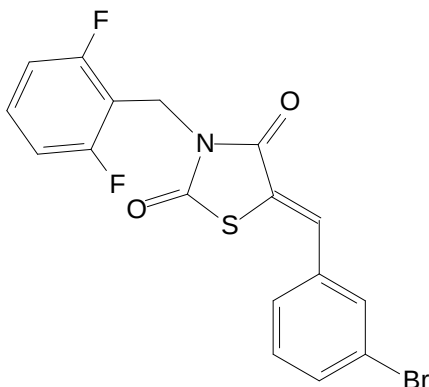
4.4. Resultados

3-(2,6-difluoro-benzil)-5-(4-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (GQ-246)



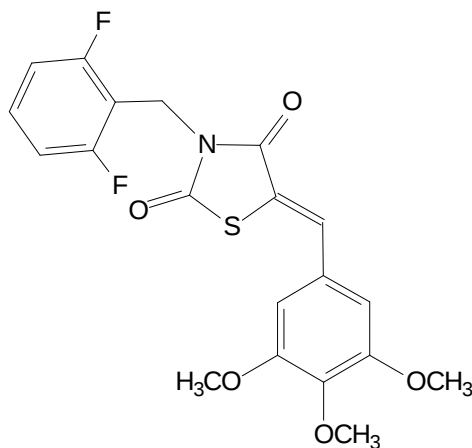
- $C_{17}H_{10}BrF_2NO_2S$; MM = 408.958 g/mol; sólido amarelo claro; rendimento: 55%; P.F.: 174°C; R.f.: 0,48 *n*-Hex/AcOEt (9:1) .
- IV (ν cm^{-1} KBr): 1749 C=O, 1694 C=O, 1607 (C=C), 1070 (C-N).
- RMN 1H (400 MHz, ppm, DMSO): δ 4.91 ppm (s, 2H, CH₂), 7.55 ppm (d, 2H, J= 8.39 Hz, CH benzilideno), 7.73 ppm (d, 2H, J= 8.39 Hz, CH benzilideno), 7.10 ppm (t, 2H, J= 7.99 Hz, CH benzil), 7.42 ppm (m, 1H, CH benzil), 7.91 ppm (s, 1H, =CH.).
- RMN ^{13}C (400 MHz, ppm, DMSO): δ 166.2, 164.6, 162.1, 159.6, 132.3, 132.1, 132.0, 131.8, 130.7, 130.5, 124.2, 121.6, 111.7, 111.5, 110.7, 110.5, 33.6.

3-(2,6-difluoro-benzil)-5-(3-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (GQ-251)



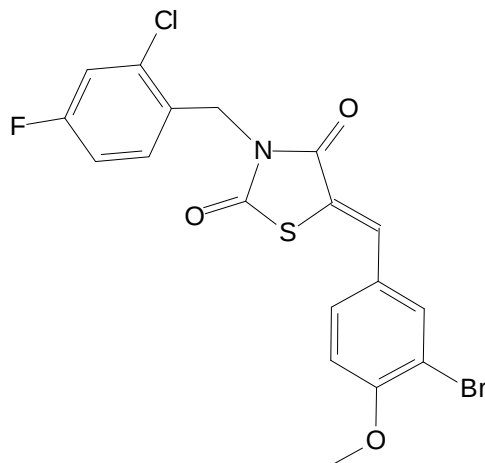
- $C_{17}H_{10}BrF_2NO_2S$; MM = 408.958 g/mol; sólido branco; rendimento: 53%; P.F.: 158°C; R.f.: 0,5 *n*-Hex/AcOEt (9:1) .
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1740 C=O, 1685 C=O, 1607 (C=C), 1125 (C-N).
- RMN ¹H (400 MHz, PPM, DMSO): δ 4.91 ppm (s, 2H, -NCH₂-), δ 7.13-7.07 ppm (m, 2H, =CH- benzil), δ 7.46-7.39 ppm (m, 1H, =CH- benzil), δ 7.49 ppm (t, 1H, J=7,6Hz, =CH- benzilideno), δ 7.58 ppm (d, 1H, J=7,6Hz, =CH- benzilideno), δ 7.68 ppm (d, 1H, J=6,8Hz, =CH- benzilideno), δ 7.83 ppm (t, 1H, j+1,6Hz, =CH- benzilideno), δ 7.91 ppm (s, 1H, =CH-).
- RMN ¹³C (400 MHz, ppm, DMSO): δ 166.11 (C4), 164.54 (C4), 162.16 (C4), 159.69 (C4), 135.24 (C4), 133.12 (CH), 132.93 (CH), 131.69 (CH), 131.33 (CH), 130.65 (CH), 128.09 (CH), 122.55 (CH), 122.43 (CH), 111.72 (CH), 111.53 (CH), 110.67 (C4), 33.72 (CH₂).

**3-(2,6-difluoro-benzil)-5-(3,4,5-trimetóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona
(GQ-252)**



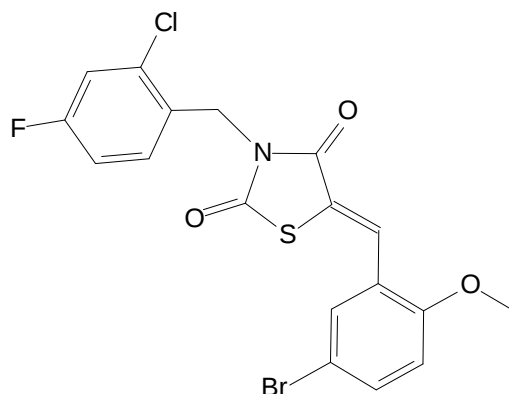
- $C_{20}H_{17}F_2NO_5S$; MM = 421.079 g/mol; sólido branco cristalino; rendimento: 44%; P.F.: 136 - 137°C; R.f.: 0,65 *n*-Hex/AcOEt (9:1) .
- IV (ν cm^{-1} KBr): 1747 C=O, 1682 C=O, 1605 (=CH-), 1124 (C-N).
- RMN 1H (400 MHz, PPM, DMSO): δ 3.73 ppm (s, 3H, OCH₃), 3.82 ppm (s, 6H, OCH₃), 4.91 ppm (s, 2H, CH₂), 6.92 ppm (s, 2H, CH benzilideno), 7.09 ppm (t, 2H, J= 8.4Hz, CH benzil), 7.42 ppm (q, 1H, J=7.6Hz, CH benzil), 7.87 ppm (s, 1H, =CH-).
- RMN ^{13}C (400 MHz, ppm, DMSO): δ 166.46 (C4), 164.70 (C4), 162.07 (C4), 159.59 (C4), 153.19 (C4), 139.63 (C4), 133.65 (CH), 130.59 (CH), 128.32 (C4), 119.74 (C4), 111.67 (CH), 110.98 (C4), 107.64 (C4), 60.17 (CH₃), 55.99 (CH₃), 55.99 (CH₃), 33.62 (CH₂).

3-(2-cloro-4-fluoro-benzil)-5-(3-bromor-4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (GQ-273)



- $C_{18}H_{12}BrClFNO_3S$; MM = 454.939 g/mol; sólido branco; rendimento: 80%; P.F.: 201°C; R.f.: 0,5 *n*-Hex/AcOEt (9:1) .
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1682 (C=O), 1624 (C=O), 1588 (C=C), 1151 (C-N).
- RMN ¹H (400 MHz, ppm, CDCl₃): δ 3.96 ppm (s, 3H, -OCH₃), 5.00 ppm (s, 2H, CH₂), 6.98 ppm (d, 1H, J= 8.8Hz, CH benzil), 7.45 ppm (dd, 1H, J₁= 8.8Hz, J₂= 2.4Hz, CH benzil), 7.71 ppm (d, 1H, J= 2Hz, CH benzil), 6.95 ppm (dt, 1H, J₁= 8.4Hz, J₂= 2.4Hz, CH benzilideno), 7.20 ppm (ddd, 1H, J₁= 8.0Hz, J₂= 2.4Hz, CH benzilideno), 7.26 ppm (s, 1H, CH benzilideno), 7.79 ppm (s, 1H, =CH-).
- RMN ¹³C (400 MHz, ppm, DMSO): δ 167.10 (C4), 165.82 (C4), 163.41 (C4), 161.00 (C4), 157.82 (C4), 135.32 (CH), 134.24 (C4), 132.64 (CH), 130.88 (CH), 130.49 (C4), 127.19 (CH), 119.83 (C4), 117.35 (C4), 117.10 (CH), 114.19 (CH), 112.23 (CH), 56.50 (CH₃), 42.42 (CH₃).

3-(2-cloro-4-fluoro-benzil)-5-(2-metóxi-5-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (GQ-274)



- $C_{18}H_{12}BrClFNO_3S$; MM = 454.939 g/mol; sólido branco; rendimento: 80%; P.F.: 135°C; R.f.: 0,41 *n*-Hex/AcOEt (9:1) .
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1739 C=O, 1683 C=O, 1603 (=CH-), 1152 (C-N).
- RMN ¹H (400 MHz, ppm, DMSO): δ 3.87 ppm (s, 3H, OCH₃), 4.85 ppm (s, 2H, CH₂), 7.12 ppm (d, 1H, J= 6.6Hz, CH benzil), 7.51 ppm (d, 1H, J= 1.8Hz, CH benzil), 7.63 ppm (dd, 1H, J₁= 6.3Hz, J₂= 1.8Hz, CH benzil), 7.18 ppm (t, 1H, J₁= 6.6Hz, J₂= 2.1Hz, CH benzilideno), 7.35 ppm (dd, 1H, J₁= 6.3Hz, J₂= 4.2Hz, CH benzilideno), 7.46 ppm (dd, 1H, J₁= 6.9Hz, J₂= 2.1Hz, CH benzilideno).
- RMN ¹³C (400 MHz, ppm, DMSO): δ 166.99 (C4), 165.20 (C4), 162.53 (C4), 160.06 (C4), 157.00 (C4), 134.80 (CH), 132.72 (C4), 131.14 (CH), 130.66 (CH), 128.68 (C4), 127.17 (CH), 123.52 (C4), 122.97 (C4), 116.89 (CH), 114.44 (CH), 112.16 (C4), 56.09 (CH₃), 42.12 (CH₂).

PARTE BIOLÓGICA

PARTE BIOLÓGICA

5. PARTE BIOLÓGICA

Os testes foram realizados no Laboratório de Bioensaios para Pesquisa de Fármacos – LBPF, Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos de acordo com as normas Internacionais do Conselho de Laboratório de Animais Experimentais (ICLAS).

5.1. Animais

Foram utilizados camundongos machos adultos albinos swiss (*Mus musculus*), pesando entre 30 e 35g provenientes do Centro de Pesquisas Ageu Magalhães e mantidos no Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram acondicionados em gaiolas de polietileno com grades de aço inoxidável e maravalha como cobertura, tendo acesso livre à água e ração balanceada, mantidos num ambiente com temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e luminosidade controlada, proporcionando um ciclo claro-escuro de 12 horas. Todos os animais foram submetidos a jejum, com a retirada da ração cerca de 4 horas antes do início do experimento.

5.2. Métodos

5.2.1. Peritonite Induzida por Carragenina

Para a realização do teste os animais foram divididos em grupos de 6 animais. Para o grupo padrão foi administrada dexametasona, anti-inflamatório de referencia, por via oral na dose de 0,5 mg/kg. O grupo controle recebeu veiculo (Solução salina a 0,9% + solubilizante) e para cada grupo teste foi administrado um derivado tiazolidínico na dose de 10 mg/Kg por via oral.

Uma hora após a administração, a inflamação foi induzida pela administração intraperitoneal de 0,1 mL/10 g de carragenina (1% em salina, p/v). Quatro horas após a indução da inflamação os animais foram eutanasiados em câmara de CO₂, sendo injetado na cavidade peritoneal 2 mL

de uma solução de PBS contendo EDTA (3 μ M). A contagem de leucócitos totais foi realizada em analisador hematológico Horiba ABX micros 60. Os exsudatos foram centrifugados e uma alíquota do sobrenadante armazenado a – 20°C para análise de citocinas e dos níveis de NO (PRASAD e GUPTA, 2005).

5.2.2. Contorções Abdominais Induzidas por Ácido Acético

Para a realização do teste os animais foram divididos em grupos de 6 animais. Para o grupo padrão foi administrado ibuprofeno, por via oral na dose de 10 mg/kg. O grupo controle recebeu veículo e para cada grupo teste foi administrado um derivado tiazolidínico na dose de 10 mg/Kg por via oral.

Uma hora após a administração, o ácido acético 1% foi injetado (0,1mL/10g do peso do animal) na cavidade peritoneal dos animais para induzir contrações da musculatura abdominal e/ou alongamento dos membros posteriores. Dez minutos após a aplicação do ácido, os camundongos foram colocados em gaiolas de polietileno transparentes, onde foram observados e registrou-se o número de contorções abdominais durante 20 minutos. A porcentagem de inibição das contorções abdominais foi calculada comparando a média de contorções do grupo tratado com o a média de grupo controle (KOSTER, 1959).

5.2.3. Determinação dos Níveis de Óxido Nítrico

Para avaliação da produção de óxido nítrico (NO) foram analisadas as concentrações de nitrato (metabolito estável do NO) presentes no sobrenadante do exsudato obtido da peritonite induzida por carragenina. Uma alíquota de 50 μ L de cada amostra foi transferida para uma microplaca e incubada com 50 μ L de reagente de Griess (sulfanilamida 1%, 0,1% naftiletileno diamino dicloridrato, 5% H_3PO_4) por 10 min em temperatura ambiente protegido da luz. A absorbância foi medida em 540 nm em leitor de espectrofotômetro e a concentração de nitrato foi calculada baseada em uma curva padrão de nitrato de sódio (GIUSTARINI et al., 2008).

5.3. Análise dos resultados

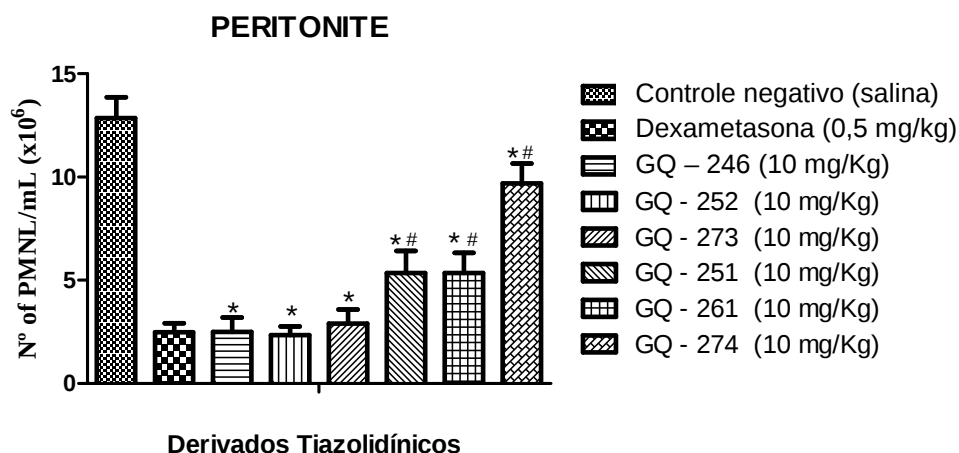
Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software GraphPad versão 5.0 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA, USA). Utilizou-se Análise de Variância ANOVA One-way seguido do teste de Newman-Keuls Multiple Comparison Test, com nível de significância de 0,05%.

5.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.4.1. Peritonite Induzida por Carragenina

É comum a utilização de carragenina em modelos de testes anti-inflamatórios envolvendo animais, dentre eles se destacam o teste de edema de pata (GÓES et al., 2004), bolsa de ar (BARROS et al., 2010) e peritonite (GUERRA et al., 2011).

Todos os derivados tiazolidínicos sintetizados e testados, com exceção do LPSF/GQ-274, se mostraram eficazes na inibição da migração celular *in vivo* em teste de peritonite induzida por carragenina e os compostos LPSF/GQ-252, LPSF/GQ-246 e LPSF/GQ-273 foram os compostos mais ativos neste teste, apresentando uma atividade anti-inflamatória de 81,8%, 80,6% e 77,4%, respectivamente. Estes resultados estão expressos no Gráfico 1 e na Tabela 1.



* Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$)

Diferença estatisticamente significativa em relação ao padrão ($p < 0,05$)

$p < 0,05$. Significativos após análise de variância (ANOVA) de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls Multiple Comparison Test, com intervalo de confiança de 95%, quando comparados ao grupo controle.

Gráfico 1: Percentual de inibição de migração de células polimorfonucleares

Tabela 1: Número de PMNL (média $\pm$ desvio padrão) e percentual de inibição da inflamação pelos derivados Tiazolidínicos

Tratamento	Dose (mg/Kg)	PMNL ($\times 10^6$ cél/ml)	Inibição %
Controle	-	12,86 $\pm$ 1,0	-
Dexametasona	0,5	2,48 $\pm$ 0,4	80,7
GQ – 246	10	2,4 $\pm$ 0,7*	80,6
GQ – 252	10	2,34 $\pm$ 0,4*	81,8
GQ – 273	10	2,9 $\pm$ 0,7*	77,4
GQ – 251	10	5,36 $\pm$ 1,1*	58,3
GQ – 261	10	5,36 $\pm$ 1,0*	58,3
GQ – 274	10	9,7 $\pm$ 0,9*	24,6

* Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$)
 $p < 0,05$. Significativos após análise de variância (ANOVA) de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls Multiple Comparison Test, com intervalo de confiança de 95%, quando comparados ao grupo controle.

Fazendo uma análise separadamente dos substituintes da posição 3 (anel benzílico) e da posição 5 (anel benzilidênico) do anel tiazolidínico foi possível observar que, quanto aos substituintes presentes no anel benzílico, os compostos que apresentaram o grupo 3-(2,6-difluoro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona foram mais eficazes que os compostos que apresentaram o grupo 3-(2-cloro-4-fluoro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona, revelando que a substituição de um átomo pequeno (flúor) por um átomo de maior volume (cloro) pode ter sido responsável por esse resultado.

Contudo, a variação da posição do átomo de flúor (posição 6 pela 2) no anel benzílico parece não exercer forte influencia no resultado, haja em vista

que o derivado LPSF/GQ-273 foi responsável por 77,4% de inibição da migração de PMN (Figura 26).

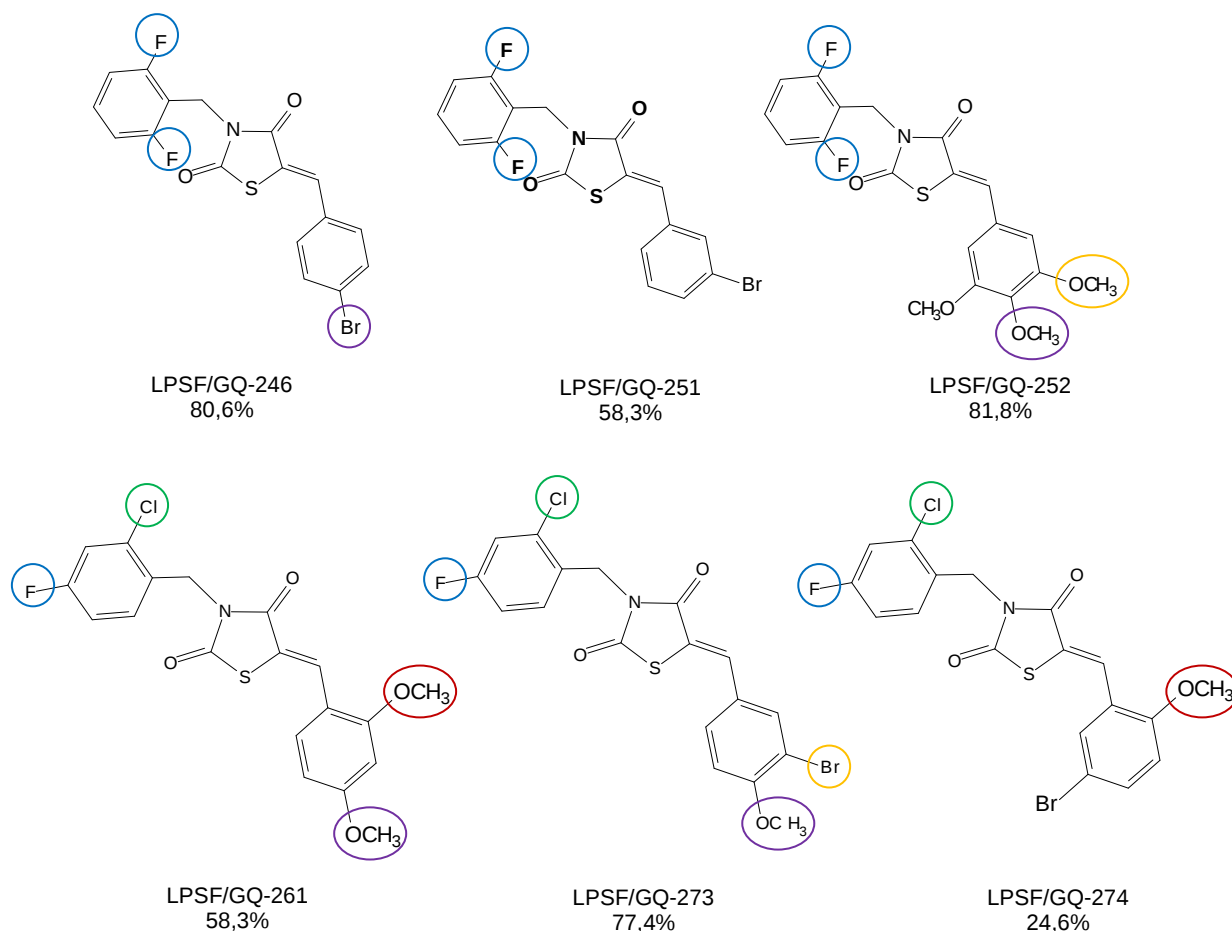


Figura 26: Derivados LPSF/GQ-246, LPSF/GQ-251, LPSF/GQ-252, LPSF/GQ-261, LPSF/GQ-273 e LPSF/GQ-274 e percentual de inibição da migração de PMN.

A análise sobre a influência que os substituintes do anel benzilidênico exercem sobre a atividade anti-inflamatória revelou que todos os derivados que apresentaram melhor resposta possuem substituintes na posição 4. Também foi observado que a substituição de um átomo de bromo por uma metoxila na posição 3 do anel benzilidênico foi responsável por um leve aumento da resposta anti-inflamatória, demonstrando o importante papel deste substituinte na atividade anti-inflamatória.

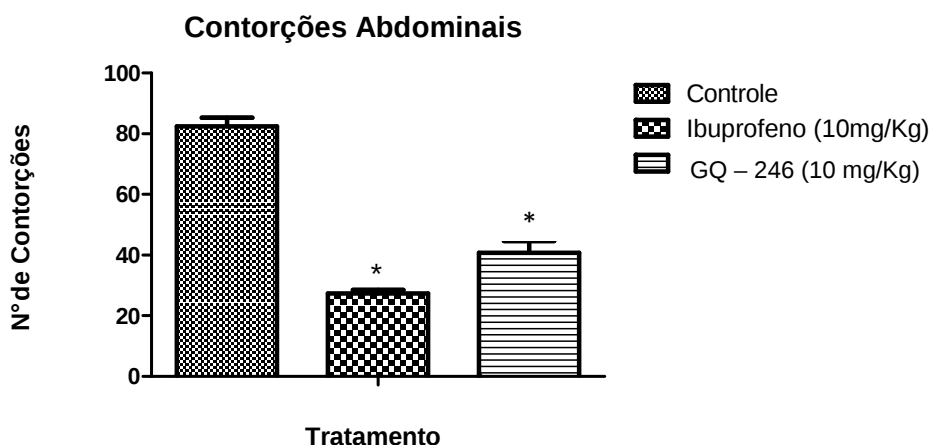
É possível ainda, observar que o fato dos derivados GQ-251 e GQ-274 não apresentarem substituintes na posição 4 do anel benzilidênico ressalta que

a presença de um substituinte nesta posição seja responsável por elevar seu potencial como agente anti-inflamatório. Porém, embora o derivado GQ-261 apresente um grupo metoxila nesta mesma posição, gera a hipótese de que a presença de um substituinte na posição 2 do anel benzilidênico possa desfavorecer a atividade anti-inflamatória (Figura 26).

5.4.2. Contorções Abdominais Induzidas por Ácido Acético

Diversos estudos utilizam o modelo de contorções abdominais em ratos para a determinação da atividade antinociceptiva de derivados tiazolidínicos e imidazolidínicos (TARANALLI et al., 2009; GUERRA et al., 2011).

O composto GQ-246 foi selecionado para a realização desse teste por apresentar resultado promissor no teste de peritonite. Este composto foi comparado frente a ação do ibuprofeno, AINE clássico utilizado no tratamento de distúrbios inflamatórios. Os resultados estão expressos no Gráfico 2 e Tabela 2.



* Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$) $p < 0,05$. Significativos após análise de variância (ANOVA) de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls Multiple Comparison Test, com intervalo de confiança de 95%, quando comparados ao grupo controle.

Gráfico 2: Número contorções abdominais

Tabela 2: Número de contorções abdominais (média $\pm$ desvio padrão) e percentual de inibição do derivado tiazolidínico LPSF: GQ – 246, no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético.

Tratamento	Dose (mg/Kg)	Nº de Contorções	Inibição %
Controle	-	82,4 $\pm$ 2,9	-
Ibuprofeno	10	27,4 $\pm$ 1,1*	66,7
GQ – 246	10	40,8 $\pm$ 3,8*	50,5

* Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$) $p < 0,05$. Significativos após análise de variância (ANOVA) de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls Multiple Comparison Test, com intervalo de confiança de 95%, quando comparados ao grupo controle.

O derivado testado foi capaz de inibir 50,5% das contorções abdominais induzidas por ácido acético, resultado considerado bom, haja em vista que o ibuprofeno apresentou uma atividade de 66,7%.

5.4.3. Determinação dos Níveis de Óxido Nítrico

Por se tratar de um mediador inflamatório, a redução dos níveis de óxido nítrico é estudada para verificar o potencial anti-inflamatório de moléculas. Os derivados tiazolidínicos sintetizados mostraram-se eficientes na inibição da concentração dos níveis de óxido nítrico. Os resultados estão expressos no Gráfico 3.

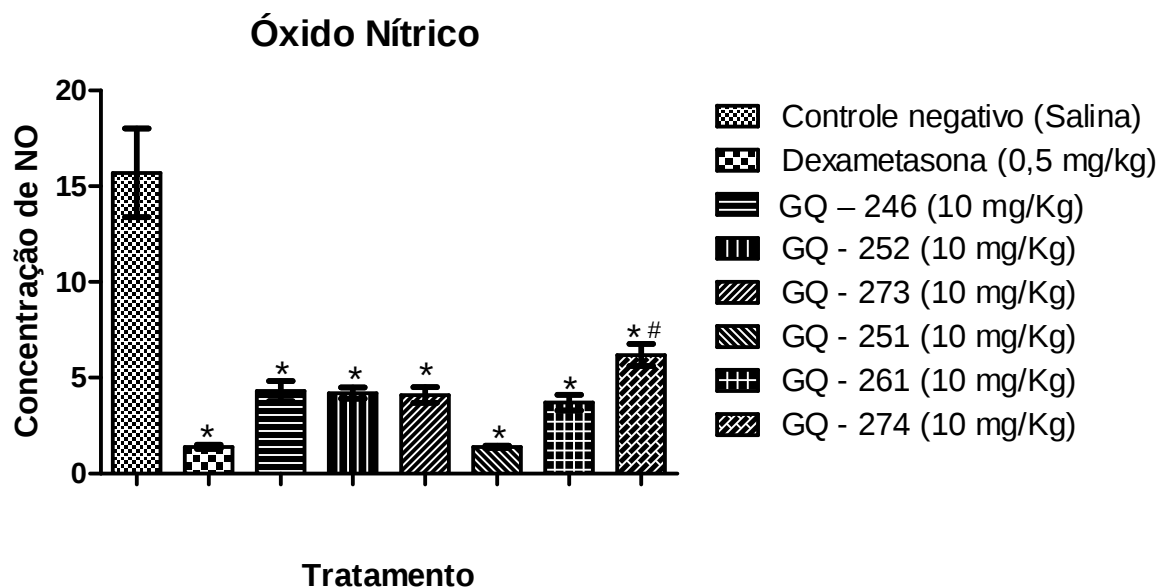


Gráfico 3: Concentração dos níveis de óxido nítrico

* Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$)

Diferença estatisticamente significativa em relação ao padrão ($p < 0,05$)

$p < 0,05$. Significativos após análise de variância (ANOVA) de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls Multiple Comparison Test, com intervalo de confiança de 95%, quando comparados ao grupo controle.

Todos os compostos reduziram significativamente as concentrações de NO, com destaque para o derivado GQ-251, que foi comparável a indometacina. Para este teste a presença de um único substituinte na posição 3 do anel benzilidênico pode estar relacionado a essa resposta elevada (Figura 27).

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

- Neste presente trabalho foram sintetizados seis novos compostos pertencentes a classe das tiazolidinadionas. Esses derivados apresentam substituição nas posições 3 e 5 do anel tiazolidínico e foram avaliados quanto ao seu potencial anti-inflamatório.
- Todos foram caracterizados através de suas propriedades físico-químicas, bem como por métodos espectrométricos convencionais (RMN-¹H, RMN-¹³C e IV). Os espectros de RMN e IV apresentaram-se consistentes com as respectivas estruturas.
- Os compostos foram sintetizados através de eficientes metodologias de síntese e purificação, apresentando rendimentos entre 44-80%, sem a necessidade de purificação por cromatografia em coluna, sendo apenas necessárias etapas de lavagens e recristalização, indicando a efetividade da rota sintética.
- Os derivados tiazolidínicos GQ-246, GQ-251, GQ-252, GQ-261 e GQ-273 se mostraram eficazes em inibir a migração celular *in vivo* em teste de peritonite induzida por carragenina e os compostos GQ-246, GQ-252 e GQ-273 foram os mais ativos da série e mostraram-se significativamente eficientes.
- Os derivados tiazolidínicos reduziram significativamente os níveis de NO, sendo o composto e GQ-251 o mais eficiente da série.
- O derivado GQ-246 apresentou-se eficaz no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético.

PERSPECTIVAS

- Estes resultados promissores comprovam mais uma vez a potencial atividade anti-inflamatória das tiazolidinadionas e um estudo posterior de relação estrutura-atividade (SAR) poderá revelar o papel de grupamentos eletroatratores e eletroretiradores nos substituintes 3 e 5 do anel tiazolidínico na resposta anti-inflamatória.
- Planejar novas séries de moléculas no intuito de se identificar grupos capazes de potencializar a atividade anti-inflamatória e analgésica das tiazolidina-2,4-dionas. Pois, foi observado que os melhores resultados vieram dos derivados que continham substituintes na posição 4 do anel benzilidênico e que a ausência de um substituinte nesta posição, bem como a presença de um substituinte na posição 2 deste anel foi responsável pela diminuição da atividade anti-inflamatória.
- Diante dos resultados significantes demonstrados por alguns dos derivados tiazolidínicos sintetizados neste trabalho, surge a necessidade da realização de testes capazes de avaliar os possíveis efeitos gastrointestinais bem como a toxicidade destas moléculas.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ALEGAON, S.G.; ALAGAWADI, K.R., Microwave-Assisted Synthesis, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Some 4-Thioxo-Thiazolidine-2-One Derivatives. Letters in Drug Design e Discovery. V. 8: 612-8, 2011.

AMATO, A.A. et al. GQ-16, a Novel Peroxisome Proliferator-activated Receptor (PPAR) Ligand, Promotes Insulin Sensitization without Weight Gain. Journal of Biological Chemistry. V. 287, N. 33: 28169–79, 2012.

ANDRADE, A.M. et al., Synthesis and structural study of substituted thioxothiazolidinones and thioxoimidazolidinones. Boll. Chim. Farmac. V. 141, n. 6, 428-33, 2002.

ANDRES, C.J. et al., 4-Thiazolidinones: Novel Inhibitors of the Bacterial Enzyme MurB. Bioorganic e Medicinal Chemistry Letters. V. 10: 715-7, 2000.

AQUINO, T.M. et al., Synthesis, anti-Toxoplasma gondii and antimicrobial activities of benzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazones and 2-[(phenylmethylene)hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acids. Bioorg Med Chem. V.16, N. 1:446-56, 2007.

ARAÚJO, T.G. et al., Metabolic effects of benzylidene thiazolidinedione derivatives in high-fat fed mice. Med Chem Res. V. 21, 2408–14, 2012.

ASAKO, H.; KUBES, P.; WALLACE, J.; GAGINELLA, T.; WOLF, R.E., GRANGER, D.N. Indomethacin-induced leukocyte adhesion in mesenteric venules: role of lipoxygenase products. Am J Physiol. V. 262, G903–8, 1992.

BABAOGLU, K. et al., Novel Inhibitors of an Emerging Target in Mycobacterium tuberculosis; Substituted Thiazolidinones as Inhibitors of dTDP-rhamnose Synthesis. Bioorganic e Medicinal Chemistry Letters. V. 13: 3227–30, 2003.

BALBINO, C.A.; PEREIRA, L.M.; CURI, R., Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 41, n. 1, 2005.

BARNETT, D. et al., Effect of Clofibrate on Glucose Tolerance in Maturity Onset Diabetes. *Br. J. Clin. Pharmacol.* V. 4, 455-8, 1977.

BARRECA, M.L. et al., Discovery of 2,3-Diaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as Potent Anti-HIV-1 Agents. *Bioorganic e Medicinal Chemistry Letters*, V. 11, 1793–1796, 2001.

BARRECA, M.L. et al., Design, synthesis, structure–activity relationships and molecular modeling studies of 2,3-diaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as potent anti-HIV agents. *J. Med.Chem.* V. 45, 5410–3, 2002.

BARROS, C.D. et al., Synthesis and anti-inflammatory activity of new arylidene-thiazolidine-2,4-diones as PPAR α ligands. *Bioorganic e Medicinal Chemistry*, V. 18, 3805–11, 2010.

BEKHIT, A.A. and FAHMY, H.T.Y. Design and Synthesis of Some Substituted 1H-Pyrazolyl-oxazolidines or 1H-Pyrazolyl-thiazolidines as Anti-inflammatory-Antimicrobial Agents. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* v. 2, n. 111–118, 2003.

BILATE, A.M.B. Inflamação, citocinas, proteínas de fase aguda e implicações Terapêuticas. *Temas de Reumatologia Clínica*. v. 8 n. 2, 47-51, 2007

BOZDAG-DUNDAR, O. et al. Synthesis and antimicrobial activity of some new thiazolyl thiazolidine-2,4-dione derivatives. *Bioorganic e Medicinal Chemistry*. V. 15: 6012–7, 2007.

BUCKINGHAM, R.E. Thazolidinediones: Pleiotropic drugs with potent anti-inflammatory properties for tissue protection. *Hepatoloy Research*. V. 33, p. 167-170, 2005.

CANTELLO, B. C. C. et al., The Synthesis of BRL 49653 – A Novel and Potent Antihyperglycaemic Agent. *Biomed. Chem. Lett.* V. 4, 1181-4, 1994.

CECCON, M.E.J.R.; VAZ, F.A.C. Os mediadores inflamatórios no diagnóstico de sepse no recém-nascido. *Pediatria, São Paulo.*, v. 26, n. 2, 110-9, 2004.

CELOTTI, F.; DURAND, T., The metabolic effects of inhibitors of 5-lipoxygenase and of cyclooxygenase 1 and 2 are an advancement in the efficacy and safety of anti-inflammatory therapy. *Prostaglandins e other Lipid Mediators*, V. 71, 147–162, 2003.

CHEN, Q.P.N.; RAO, P.; KNAUS, E.E. Synthesis and biological evaluation of a novel class of rofecoxib analogues as dual inhibitors of cyclooxygenases (COXs) and lipoxygenases (LOXs). *Bioorganic e Medicinal Chemistry*. V.14, 7898-909, 2006.

COUTO, J.A. et al., Effect of chronic treatment with new benzylidene-thiazolidine-2,4-dione (LPSF/GQ-06) with potential hypoglycemic on rat Leydig cell steroidogenesis. *Med. Chem. Res.* V. 22, 240–6, 2013.

DAYNES, R.A. and JONES, D.C. Emerging Roles of Pparks in Inflammation and Immunity. V. 2, (10):748-59, 2002.

EL-SAYED, M.A.A. et al., Synthesis, biological evaluation and molecular modeling study of pyrazole and pyrazoline derivatives as selective COX-2 inhibitors and anti-inflammatory agents. Part 2. *Bioorganic e Medicinal Chemistry*. v. 20, 3306–16, 2012.

ENGH, M.V.D. Sécurité Cardiovasculaire des Inhibiteurs – COX-2 Sélectifs um Dossier Preoccupant! *Fondation Pharma – Flash*, v.28, n.2, p. 1-4, 2001.

FAINE, L.A., Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of a New Arylidene-Thiazolidinedione in Macrophages. *Current Medicinal Chemistry*. V. 18: 3351-60, 2011.

FIORUCCI, S. et al., Dual inhibitors of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase. A new avenue in anti-inflammatory therapy?. *Biochemical Pharmacology*, V. 62 (11): 1433–8, 2001.

GARG, A.; CHAWLA, P.; PANJWANI, D. and SARAF, S.A. Synthesis of some novel 5-substituted arylidene-2,4-thiazolidinediones as bioactive agents. *International Journal of pharmaceutical sciences and nanotechnology*. v. 4, n. 1, 1373-1378, 2011.

GILROY, D. W. et al., Inflammatory resolution: new opportunities for drug discovery. *Nat. Rev.*, London, v.3, p.104-416, 2004.

GIUSTARINI, D.; ROSSI, R.; MILZANI, A.; DALLE-DONNE, I. Nitrite and Nitrate Measurement by Griess Reagent in Human Plasma: Evaluation of Interferences and Standardization. *Methods in Enzymology*. v. 440, p. 361-380. 2008.

GOEL, B. et al., 2-Substituted-3-(4-bromo-2-carboxyphenyl)-5-methyl-4-thiazolidinones as Potential Anti-inflammatory Agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, V. 34, 265-9, 1999.

GÓES, A.J.S. et al., Síntese e atividade antiedematogênica de derivados n-triptofil-5-benzilideno-2,4-tiazolidinadiona e n-triptofil-5-benzilideno-rodanina. *Quim. Nova*, V. 27, N. 6, 905-910, 2004.

GOUDA, M.A.; ABU-HASHEM, A.A., Synthesis, Characterization, Antioxidant and Antitumor Evaluation of Some New Thiazolidine and Thiazolidinone Derivatives. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci*. V. 11: 170–7, 2011.

GUERRA, A.S.H.S. et al., Anti-inflammatory and antinociceptive activities of indole–imidazolidine derivatives. *International Immunopharmacology*. v. 11, 1816–1822, 2011.

HOEFLER R. Inibidores da COX-2 e Riscos Cardiovasculares.

Farmacoterapêutica – Conselho Federal de Farmácia, v. 9, n.5, p. 45-8, 2004.

JEONG, Tae-Sook; KIM, Ju-Ryoung; KIM, K.S.; CHO, Kyung-Hyun; BAE, Ki-Hwan; LEE, W.S. Inhibitory effects of mult-substituted benzylidenethiazolidine-2, 4-diones on LDL oxidation. *Bioorganic e Medicinal Chemistry* v.12, p.4017-4023, 2004.

JIANG, C.; TING, A.T. e SEED, B. PPAR-gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature*. V. 391, p. 82–6, 1998.

JOHNSON, M.R. et al., Synthesis of β -Lactams by the Photochemical Extrusion of Sulfur Dioxide from 1,1-Dioxo-4-thiazolidinones. *J. Org. Chem.* V. 48, 494-9, 1983.

JONCKBEERE, H.; ANNÉ, J.; De Clercq, E. The HIV-1 Reverse Transcription (RT) Process as Target for RT Inhibitors. *Med. Res. Rev.* V. 20, 129-54, 2000.

KAM, P.C.A. e SO, A. COX-3: Uncertainties and controversies. *Current Anaesthesia e Critical Care*. V. 20, 50–53, 2009.

KAVITHA, C.V. Synthesis of new bioactive venlafaxine analogs: Novel thiazolidin-4-ones as antimicrobials. *Bioorganic e Medicinal Chemistry*. V. 14: 2290–9, 2006.

KOSTER R.; BEER, A. M. Acetic acid for analgesic screening. *Federation Proceedings*, v. 18, p.412, EJ 1959.

KOUFANY, M.; MOULIN, D.; BIANCHI, A.; MURESAN, M.; SEBILLAUD, S.; NETTER, P.; WERYHA, G. and JOUZEAU, J. Anti-inflammatory effect of antidiabetic thiazolidinediones prevents bone resorption rather than cartilage changes in experimental polyarthritis. v. 10, n. 1, 1-16, 2008.

LEHMANN, J.M. et al., An Antidiabetic Thiazolidinedione is a High Affinity Ligand for Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ (PPAR γ). J. Biol. Chem. V. 270, 12953-6, 1995.

LEITE, L.F.C.C., et al., Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies of arylidene-thiazolidinediones with potential hypoglycemic and hypolipidemic activities. European Journal of Medicinal Chemistry. V. 42: 1263-71, 2007.

LEVAL, S. New trends in dual 5-LOX/COX inhibition. Current Medicinal Chemistry. V. 9, 941-62, 2002.

LIESEN, A.P. et al., Métodos de Obtenção, Reatividade e Importância Biológica de 4-Tiazolidinonas. Quim. Nova, V. 31, N. 2, 369-376, 2008.

LIESEN, A.P. et al., Synthesis and evaluation of anti-Toxoplasma gondii and antimicrobial activities of thiosemicarbazides, 4-thiazolidinones and 1,3,4-thiadiazoles. European Journal of Medicinal Chemistry. V. 45: 3685-91, 2010.

LIMA, J.G. Alguns aspectos químicos do anel tiazolidina-2,4-diona. Revista Universidade Rural: Série Exatas e da Terra, v. 18, n. 1, p. 1-8, 1998.

LUENGO, M.B. Uma revisão histórica dos principais acontecimentos da imunologia e da farmacologia na busca do entendimento e tratamento das doenças inflamatórias. Revista Eletrônica de Farmácia. V. 2, N. 2, 64-72, 2005.

MADHAVAN, G.R. et al., Dual PPAR- α and - γ activators derived from novel benzoxazinone containing thiazolidinediones having antidiabetic and hypolipidemic potential. Bioorganic e Medicinal Chemistry, V. 14, 584–91, 2006.

MALI, J.R. et al., One-Pot Multicomponent Synthetic Route for New Quinolidinyl 2,4-Thiazolidinediones. Bull. Korean Chem. Soc. V. 31, N. 7, 1859-62, 2010.

MONTANARI, C.A. Química Medicinal: Métodos e Fundamentos Em Planejamento de Fármacos. São Paulo, Edusp, Ed. 1, 2011.

MORAES, L.A.; PIQUERAS, L.; e BISHOP-BAILEY, D. Peroxisome proliferator-activated receptors and inflammation. *Pharmacol Ther.* V. 110, n. 3, 371–385, 2006.

MOURÃO R.H., Synthesis and biological activity of novel acridinylene and benzylidene thiazolidinediones. *Eur J Med Chem.* V. 40: 1129–1133, 2005.

NAVEAU, B. Dual inhibition of cyclo-oxygenases and 5-lipoxygenase: a novel therapeutic approach to inflammation?. *Joint Bone Spine.* V. 72, p. 199-201, 2005.

OGUCHI, M. et al., Molecular Design, Synthesis, and Hypoglycemic Activity of a Series of Thiazolidine-2,4-diones. *J. Med. Chem.* V. 43: 3052-66, 2000.

ONEN-BAYRAM, F.E. et al., A novel thiazolidine compound induces caspase-9 dependent apoptosis in cancer cells. *Bioorganic e Medicinal Chemistry.* V. 20: 5094–5102, 2012.

PRASAD, N.; GUPTA, A. Fungal peritonitis in peritoneal dialysis patients. *Peritoneal Dialysis International.* v. 25, p. 207–222, 2005.

PETRUZZELLI, M. et al., Intestinal mucosal damage caused by non-steroidal anti-inflammatory drugs: Role of bile salts. *Clinical Biochemistry.* V. 40, 503-10, 2007.

PRATAP, U.R. et al., Synthesis of 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones by Knoevenagel condensation catalyzed by baker's yeast. *New J. Chem.,* V. 35, 49–51, 2011.

RAO, A. et al., 2-(2,6-Dihalophenyl)-3-(pyrimidin-2-yl)-1,3-thiazolidin-4-ones as non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. *Antiviral Research*, V. 63, 79–84, 2004.

RAWAL, R.K. et al., Synthesis and Biological Evaluation of 2,3-Diaryl substituted-1,3-thiazolidin-4-ones as Anti-HIV Agents. *Medicinal Chemistry*, 2007, V. 3, N. 4: 355-63, 2007.

RIZZO, G.; FIORUCCI, S. PPARs and other nuclear receptors in inflammation. *Current Opinion in Pharmacology*. V. 6, p. 421-427, 2006.

SANTOS, L. C. et al., Synthesis and anti-inflammatory activity of new thiazolidine-2,4-diones, 4-thioxothiazolidinones and 2-thioxoimidazolidinones. *Heterocyclic Communications*, V.11(2), p.121-128, 2005.

SCHEIBYE, S.; et al., Reactions of ketones with 2,4-bis(4-methoxyphenyl)-1,3,2,4-dithiadiphosphetane 2,4_disulfide. *Tetrahedron*. V. 38, N. 1: 993-1001, 1982.

SONOWANE, L.V.; BARI, S.B. Synthesis and Spectral Characteriation of Some Novel N-Substituted 2,4-Thiazolidinedione. *International Journal of Biological Chemistry*. V. 5, N. 1, 68-74, 2011.

STAMP, L.K.; JAMES, M.J.; CLELAND, L.G. Diet and Rheumatoid Arthritis: A Review of the Literature. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. V. 35, n. 2, 77-94, 2005.

TARANALLI, A.D. anti-inflammatory, analgesic and anti ulcer activity of certain thiazolidinones. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. v. 2, p. 79-83, 2009.

TAVARES, V.; HIRATA, M.H.; HIRATA, R.D.C. Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma Gama (PPAR γ): Estudo Molecular na

Homeostase da Glicose, Metabolismo de Lipídeos e Abordagem Terapêutica.

Arq Bras Endocrinol Metab.; v. 51, n. 4:526-533, 2007.

TAXAK, N. S-Oxidation of Thiazolidinedione with Hydrogen Peroxide, Peroxynitrous Acid, and C4a-Hydroperoxyflavin: A Theoretical Study. J. Phys. Chem. A. V.115, 891–8, 2011.

TENÓRIO, R.P. et al., Synthesis of thiosemicarbazone and 4-thiazolidinone derivatives and their in vitro anti-Toxoplasma gondii activity. Bioorg. Med. Chem. Lett. V. 15: 2575–8, 2005.

TENÓRIO, R.P. et al., Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. Quim. Nova. V. 28, N. 6: 1030-7, 2005a.

TSUKAMOTO, H. et al., Thiazolidinediones increase arachidonic acid release and subsequent prostanoid production in a peroxisome proliferator-activated receptor-independent manner. Prostaglandins e Other Lipid mediators. V. 73, p. 191-213, 2004.

TUNER, B.G.; SUMMERS, M.F. Structural Biology of HIV. J. Mol. Biol. V. 285, 1-32, 1999.

VANE, J. R.; BAKHLE, Y. S. and BOTTIN, R. M. Cyclooxygenases 1 and 2. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. V. 38, 97–120, 1998.

VANE, J. R., e BOTTING, R. M. Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. Inflamm Res. V. 47, (Suppl 2), S78-87, 1998.

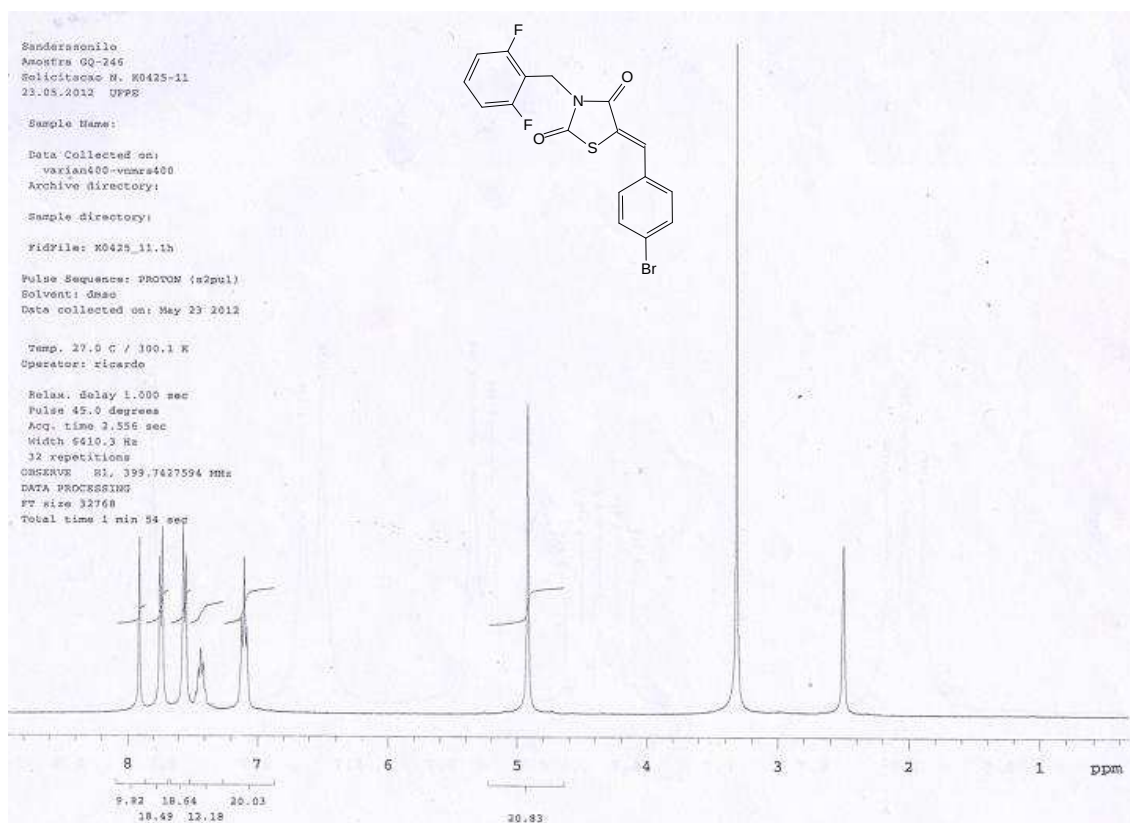
VERÇOZA, G.L. et al., Síntese e avaliação da atividade antimicrobiana de novas 4-tiazolidinonas obtidas a partir de formilpiridina tiossemicarbazonas. Quím. Nova. V.32, N.6: 1405-10., 2009.

VIGORITA, M.G. et al., Synthesis and Antiinflammatory, Analgesic Activity of 3,30-(1,2-EthanediyI)-bis[2-aryl-4-thiazolidinone] Chiral Compounds. Part 10. Bioorganic e Medicinal Chemistry Letters. V. 11: 2791–94, 2001.

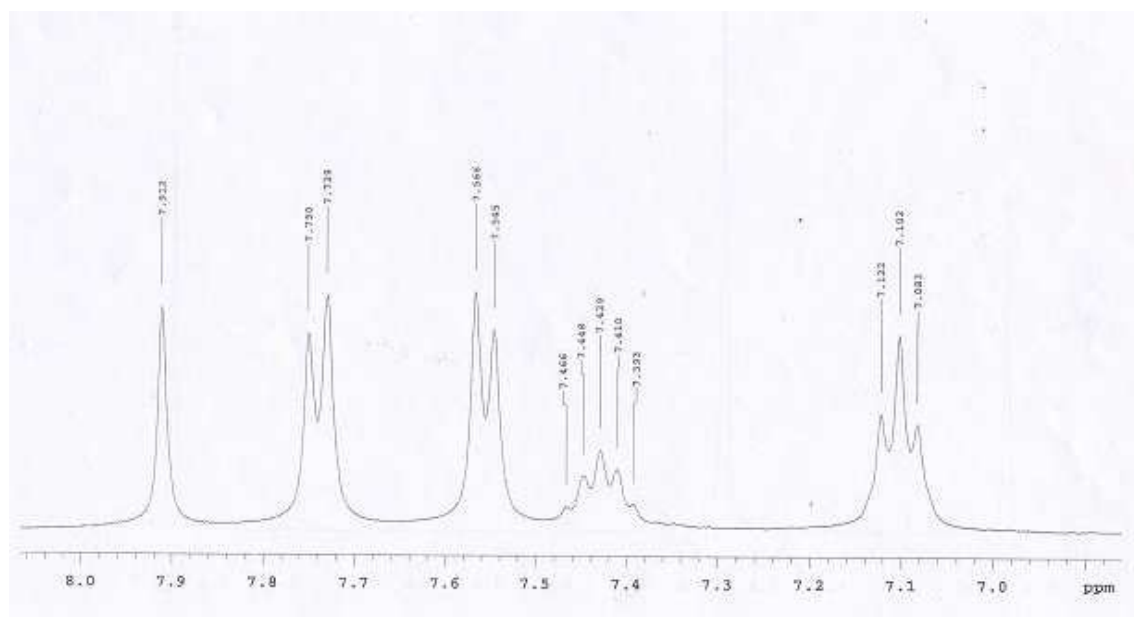
WERNER, S.; GROSE, R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. Physiolgical Reviews. V. 83, N. 3, 835-70, 2003.

XIAO-FANG, L. et al., Sythesis of 3-Alkyl-5-Benzylidene-2,4,-Thiazolidinedione Under Microwave Irradiation. Transactions of Tianjin University. V. 9, N. 3, 228-30, 2003.

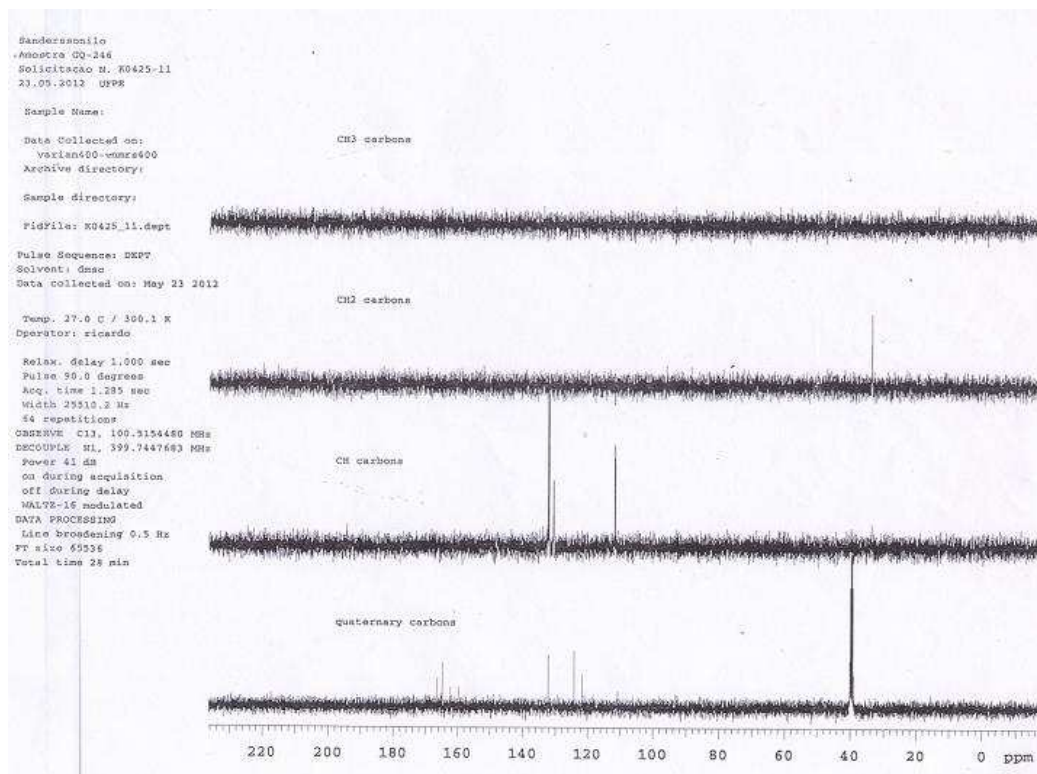
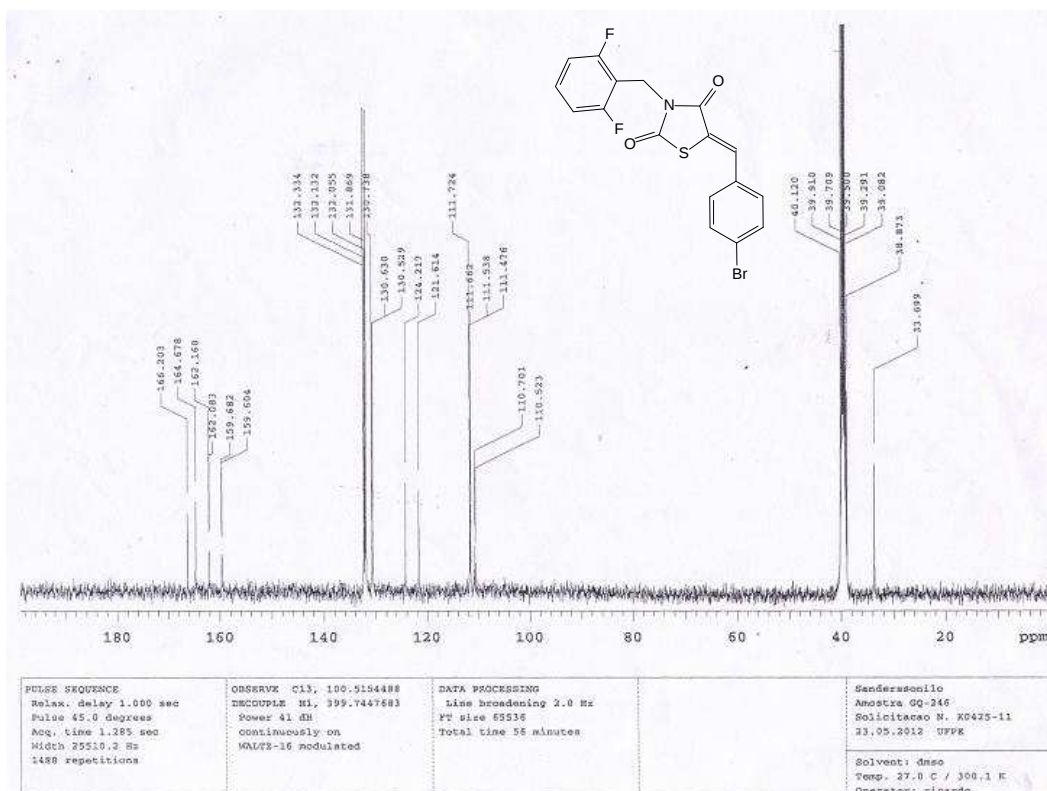
APÊNDICE

LPSF/GQ-246

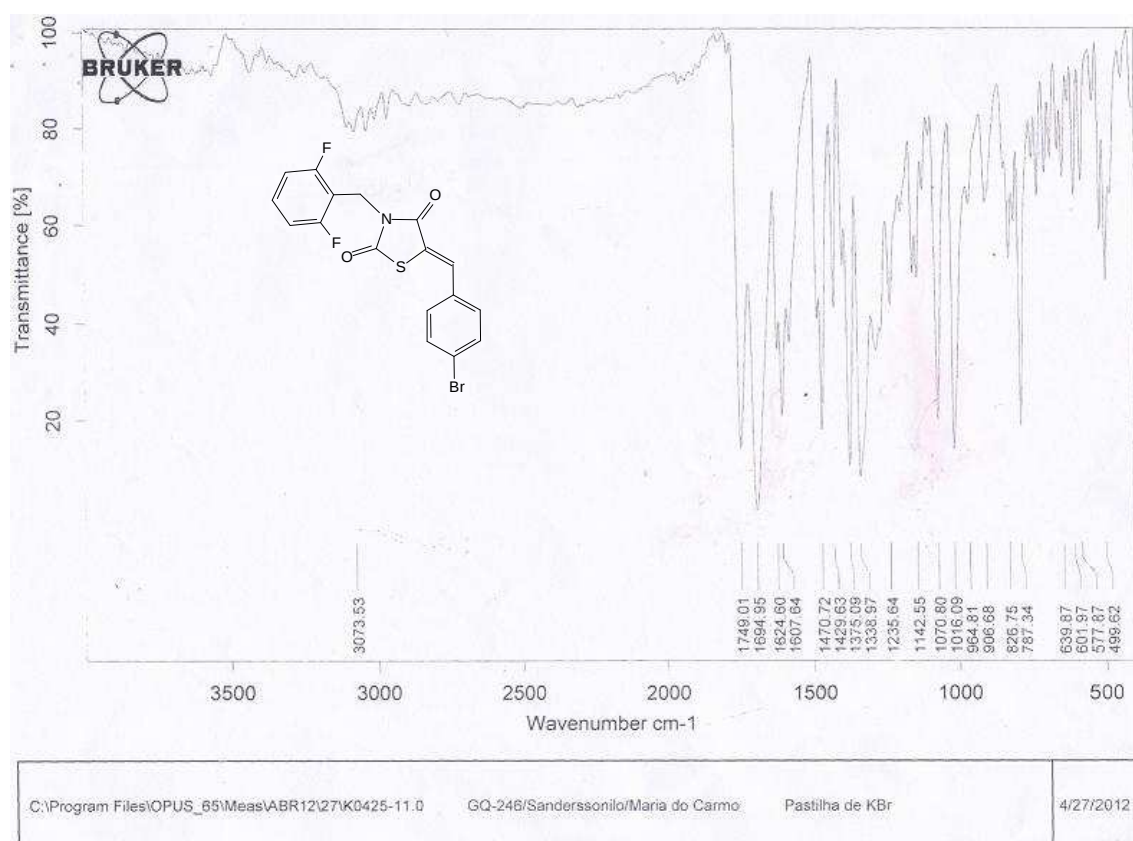
**Espectro de RMN-¹H da 3-(2,6-difluoro-benzil)-5-(4-bromo-benzilideno)-
 tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-246)**



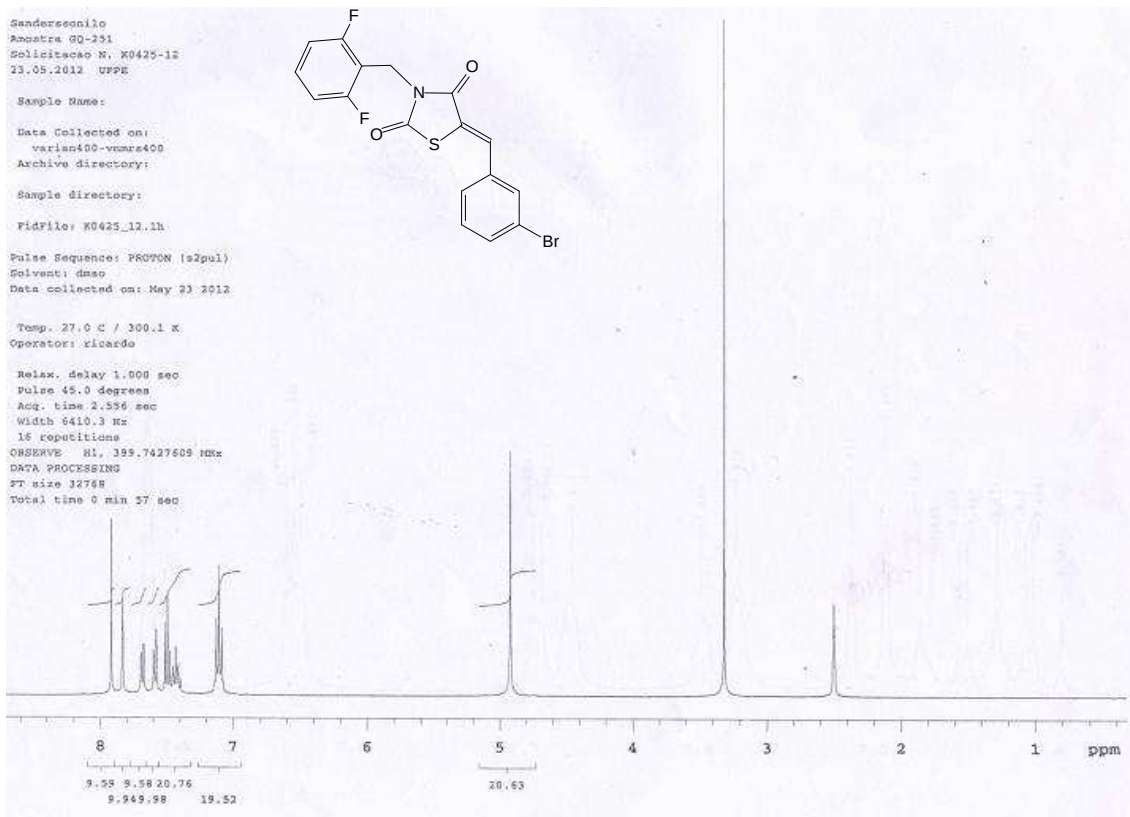
**Ampliação do espectro de RMN-¹H da 3-(2,6-difluoro-benzil)-5-(4-bromo-
 benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-246)**



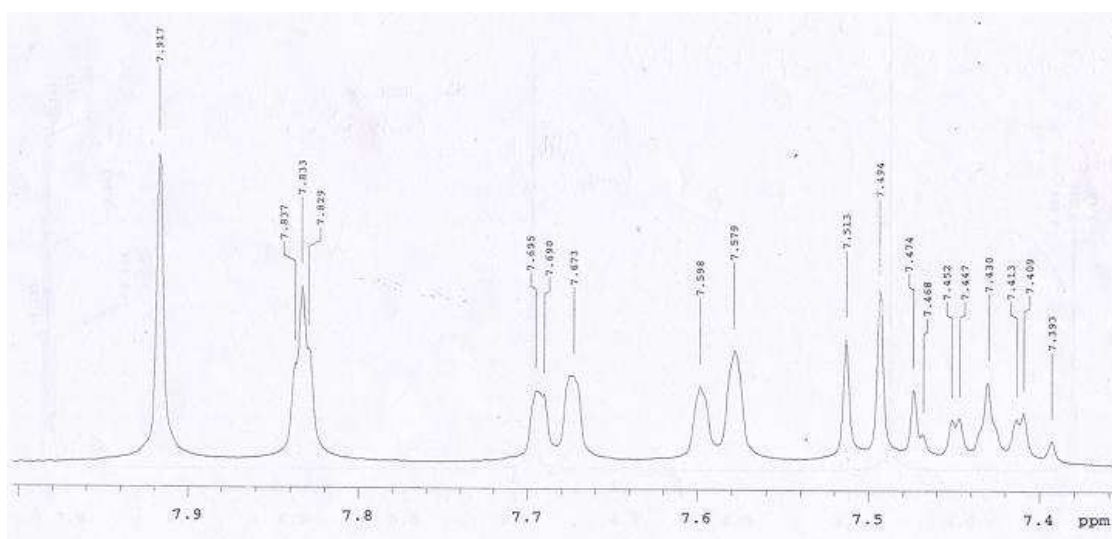
Espectro de RMN-¹³C da 3-(2,6-difluoro-benzil)-5-(4-bromo-benzilideno)-
 tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-246)



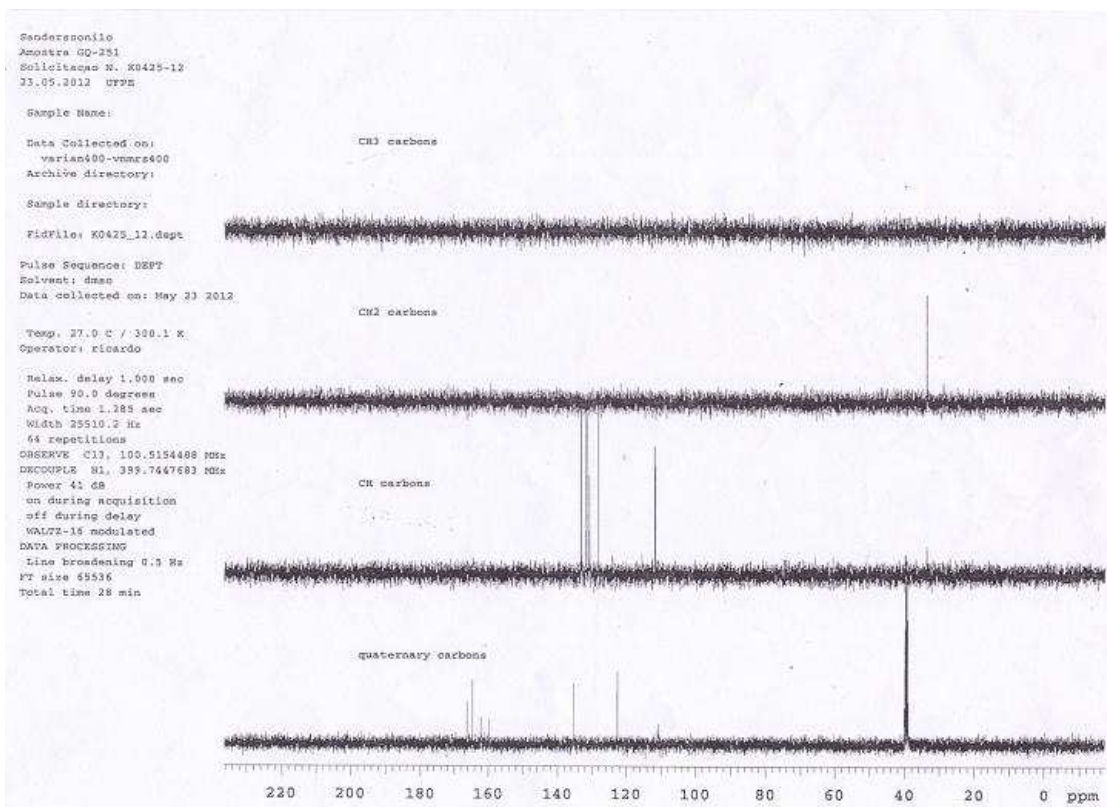
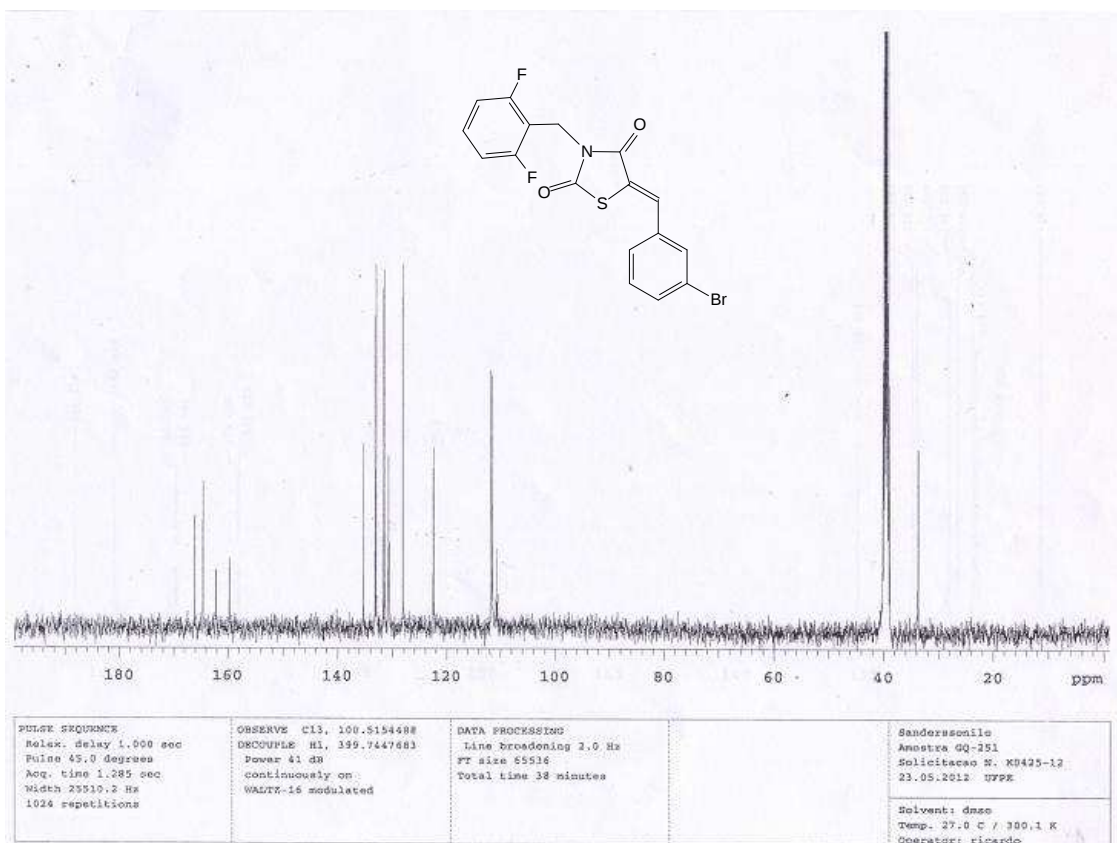
Espectro de infravermelho da 3-(2,6-difluoro-benzil)-5-(4-bromo-benzilideno)-thiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-246)

LPSF/GQ-251

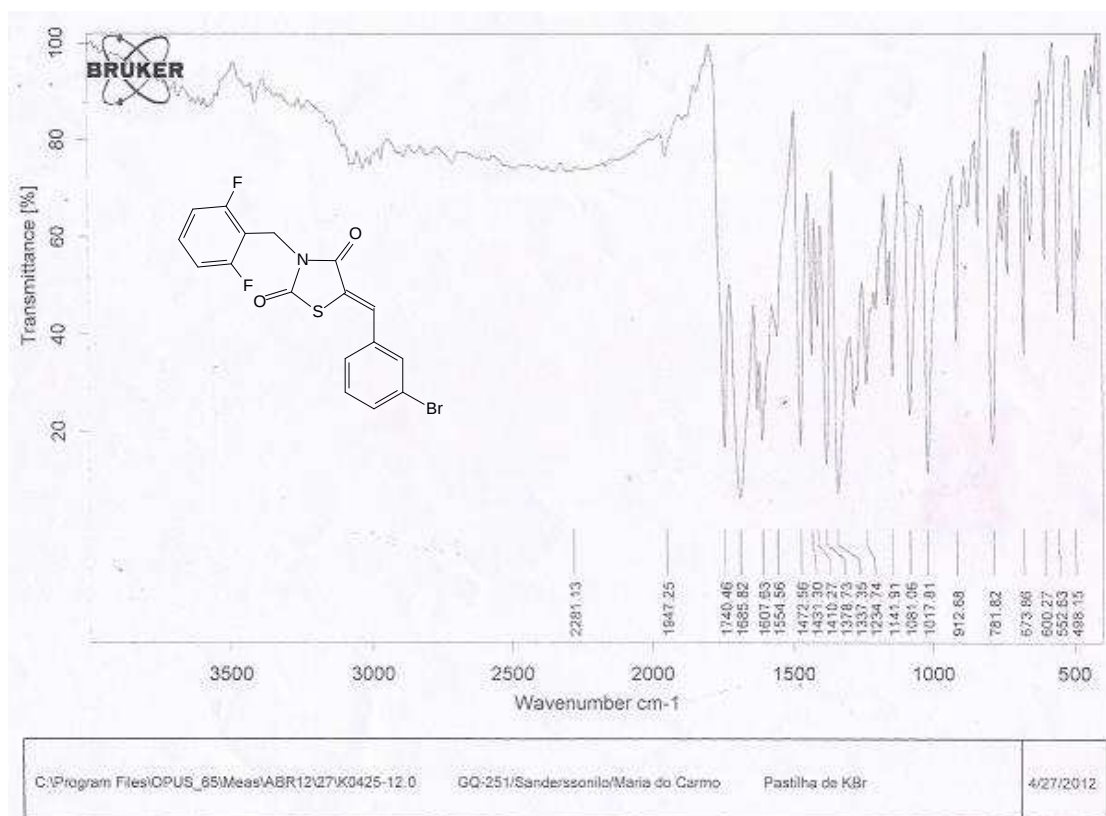
**Espectro de RMN-¹H da 3-(2,6-difluoro-benzil)-5-(3-bromo-benzilideno)-
thiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-251)**



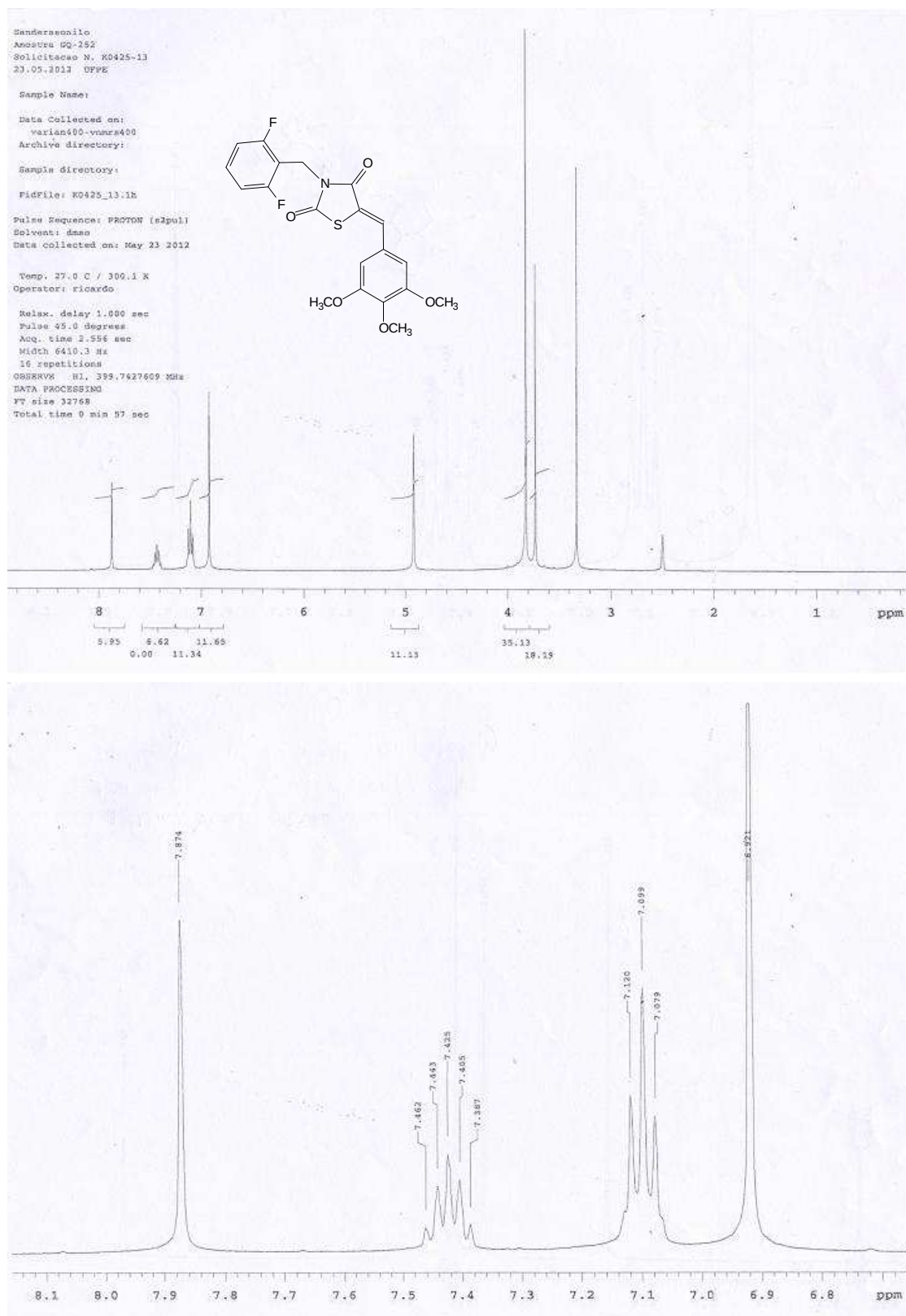
Ampliação do espectro de RMN-¹H da 3-(2,6-difluoro-benzil)-5-(3-bromo-benzilideno)-thiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-251)



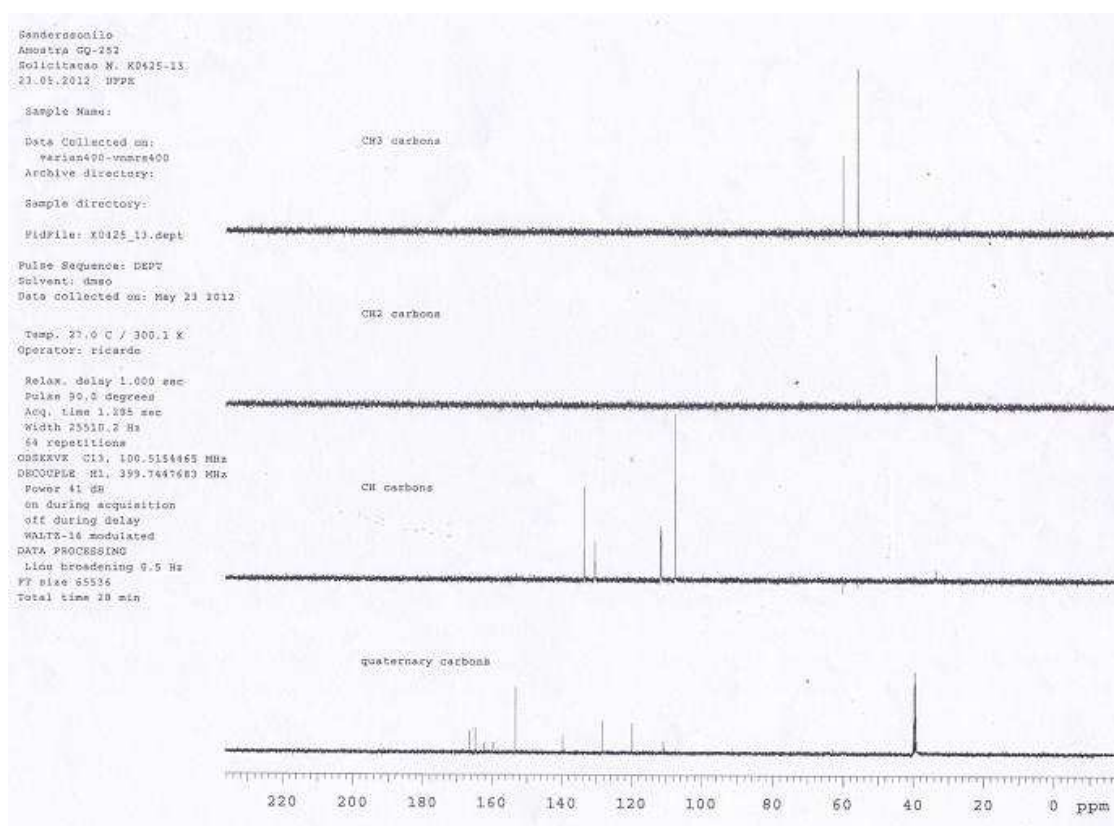
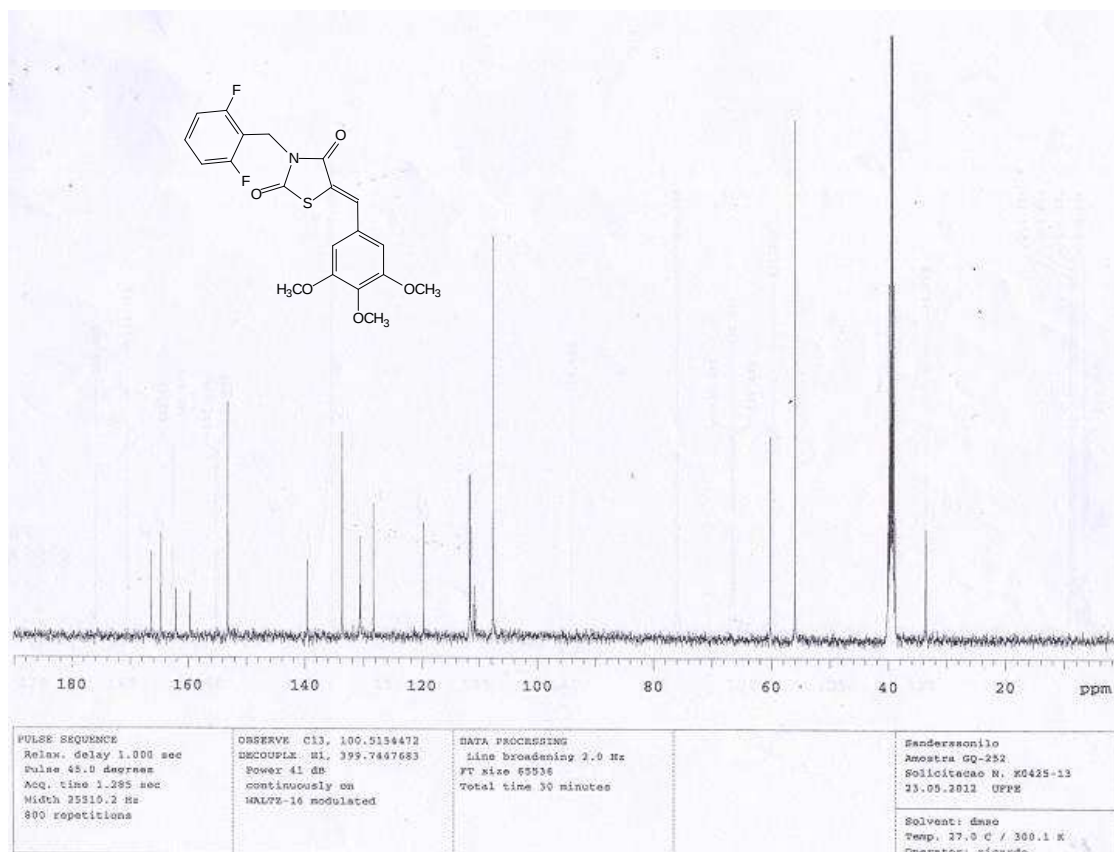
Espectro de RMN-¹³C da 3-(2,6-difluoro-benzil)-5-(3-bromo-benzilideno)-thiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-251)



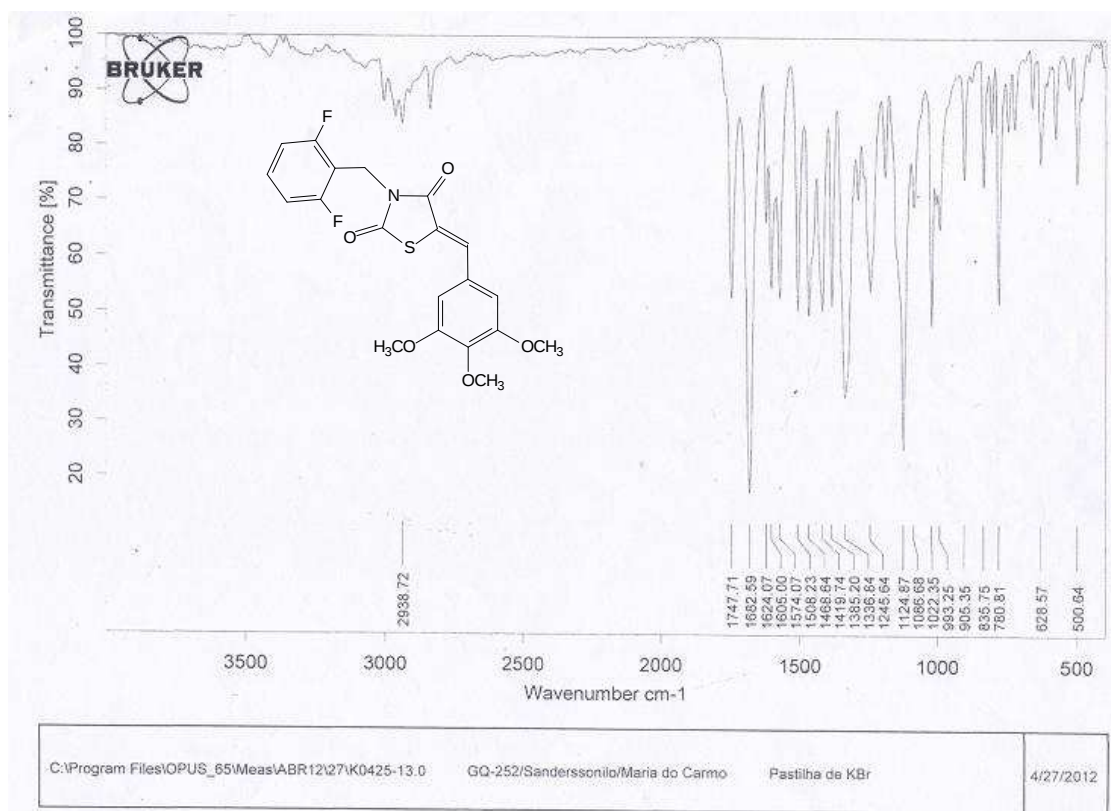
Espectro de infravermelho da 3-(2,6-difluoro-benzil)-5-(3-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-251)

LPSF/GQ-252

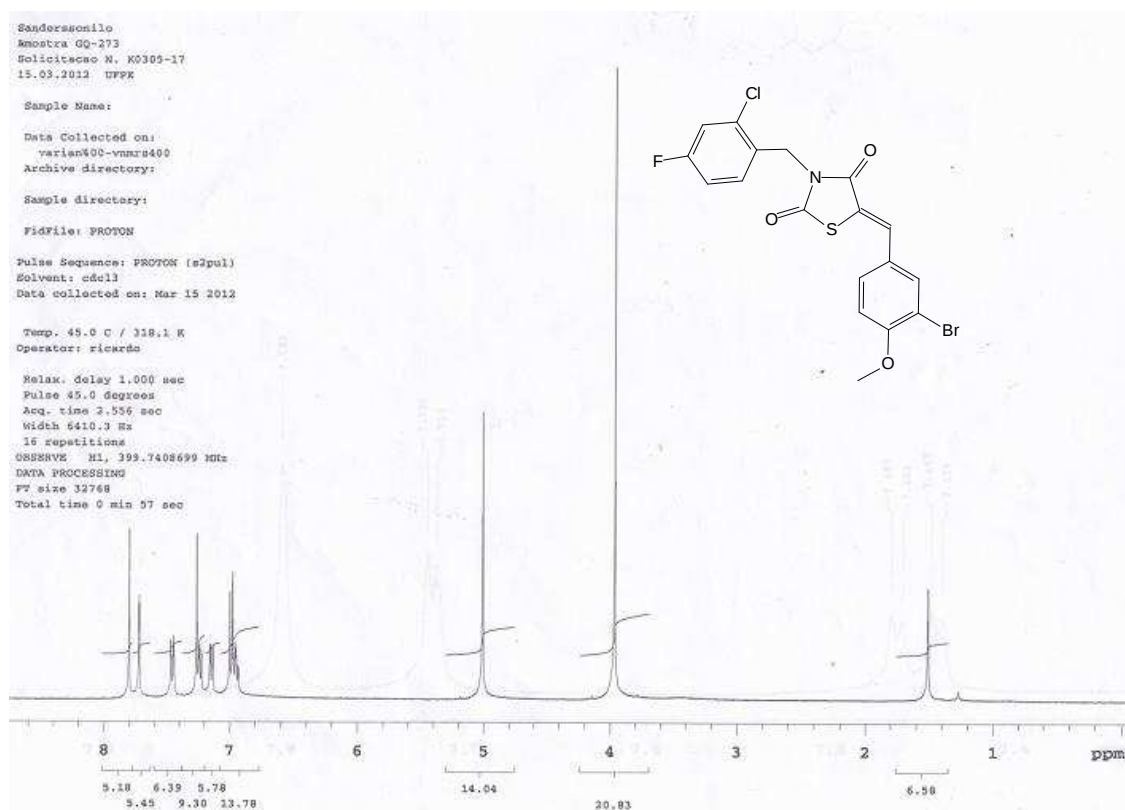
Espectro de RMN-¹H da 3-(2,6-difluoro-benzil)-5-(3,4,5-trimetoxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-252)



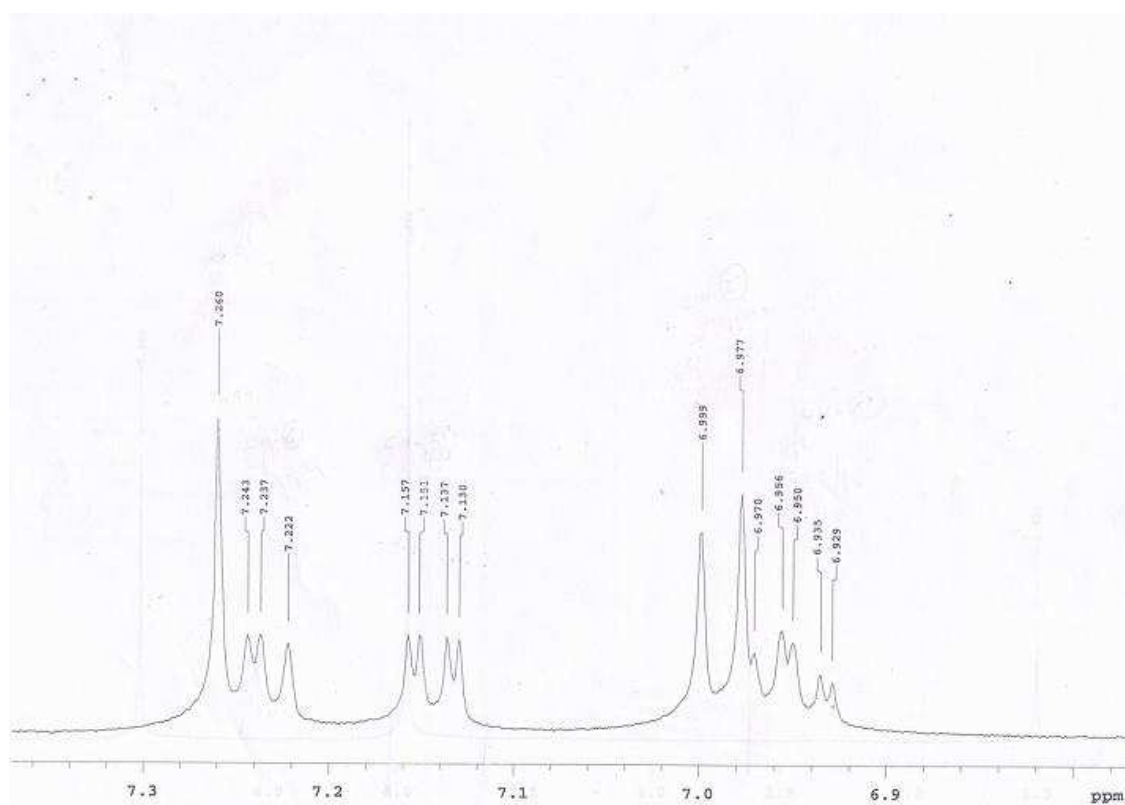
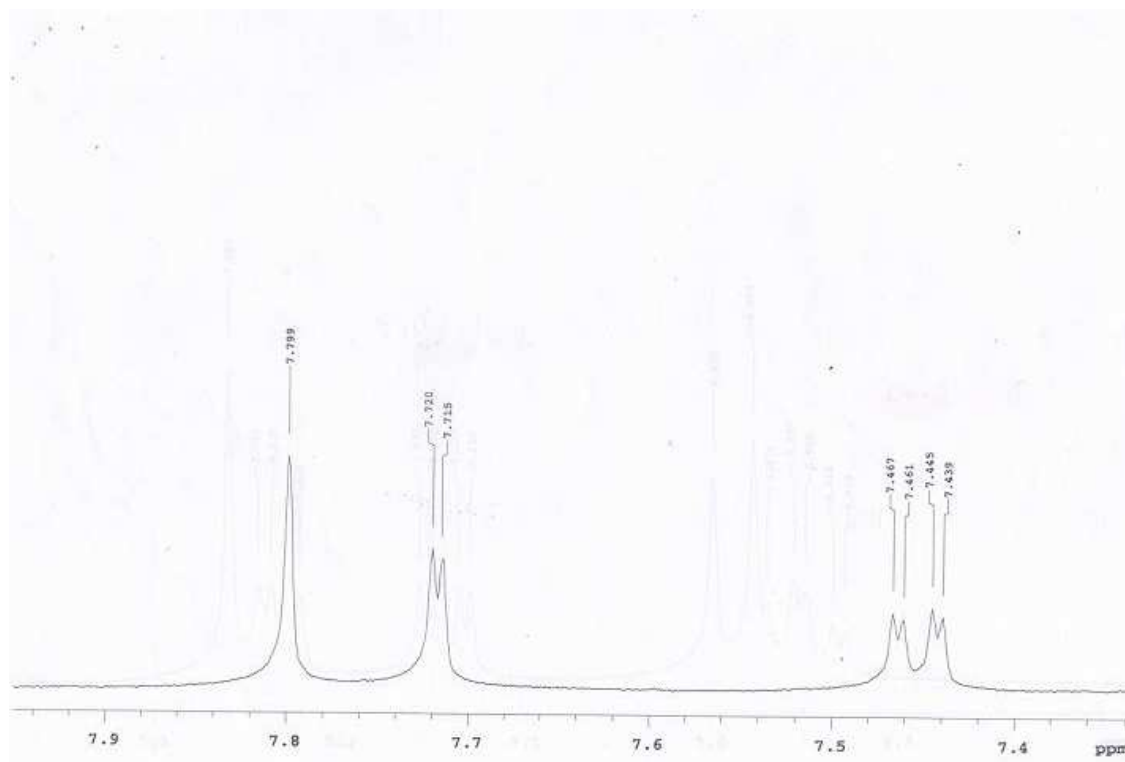
Espectro de RMN-¹³C da 3-(2,6-difluoro-benzil)-5-(3,4,5-trimetoxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-252)



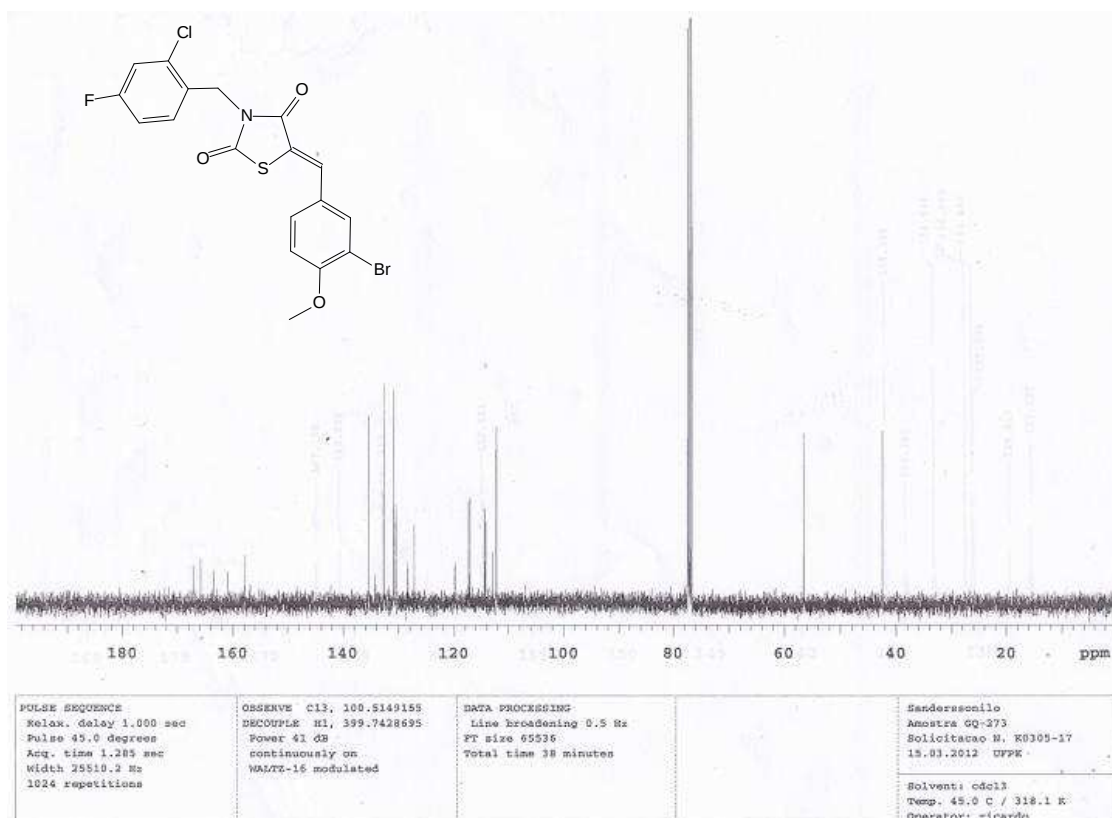
Espectro de infravermelho da 3-(2,6-difluoro-benzil)-5-(3,4,5-trimetoxi-benzilideno)-thiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-252)

LPSF/GQ-273

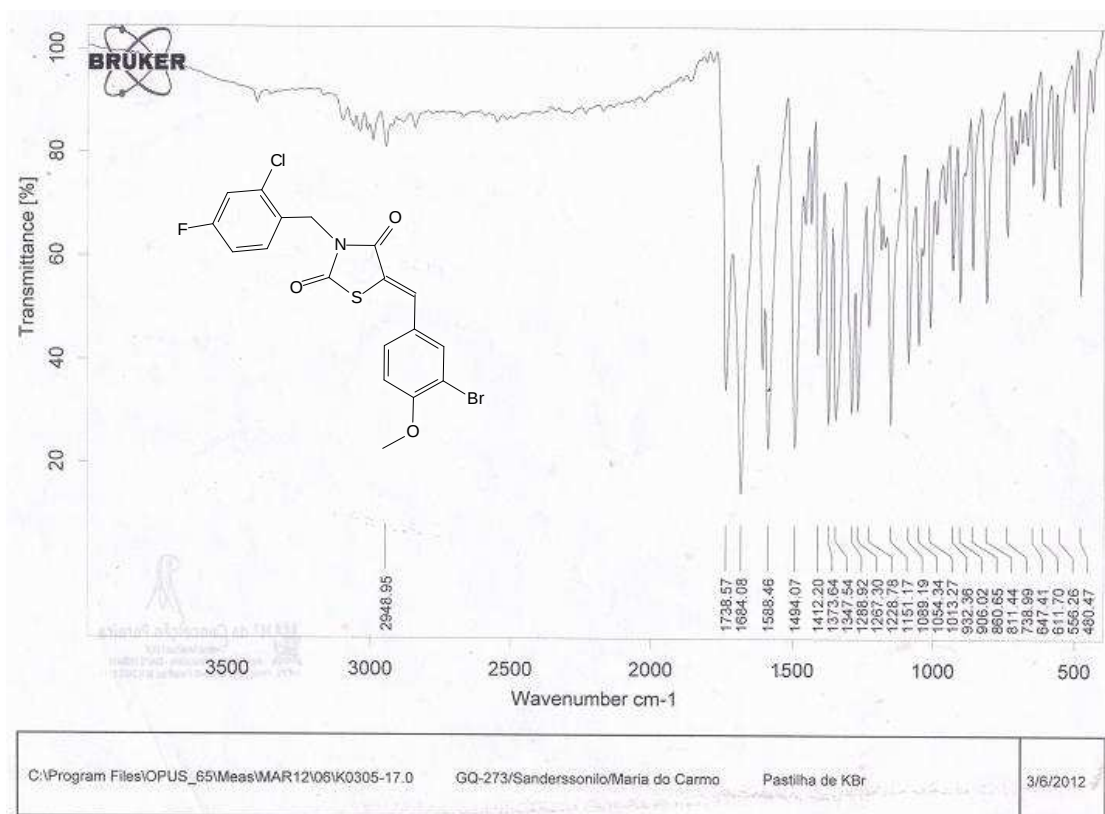
Espectro de RMN-¹H 3-(2-cloro-4-fluorobenzil)-5-(3-bromor-4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-273)



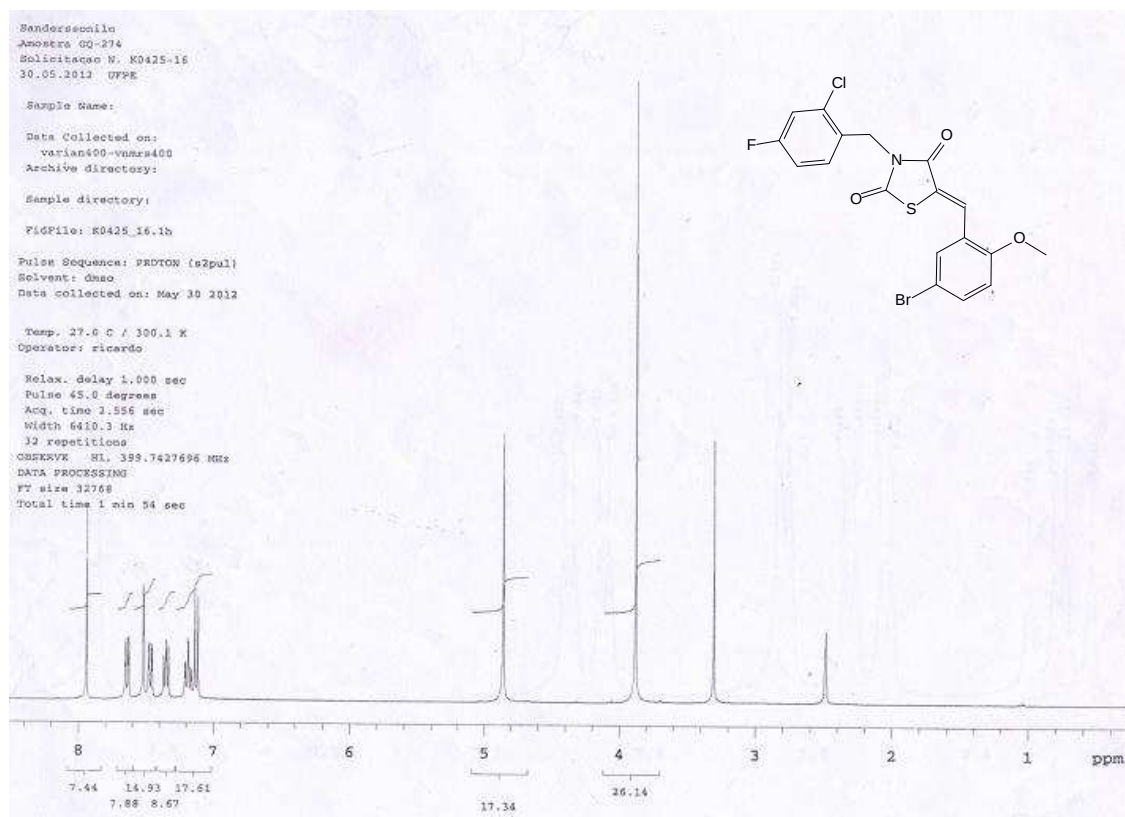
Ampliação do espectro de RMN- ^1H 3-(2-cloro-4-fluoro-benzil)-5-(3-bromo-4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-273)



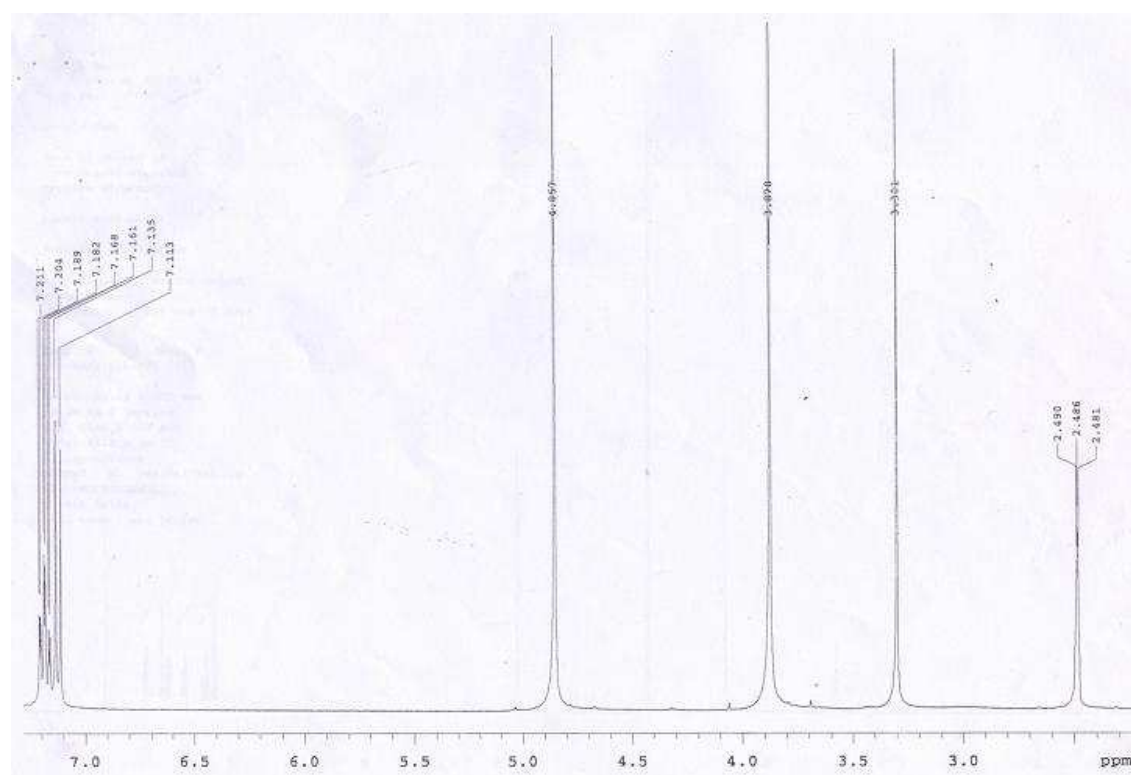
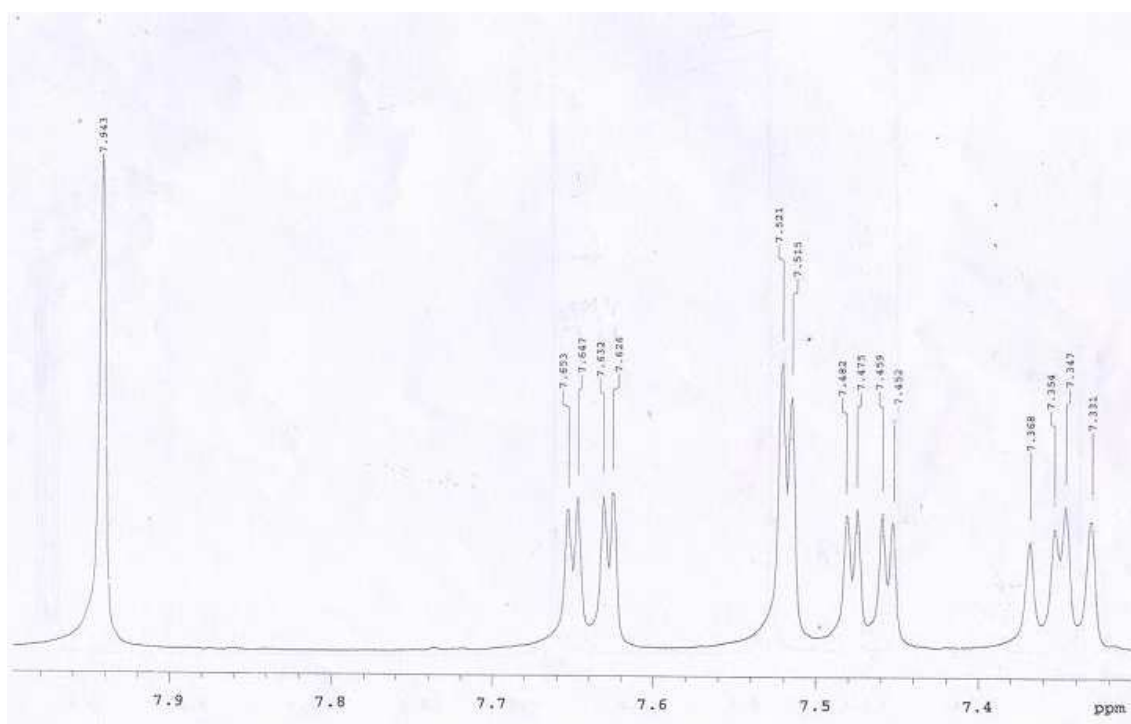
Espectro de RMN-¹³C 3-(2-cloro-4-fluoro-benzil)-5-(3-bromor-4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-273)



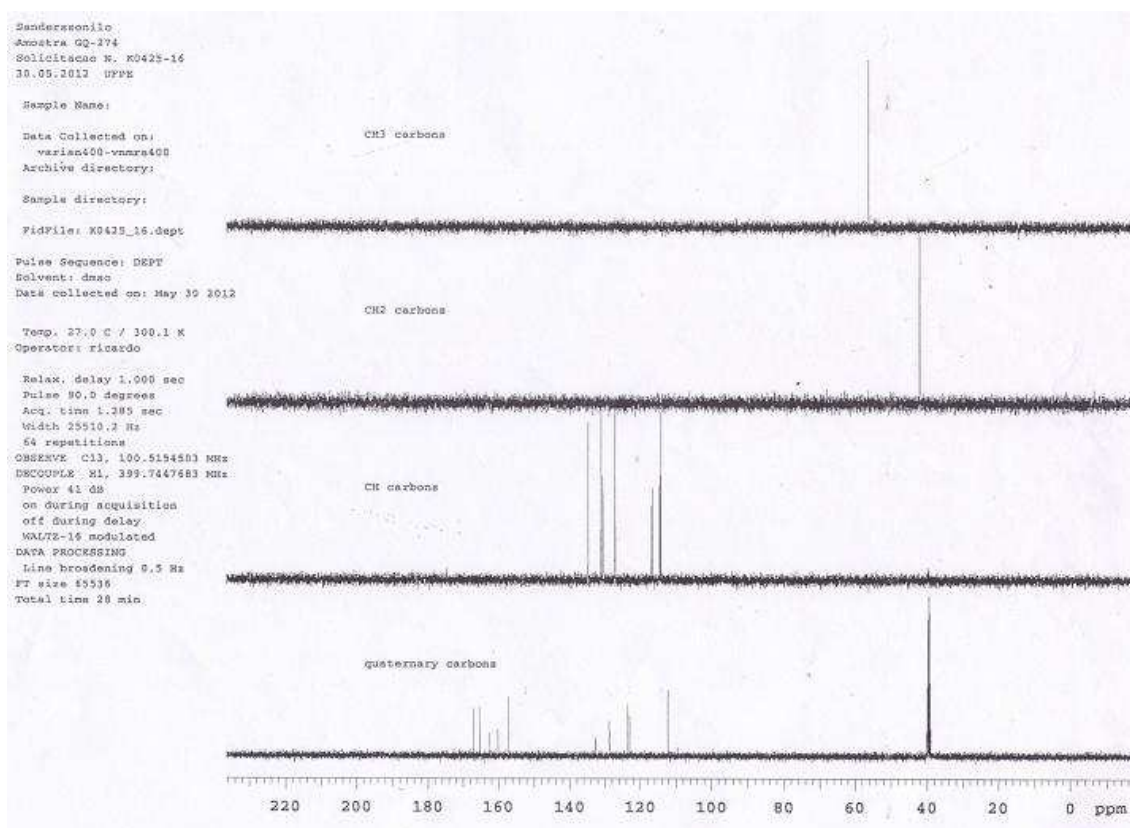
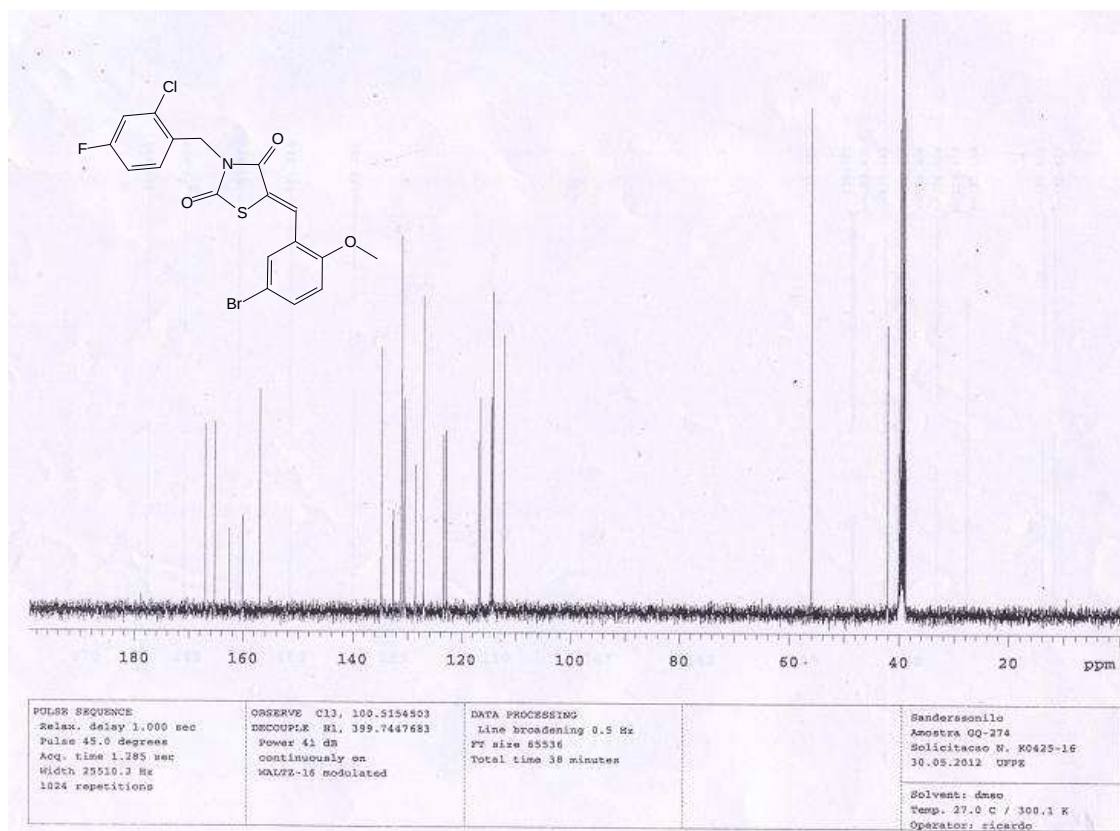
Espectro de infravermelho da 3-(2-cloro-4-fluorobenzil)-5-(3-bromor-4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-273)

LPSF/GQ-274

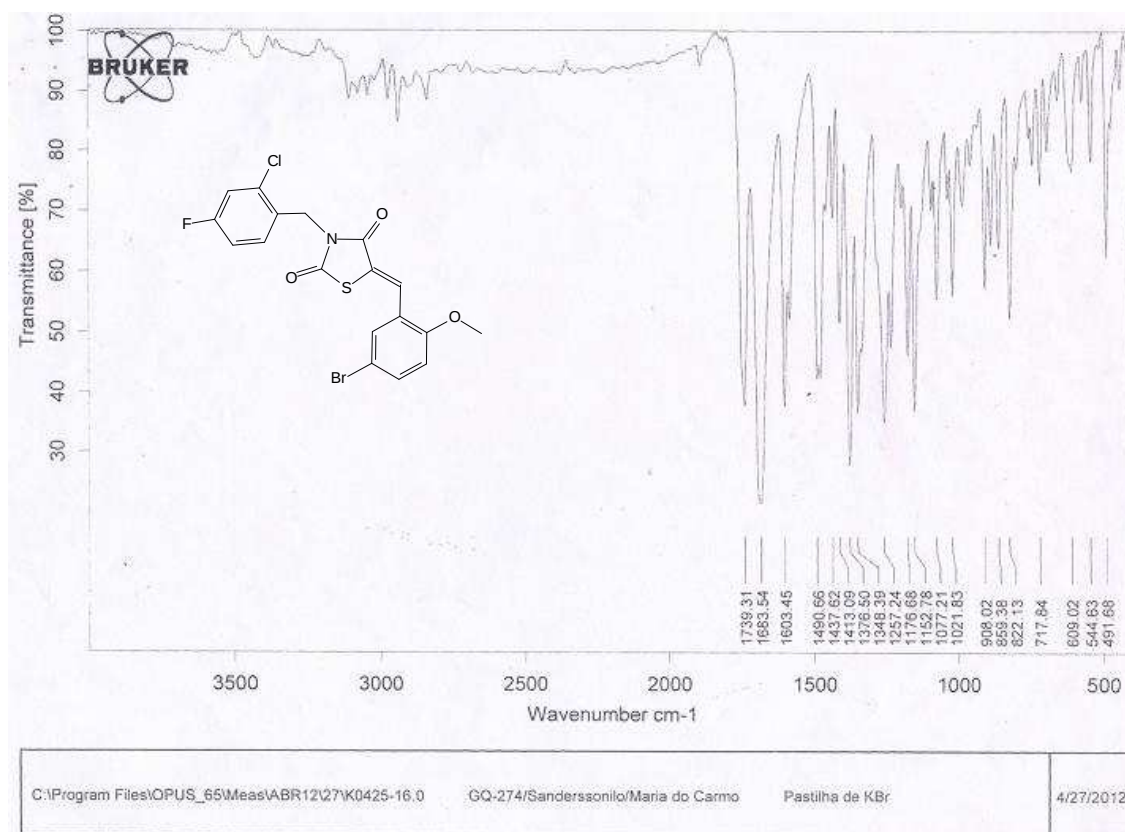
Espectro de RMN-¹H da 3-(2-cloro-4-fluoro-benzil)-5-(2-metóxi-5-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-274)



Ampliação do espectro de RMN- ^1H da 3-(2-cloro-4-fluoro-benzil)-5-(2-metóxi-5-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-274)



Espectro de RMN-¹³C da 3-(2-cloro-4-fluoro-benzil)-5-(2-metóxi-5-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-274)



Espectro de RMN-¹H da 3-(2-cloro-4-fluoro-benzil)-5-(2-metóxi-5-bromo-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-274)