

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**SÍNTESE, COMPROVAÇÃO ESTRUTURAL E ATIVIDADE
ANTIINFLAMATÓRIA DE COMPOSTOS
TIAZOLIDINÔNICOS-3,5-DISSUBSTITUÍDOS**

DANIEL TARCISO MARTINS PEREIRA

RECIFE – 2007

Daniel Tarciso Martins Pereira

**SÍNTESE, COMPROVAÇÃO ESTRUTURAL E ATIVIDADE
ANTIINFLAMATÓRIA DE COMPOSTOS
TIAZOLIDINÔNICOS-3,5-DISSUBSTITUÍDOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas, na área de concentração Farmacologia, Fisiologia e Química Medicinal.

ORIENTADORA:
Profa. Dra. Suely Lins Galdino

CO-ORIENTADORA:
Profa. Dra. Maria do Carmo Alves de Lima

**RECIFE – 2007
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

REITOR
Professor Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Professor Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Professor Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Professora Miriam Camargo Guarnieri

COORDENADOR DO CURSO DE DOUTORADO
Professora Suely Lins Galdino

*Não me fechem as portas,
orgulhosas bibliotecas,
pois justamente o que estava faltando
em suas prateleiras apinhadas,
é o que venho trazer
- mal acabando de sair da guerra,
um livro que escrevi:
pelas palavras do meu livro, nada;
pelas intenções, tudo!
Um livro à margem,
sem nada a ver com os restantes,
e que não pode se sentir só com o intelecto.
(...)*

Walt Whitman

DEDICATÓRIA

A Deus, que com seu amor de Pai, renova minhas forças, permitindo-me
enfrentar os desafios de cada novo dia.

A minha amada esposa, Ana Carolina, por seu amor, compreensão e
paciência.

Aos meus avós, “Oliveira” e “Uauá” (*in memoriam*), pelos exemplos de dignidade, simplicidade e sabedoria.

AGRADECIMENTOS

À Professora Suely Lins Galdino, do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos do Departamento de Antibióticos – Grupo de Pesquisa em Inovação Terapêutica, GPIT/UFPE, minha admiração e gratidão, pelo incentivo e orientação no desenvolvimento deste trabalho de pesquisa.

À Professora Maria do Carmo Alves de Lima, do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos do Departamento de Antibióticos – GPIT/UFPE, pela amizade e constante incentivo.

Ao Professor Ivan da Rocha Pitta, do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos do Departamento de Antibióticos – GPIT/UFPE, por seu exemplo de profissionalismo e compromisso com o desenvolvimento científico nacional.

À Professora Terezinha Gonçalves da Silva, por sua contribuição na realização dos testes para avaliação da atividade antiinflamatória dos produtos sintetizados.

Aos Professores Lúcia Fernanda Cavalcanti Costa e Marcelo Zaldini Hernades, por suas contribuições na realização dos estudos computacionais de “docking” com os compostos submetidos a avaliação da atividade antiinflamatória

À Adenilda Eugênia de Lima, secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, pela paciência, disponibilidade e efetivo apoio.

A Ricardo de Oliveira e Eliete Barros, da Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, pela realização dos espectros de infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e de massas.

Aos colegas de Doutorado em Ciências Biológicas, pelos momentos compartilhados.

A todos os colegas do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos, pelo incentivo e colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

À minha família, pelo amor, apoio e compreensão essenciais em todas as etapas deste trabalho.

A todos aqueles não mencionados, cuja colaboração mostrou-se essencial na realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS^{XI}

LISTA DE ESQUEMAS^{XIII}

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS^{XIV}

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS^{XV}

RESUMO^{XVII}

ABSTRACT^{XVIII}

1. INTRODUÇÃO 19

2. OBJETIVOS 23

2.1. Geral

2.2. Específicos

3. REVISÃO DA LITERATURA 25

4. ESTUDO QUÍMICO 43

4.1. ROTA DE SÍNTESE DOS DERIVADOS 5-ARILIDENO-3-BENZIL-44
TIAZOLIDINA-2,4-DIONA (LPSF/GQ E LPSF/SF)

4.1.1. Reações de N-alkilação da tiazolidina-2,4-diona 45

4.1.2. Reações de condensação da tiazolidina-2,4-diona com aldeídos 45
aromáticos ou seus derivados

4.2. MATERIAL E MÉTODOS 47

4.2.1. Equipamentos 47

4.2.2. Cromatografia 48

4.3. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS 48

4.3.1. Síntese da tiazolidina-2,4-diona 48

4.3.2. Síntese da 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ e LPSF/SF) 48

4.3.3. Síntese dos ésteres de Cope (LPSF/IP) 49

4.3.4. Síntese da 5-arilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ e 50
LPSF/SF)

4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
4.4.4. Derivados 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF)	52
4.4.4.1. Análise de Infravermelho e de Ressonância Magnética Nuclear de 56 Hidrogênio	
4.4.4.2. Análise da Espectrometria de Massas	60

5. ESTUDO BIOLÓGICO 68

5.1. MATERIAIS E MÉTODOS 70

5.1.1. Equipamentos 70 5.1.2. Reagentes e soluções 70

5.1.3. Compostos testados 70

5.1.4. Animais 71

5.2. METODOLOGIA 71

5.2.1. Formação do bolsão de ar e Indução do processo inflamatório 71

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 74

5.3.1. Influência dos substituintes na resposta biológica 75

6. ESTUDO DE MODELAGEM MOLECULAR 79

6.1. Estudo da estrutura e análise conformacional dos derivados 5-80 arilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF)

6.2. Forma de ligação dos derivados 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)-80 tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF) no sítio ativo da COX-2 e PPAR γ

6.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 81

7. CONCLUSÕES 91

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 94

9. ANEXOS 104

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Sinais Clássicos da Inflamação	25
Figura 2 -	Celecoxib e rofecoxib, inibidores seletivos da COX-2	29
Figura 3 -	S-2474, inibidor dual da COX/5-LOX	33
Figura 4 -	ER-34122, inibidor dual da COX/5-LOX	33
Figura 5 -	Tepoxalin, inibidor dual da COX/LOX	34
Figura 6 -	Licofelona, inibidor dual da COX1-2/5-LOX	34
Figura 7 -	Compostos híbridos inibidores duais da COX/LOX, análogos do rofecoxib	35

Figura 8 -	Compostos bioisósteros - tiazolidina-2,4-diona e hidantoína	35
Figura 9 -	Derivado 3,3'-(1,2-etanodil)-bis-[4-metoxi-2-aryl-4-tiazolidina]	37
Figura 10 -	Série de derivados 5-aryliden-2-imino-4-tiazolidinonas	38
Figura 11 -	Forma de ligação prevista AutoDock dos ligantes 5-(4-metóxi-aryliden)-2-fenil-imino-3-propil-4-tiazolidinona comparado a posição cristalizada do SC-558	38
Figura 12 -	Derivado 5-(4-metóxi-aryliden)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-5) com atividade anti hiperglicêmica e anti-hiperlipidêmica	40
Figura 13 -	Derivados 5-(2-cloro-aryliden)-3-(4-bromo-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/CR) e 5-(4-flúor-aryliden)-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/LY) com ação antimicrobiana	40
Figura 14 -	Derivados 3-(4-flúor-benzil)-5-aryliden-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/AL) e (4-bromo-fenacil)-5-aryliden-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/HQ) apresentaram valores de $DI_{50} > 50$ mg/mL em células de carcinoma nasofaríngeo com atividade citotóxica	41
Figura 15 -	Derivado 3-(4-fenil-fenacil)-5-(4-metóxi-aryliden)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/HQ) com atividade analgésica periférica	41
Figura 16 -	Derivado 5-(4-metil-sulfonil-aryliden)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-23) com atividade antiinflamatória	42
Figura 17 -	Derivados imidazolidínicos	51
Figura 18 -	5-Acridin-9-il-metiliden-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona	51
Figura 19 -	5-Arildeno-(4-cloro-2-nitro-benzil)-tiazolidínicos (LPSF/TM)	52
Figura 20 -	(A) Administração por via oral dos compostos testados e (B) Administração da carragenina 1% no bolsão de ar	72
Figura 21 -	(C) Lavagem do bolsão com EDTA 0,1% e (D) Coleta do exsudato com seringa estéril	73
Figura 22 -	Estrutura química do 5-(3-bromo-4-metóxi-aryliden)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-15) (29)	75
Figura 23 -	Estrutura química do 5-(1H-indol-3-il-metiliden)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-10) (26)	75
Figura 24 -	Estrutura química do 5-benziliden-2-fenilimino-3-propil-tiazolidinona	76
Figura 25 -	Derivados tiazolidínicos sintetizados pelo LPSF/GPIT/UFPE	77
Figura 26 -	SC-558, inibidor seletivo da COX-2	81
Figura 27 -	Modo de ligação do ligante SC-558 ao sítio ativo da COX-2. Principais ligações de hidrogênio (em amarelo) formadas entre o radical amino e o átomo de oxigênio do ligante SC-558 e os aminoácidos His90 e Leu352 no sítio ativo da COX-2	82
Figura 28 -	Piroxicam, derivado oxicam, inibidor não seletivo da COX	82
Figura 29 -	Modo de ligação do piroxicam ao sítio ativo da COX-2.	83

	Principais ligações de hidrogênio (em amarelo) formadas com os aminoácidos Ser530 e Val523	
Figura 30 -	LPSF/GQ-22, derivado da série LPSF/SF, candidato a agente antiinflamatório	83
Figura 31 -	Perfil de ligação do LPSF/GQ 22 ao sítio ativo da COX-2. Principais ligações de hidrogênio (em amarelo) formadas com o oxigênio do substituinte p-metóxi do grupamento arilideno e o aminoácido Glu343.	84
Figura 32 -	Modo de ligação do LPSF/SF-17 ao sítio ativo da COX-2. Principais ligações de hidrogênio (em amarelo) formadas entre os átomos de oxigênio dos substituintes 3,5-metóxi do grupamento arilideno com os aminoácidos Glu343 e Arg288 e, entre o substituinte nitro do grupamento benzílico com os aminoácidos His323, Tyr473 e Ser289	85
Figura 33 -	Modo de ligação dos compostos LPSF/GQ-22, LPSF/SF 17 e SC-558 ao sítio ativo da COX-2 (em vermelho)	86
Figura 34 -	Modo de ligação dos compostos LPSF/SF-13 (roxo) e rosiglitazona (azul) sobrepondo-se simultaneamente no sítio ativo do complexo PPAR γ .	89
Figura 35 -	Modo de ligação dos compostos LPSF/SF-13 (laranja) e rosiglitazona (azul) sobrepondo-se simultaneamente no sítio ativo do complexo PPAR γ .	89

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 -	Metabolismo do ácido araquidônico e classes de inibidores 27 usados clinicamente
Esquema 2 -	Diagrama de síntese dos derivados 5-arilideno-3-(4-metil-44 benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF)
Esquema 3 -	Preparação da tiazolidina-2,4-diona a partir do ácido 45 monocloraacético e da tiouréia
Esquema 4 -	Reações de condensações de Knoevenagel para obtenção 46 dos ésteres cianocinâmicos
Esquema 5 -	Mecanismo reacional da adição de Michael conduzindo aos 47 derivados 5-arilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ e LPSF/SF)
Esquema 6 -	Principais fragmentações dos derivados LPSF/GQ-11 e 62 LPSF/SF-10
Esquema 7 -	Principais fragmentações dos derivados LPSF/GQ-22 e 63 LPSF/GQ-23
Esquema 8 -	Principais fragmentações do derivado LPSF/SF-11 64
Esquema 9 -	Principais fragmentações dos derivados LPSF/SF-13 e 65 LPSF/SF-15
Esquema 10 -	Principais fragmentações dos derivados LPSF/SF-17 e 66 LPSF/SF-18
Esquema 11 -	Principais fragmentações dos derivados LPSF/SF-19, 67 LPSF/SF-20, LPSF/SF-23 e LPSF/SF-24

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1 -	Características dos derivados 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ)	53
Tabela 2 -	Características dos derivados 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF)	54
Tabela 3 -	Características dos derivados 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)	55

	tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF)	
Tabela 4 -	Frequências de absorção no infravermelho dos derivados 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF) (cm ⁻¹)	57
Tabela 5 -	Deslocamentos Químicos (δ) dos derivados 5-arilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ e LPSF/SF)	58
Tabela 6 -	Atividade Antiinflamatória apresentada pelos derivados das séries LPSF/SF e LPSF/GQ com respectivas doses em mg/Kg de peso corpóreo do camundongo. Os valores apresentados são significativos para o intervalo de confiança de 95% (ANOVA, teste de Bonferroni)	74
Tabela 7 -	Resultados de “docking” dos ligantes das séries LPSF/GQ, LPSF/SF, e piroxicam na COX-2	85
Tabela 8	Resultados de “docking” dos ligantes das séries LPSF/GQ, LPSF/SF e rosiglitazona.	88
Gráfico 1 -	Percentual de Inibição da migração celular dos derivados 5-benzilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF). O percentual de inibição foi calculado de acordo com a equação: Atividade antiinflamatória % = $(m - m'/m) \times 100$	77
Gráfico 2 -	Percentual de Inibição da migração celular dos derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ). O percentual de inibição foi calculado de acordo com a equação: Atividade antiinflamatória % = $(m - m'/m) \times 100$	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HEPTE	Ácido 5S-hidroperóxi-6,8- <i>trans</i> -11,14- <i>cis</i> -eicosatetraenóico
5-LOX	5-Lipoxigenase
AA	Ácido araquidônico
Ala	Alanina
Arg	Arginina
BLT1 / BLT2	Receptores clonados para leucotrienos B ₄
CisLT1 / CisLT2	Receptores para cisteinil leucotrienos
Cis-LTs	Cisteinil leucotrienos
COX	Ciclooxygenase
D	Dubleto
DAINE	Droga antiinflamatória não-esteroidal
Dd	Duplo dibleto
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido duterado
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
FIH-1 α	Fator de indução de hipóxia 1 α
FNT- α	Fator necrose tumoral α

FRDE	Fator de relaxamento derivado do endotélio
Gly	Glicina
GPIT	Grupo de Pesquisa em Inovação Terapêutica (GPIT) / UFPE
His	Histidina
HTS	High Throughput Screening – análise em batelada
IAP-1	Inibidor ativador de plasminogênio tipo 1
IFN γ	Interferon γ
IL	Interleucina
iNOS	Óxido nítrico sintase induzida
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
Leu	Leucina
LTs	Leucotrienos
LPSF	Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos
M	Múltiplo
PCR	Proteína C-reativa
PGs	Prostaglandinas
Phe	Fenilalanina
PLA ₂	Fosfolipase A ₂
P.M.	Peso Molecular
PMN	Neutrófilos polimorfonucleares
PPARs	Receptor proliferador-ativador de peroxissomos
PPRE	Elementos PPAR-responsivos
R.f.	Razão de frente
RMN ¹ H	Ressonância magnética nuclear
S	Simpleto
Ser	Serina
SNC	Sistema nervoso central
T	Tripleto
TXA ₂	Tromboxano A ₂
TZDs	Tiazolidinonas
Tyr	Tirosina
Val	Valina

RESUMO

Os derivados tiazolidínicos, grupo de moléculas estruturalmente relacionadas caracterizados pelo anel tiazolidínico, são extensamente estudados devido às suas diferentes atividades biológicas: antimicrobiana, antineoplásica, antidiabética e inibidora da aldose redutase. Estudos recentes têm demonstrado o potencial dos derivados tiazolidínicos em inibir a resposta inflamatória, caracterizada pela liberação de diferentes mediadores endógenos pró-inflamatórios (prostaglandinas e leucotrienos), a partir da conversão do ácido araquidônico pelas enzimas ciclooxigenase e lipoxigenase. As tiazolidinadionas também têm ação no receptor nuclear PPAR γ . Neste trabalho, descrevemos a síntese e as características físico-químicas de novos derivados tiazolidinônicos-3,5-dissubstituídos das séries químicas LPSF/GQ e LPSF/SF, obtidos a partir da reação de adição de Michael entre a 3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-1) ou a 3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-1) com derivados 3-aryl-2-ciano-acrilatos de etila substituídos (LPSF/IP). Todos os compostos sintetizados tiveram suas estruturas químicas elucidadas por espectroscopia de infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H) e espectrometria de massas (MS). Adicionalmente, investigamos a atividade antiinflamatória de compostos da série LPSF/SF e compostos da série LPSF/GQ no teste do bolsão de ar induzido por carragenina em camundongos. Os resultados demonstraram que os substituintes do anel arilideno apresentam uma importante contribuição na inibição da migração de leucócitos polimorfonucleares para o local da inflamação. O derivado 5-(3-bromo-4-metoxi-arilideno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF15) apresentou um nível de inibição da migração de PMN de 78,21%, com um perfil de atividade superior ao piroxicam, fármaco utilizado como padrão. Os cálculos de modelagem molecular sugerem que o provável mecanismo antiinflamatório dos derivados arilideno-tiazolidínicos estudados seja mediado via PPAR γ .

Palavras-chave: Síntese de tiazolidinadiona; Atividade antiinflamatória; Química medicinal

ABSTRACT

The thiazolidine derivatives, group of structurally related compounds characterised by a thiazolidinic ring, are studied widely due to their different biological activities: antimicrobial, anticancerous, antidiabetic, antidiabetic and aldose reductase inhibitor. Recently, different studies have shown the potential of thiazolidinics derivatives in the inhibition of the inflammatory response, characterized by the liberation of pró-inflammatory endogenous mediators (prostaglandins and leukotrienes), starting from the conversion of the arachidonic acid mediated by enzymes cyclooxygenase and lipoxygenase. Thiazolidinediones also has action in nuclear PPAR γ . In the work, we described the synthesis and physicochemical features of a new thiazolidinics-3,5-disubstituted derivatives of the series LPSF/GQ and LPSF/SF, obtained starting from the Michael addition reaction among the 3-(4-methyl-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione (LPSF/GQ-1) or to 3-(4-nitrobenzyl)-thiazolidine-2,4-dione (LPSF/SF-1) with substituted derivates of ethyl 3-aryl-2-cyano-acrylates (LPSF/IP). All the synthesized compounds had their chemical structures elucidated by infrared spectroscopy (IR), nuclear magnetic resonance (^1H NMR) and mass spectroscopy (MS). Additionally, we investigated the anti-inflammatory activity of compounds of the series LPSF/SF and compounds of the series LPSF/GQ in the air-pouch test induced by carrageenan in mouse. The results showed that the substituents in the arilydene group present a important chemical contribution in the inhibition of migration of polymorphonuclear leukocytes (PMN) to the sites of inflammation. The 5-(3-bromo-4-methoxy-aryliden)-3-(4-nitro-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione (LPSF/SF15) derivative showed an inhibition level of migration of PMN of 78,21% with higher activity profile to the piroxicam, drug used as pattern. The calculations of molecular modelling suggest that the probable antiinflammatory mechanism of the studied arilidene-thiazolidinones is mediated through PPAR γ .

Key - words: Synthesis of thiazolidinedione; Antiinflammatory activity; Medicinal chemistry



INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A inflamação, resposta fisiológica do organismo desencadeada por um trauma ou infecção, devido à sua complexidade e diversidade de mediadores fisiopatológicos envolvidos, pode ser tratada por diferentes abordagens terapêuticas. Drogas antiinflamatórias não-esteroides (DAINEs), família estruturalmente não homogênea de compostos, têm sido amplamente utilizadas no tratamento das diferentes doenças inflamatórias, dor e febre (PAVLOV e TRACEY, 2005; OTTANÀ et al., 2005).

A descoberta e desenvolvimento de novos agentes farmacologicamente ativos é um processo dinâmico complexo, multidisciplinar, prolongado e de elevado custo. Fundamentalmente, a descoberta de novos fármacos envolve a identificação e caracterização de novos alvos biológicos, síntese e otimização estrutural de moléculas-protótipos, caracterização físico-química, análise destas moléculas frente a diferentes atividades biológicas *in vitro* e/ou *in vivo* para validação do conceito terapêutico, assim como, estudos de toxicidade, além de avaliação de propriedades farmacocinéticas (PANCHAGNULA e THOMAS, 2000; ALVAREZ, 2004).

O reconhecimento molecular tem sido a base para as estratégias fundamentadas no mecanismo de ação farmacológico pretendido. Este processo tem início com a escolha do alvo farmacológico, representado por uma biomacromolécula – enzima ou receptor. O conhecimento da topografia molecular tridimensional (3D) do receptor, especialmente do sítio de interação, permite o desenho de inibidores enzimáticos ou de antagonistas/agonistas de receptores, através de processos de complementaridade molecular planejada. Quando não se conhece a estrutura do receptor-alvo, a estratégia mais empregada fundamenta-se na variação da similaridade molecular do agonista natural, de forma que se identifique um análogo ativo, reflexo de suas propriedades farmacodinâmicas, que direcionam seu reconhecimento molecular pelo receptor-alvo (BARREIRO et al., 2002).

Em 1971, J.R. Vane propôs que o mecanismo de ação da aspirina e outras DAINes está relacionado à inibição da biossíntese de prostaglandinas, mediadores fisiológicos que participam da resposta inflamatória.

Desde então, vários agentes antiinflamatórios têm sido planejados e sintetizados,

como inibidores da ciclooxygenase (COX), enzima-chave responsável pela biossíntese de prostaglandinas (PGs) a partir do precursor ácido araquidônico (AA) (BOTTING, 2006; SIMMONS, 2006).

A contínua e crescente necessidade de novos e melhores fármacos antiinflamatórios tem conduzido a indústria farmacêutica a aplicar tecnologias modernas como o HTS (High Throughput Screening), possibilitando a análise de centenas de milhares de compostos frente a diferentes alvos biológicos (ALVAREZ, 2004).

Adicionalmente, os métodos baseados na química combinatória conduzem à síntese e identificação de diferentes compostos, constituindo uma valiosa ferramenta na redução dos custos e do tempo necessários ao desenvolvimento de coleções de compostos-protótipos (CHISHOLM et al., 2003).

Paralelamente, o advento da química computacional tem contribuído para o planejamento molecular de novos agentes farmacologicamente ativos, através dos métodos de modelagem molecular associados a métodos quimiométricos, os quais são amplamente utilizados em sistemas de informação química, no planejamento da síntese e no desenvolvimento de bancos de dados em reações químicas (MONTANARI, 2000).

Deste modo, os diferentes métodos aplicados a Química Farmacêutica e Medicinal têm sido a alavanca da moderna pesquisa farmacêutica no processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos, fundamentando-se, simplificada e, na tríade: síntese orgânica – farmacologia – química computacional (MONTANARI, 2000).



2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Contribuir com a pesquisa de novos agentes antiinflamatórios, melhorando o tratamento de diferentes desordens inflamatórias e possibilitando o desenvolvimento de alternativas terapêuticas mais eficazes que as atuais drogas antiinflamatórias.

2.2 Específicos

Obter novos derivados tiazolidinônicos-3,5-dissubstituídos das séries LPSF/GQ e LPSF/SF, por meio de N-alkilação e de reações de adição de Michael, entre a 3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-1) ou a 3-(4nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-1) com derivados 3-aryl-2-cianoacrilatos de etila substituídos (LPSF/IP);

Comprovar as características estruturais dos compostos sintetizados pelos métodos espectroscópicos de infravermelho e ressonância magnética nuclear de hidrogênio e espectrometria de massas;

Avaliar a ação antiinflamatória dos derivados tiazolidinônicos-3,5dissubstituídos das séries LPSF/GQ e LPSF/SF em modelos experimentais de inflamação aguda;

Analisar a estrutura conformacional dos representantes da série LPSF/GQ e LPSF/SF, pelo método AM1; e explorar, por meio de programa de “docking”, o modo de ligação dos representantes das séries LPSF/GQ e LPSF/SF, em diferentes alvos, tais como o complexo enzimático COX-2 e o PPAR γ .



3. REVISÃO DA LITERATURA

A inflamação, resposta do organismo frente a um estímulo infeccioso, traumático ou auto-imune, caracteriza-se por complexas interações de moléculas mediadoras pró- e anti-inflamatórias, ocasionando vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, migração celular, lesões teciduais, seguidas do restabelecimento dos tecidos danificados pelo trauma ou pela resposta do organismo. Deste modo, temos como resultado imediato da resposta inflamatória, os sinais clássicos comuns às várias doenças inflamatórias: eritema, edema, hiperalgesia e a perda de função (Figura 1) (NATHAN, 2002; PAVLOV e TRACEY, 2005).

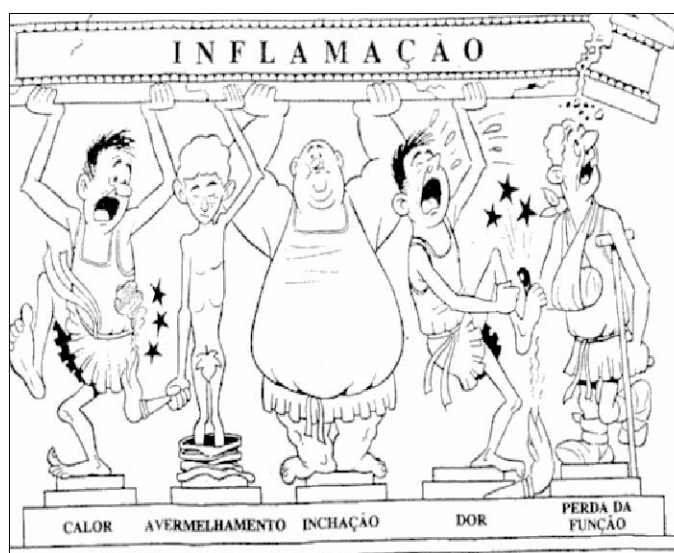


Figura 1 - Sinais Clássicos da Inflamação. Disponível em:
<<http://www.biomaterial.com.br/inflama/Image120.gif>>

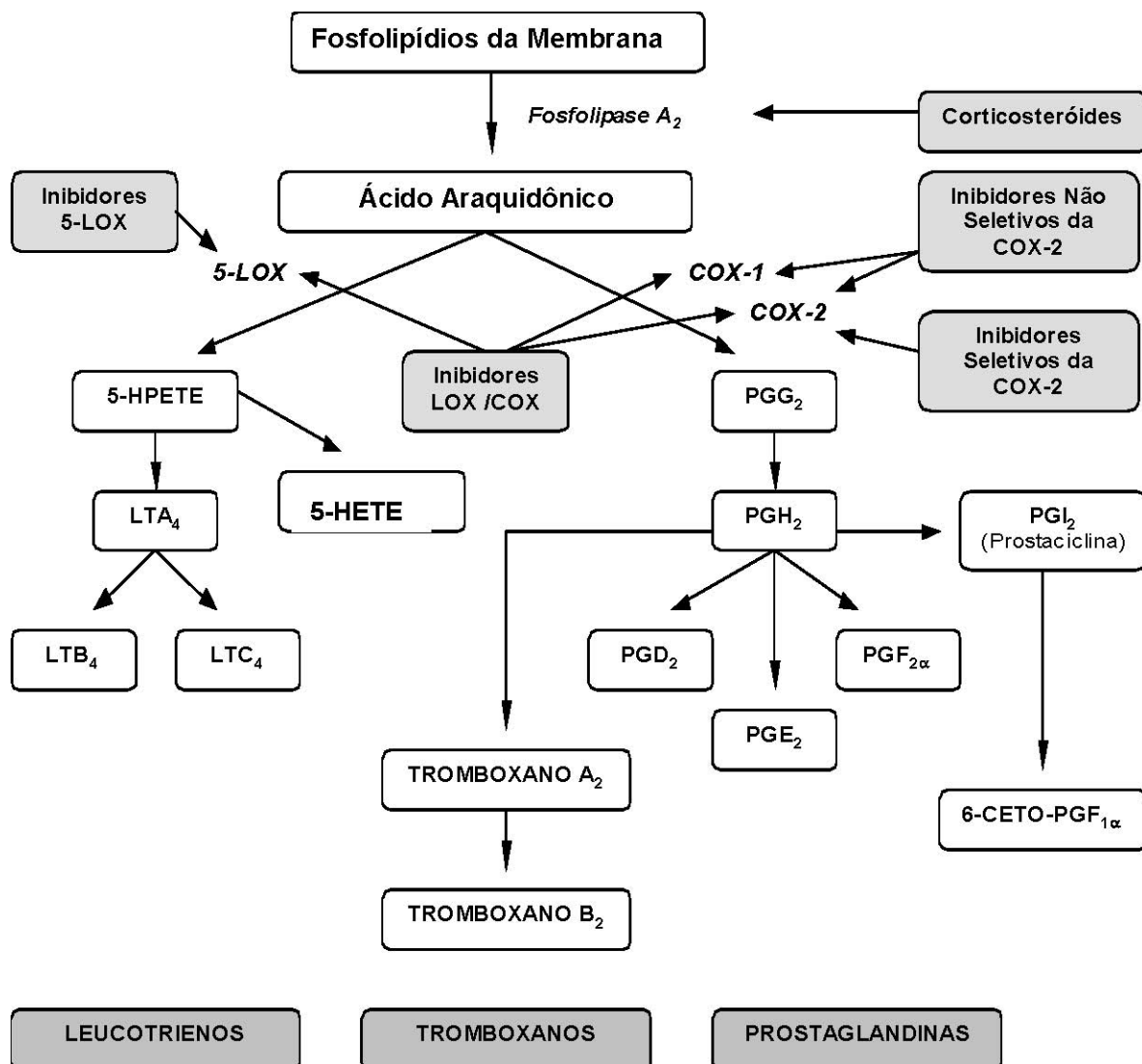
A capacidade de desencadear uma resposta inflamatória é um mecanismo evolutivo importante ao organismo humano que normalmente conduz a recuperação e cura do tecido traumatizado. Porém, caso estas etapas não ocorram adequadamente, esta resposta pode levar a danos teciduais resultados da liberação de diferentes mediadores pró-inflamatórios por células do sistema imune. A resposta inflamatória, simplificada, baseia-se na reação de alerta, traduzida pela série de decisões desencadeadas pela liberação de mediadores inflamatórios a partir da integração de moléculas microbianas no tecido traumatizado; no recrutamento, instrução e envio de células do sistema imune; na morte dos microorganismos e células hospedeiras

infectadas por estes; na liquefação do tecido circunvizinho com o objetivo de prevenir a metástase microbiana; e na cura dos tecidos danificados pelo trauma ou pela resposta do hospedeiro. A ausência de controle ou bloqueio da resposta inflamatória está relacionada como o desenvolvimento de várias doenças como asma crônica, artrite reumatóide, osteoartrite, dentre outras (NATHAN, 2002; SIMMONS, 2006; NATHAN, 2006).

O aumento na prevalência das doenças inflamatórias tem ocasionado um impacto econômico significativo para pacientes e sistemas de saúde em todo o mundo, e não incluem os chamados efeitos adversos psicossociais relacionados a qualidade de vida de milhões de pessoas, tais como a perda de oportunidades de empregos ocasionadas pela inaptidão ao trabalho e os altos custos médicos para as famílias destes pacientes (BUCKWALTER e MARTIN, 2006).

As moléculas mediadoras da inflamação mais freqüentemente investigadas são os compostos eicosanóides (prostanóides e leucotrienos), citocinas, fatores de crescimento tumoral, óxido nítrico, dentre outras (VAN KEMPEN, VISSER e COUSSENS, 2006; WERNER e ALZHEIMER, 2006; SARZI-PUTTINI et al., 2005).

Nas células do organismo humano, com exceção dos glóbulos vermelhos do sangue, vários ácidos graxos essenciais, tais como, o ácido α -linolênico e o ácido α -linoléico, obtidos a partir da dieta são convertidos a ácido araquidônico e incorporado a estrutura da membrana celular. Na biossíntese das prostaglandinas, o ácido araquidônico participa como substrato-chave obtido dos fosfolipídios da membrana celular a partir da ação enzimática da fosfolipase A₂. Diferentes processos infecciosos, inflamatórios, imunógenos, irritantes químicos, assim como traumas físicos podem estimular a liberação de ácido araquidônico mediado pelas fosfolipases (STAMP, JAMES e CLELAND, 2005; MILLER, 2006; VANE e CORIN, 2003).



Esquema 1 – Metabolismo do ácido araquidônico e classes de inibidores usados clinicamente (Adaptado de CELOTTI e DURAND, 2003)

Recentes estudos demonstram que as diferentes isoformas da ciclooxygenase (COX) diferem em sua expressão, localização tecidual, e indução durante inflamação. A COX-1 é expressa constitutivamente sob condições basais na maioria das células, principalmente em células endoteliais vasculares, plaquetas, túbulos coletores do rim, estômago e músculo liso. A expressão tecidual da COX-1 é consistente com suas funções fisiológicas, visto que, participa da biossíntese de várias prostaglandinas responsáveis pela regulação homeostática na maioria dos sistemas do organismo humano (WILLOUGHBY, MOORE e COLVILLE-NASH, 2000; VANE e CORIN, 2003).

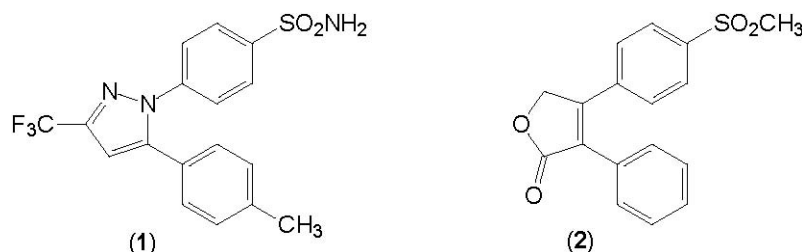
Adicionalmente, os níveis de COX-2 são reduzidos ou praticamente indetectáveis nos tecidos normais em mamíferos, porém mostram-se elevados nos estados inflamatórios clínicos. A expressão tecidual da COX-2 ocorre por meio de diferentes estímulos inflamatórios, aumento da replicação e diferenciação de células do sistema

imunológico, assim como, elevada expressão de fatores de crescimento e citocinas (MILLER, 2006).

Pouco se conhecia sobre o real mecanismo de ação das drogas antiinflamatórias como a aspirina. Algumas evidências demonstravam que elas produziam efeitos antiinflamatórios que eram qualitativamente e quantitativamente diferentes dos antiinflamatórios esteroidais, e que sua ação analgésica era de natureza diferente que a produzida pelos compostos opióides. Em 1971, Vane demonstra que o efeito antiinflamatório da aspirina ocorre devido ao bloqueio da ciclooxigenase, enzima que catalisa a biossíntese das prostaglandinas a partir do ácido araquidônico. Ampliam-se, deste modo, os horizontes para investigação futura da compreensão da bioregulação e implicações terapêuticas da fisiologia das prostaglandinas (VANE, 1971; BOTTING, 2006).

Este complexo processo, conduz a biossíntese de prostaglandinas pró-inflamatórias, tais como: a PGE₂ que causa vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e hiperalgesia; o TXA₂ que induz a síntese de diferentes citocinas inflamatórias, interleucina 1 β (IL-1 β) e o fator necrose tumoral α (FNT- α), pelos fagócitos mononucleares; resultando no que conhecemos como sinais cardinais e sintomas clínicos comuns as doenças inflamatórias: dor, calor, vermelhidão, inchaço, e perda de função (STAMP, JAMES e CLELAND, 2005).

Deste modo, é conveniente sugerir que as ações das drogas antiinflamatórias não-esteróides (DAINEs) ocorrem devido a inibição da COX-2, considerando que os efeitos colaterais não desejados, como irritação no estômago, ocorre devido a inibição de COX-1 (WILLOUGHBY, MOORE e COLVILLE-NASH, 2000; PALASKA et al., 2002).



Com o advento do celecoxib (1) e rofecoxib (2), classe de inibidores seletivos da COX-2, estruturalmente caracterizados pelos anéis heterociclos diaril substituídos, iniciou-se uma nova era no tratamento das doenças inflamatórias como a artrite reumatóide e osteoartrite (Figura 2) (FIORUCCI et al., 2001; OTTANÀ et al., 2005).

Figura 2 – Celecoxib (1) e rofecoxib (2), inibidores seletivos da COX-2

Entretanto, o risco de infarto do miocárdio e eventos cardiovasculares trombóticos tem sido associado ao uso de alguns inibidores seletivos da COX-2. Estes eventos são atribuídos ao nível reduzido da prostaciclina vasodilatatória (PGI₂) e ao elevado nível de TXA₂, principais responsáveis pela recente retirada do rofecoxib (Vioxx[®]) e valdecoxib (Bextra[®]) do mercado (CHEN et al., 2006).

A biossíntese de leucotrienos catalisada pela 5-lipoxigenase (5-LOX), enzima encontrada em diferentes células que participam da resposta inflamatória, ocorre em duas etapas: a inserção do oxigênio no C-5 do ácido araquidônico produzindo o ácido 5S-hidroperóxi-6,8-*trans*-11,14-*cis*-eicosatetraenóico (5HPETE) e a desidratação subsequente deste composto originando o leucotrieno epóxido LTA₄. Este composto instável é em seguida convertido pela enzima hidrolase LTA₄ em leucotrieno B₄ (LTB₄) ou pode ser conjugado com glutathione pela enzima sintase leucotrieno C₄ formando leucotrieno C₄ (LTC₄). O LTC₄ poderá ser metabolizado mais adiante a leucotrieno D₄ (LTD₄) e/ou leucotrieno E₄ (LTE₄). Os LTC₄, LTD₄, e LTE₄ ou cisteinil leucotrienos (cis-LTs), são agentes broncoconstritores que participam da patofisiologia da asma, como também, induzem a síntese e liberação de outros mediadores pró-inflamatórios como interleucina (IL)-8 e fator ativador de plaquetas (CELOTTI e DURAND, 2003; FIORUCCI et al., 2001).

A distribuição específica das enzimas que formam leucotrienos pode ser relevante na compreensão da patofisiologia das doenças inflamatórias: neutrófilos possuem a enzima hidrolase LTA₄ e gera LTB₄, um composto potencialmente ativo que aumenta a rolagem, adesão e extravasação de leucócitos; eosinófilos geram preferencial LTC₄, um composto bronscoconstrictor e vasoativo (CELOTTI e DURAND, 2003).

Níveis elevados de LTB₄ no sangue e líquido das articulações de pacientes com artrite reumatóide e na mucosa de pacientes com colites ulcerativas ou doença de Crohn, representam uma evidência significativa relacionada a participação deste mediador na resposta inflamatória (NAVEAU, 2005; FIORUCCI et al., 2001).

Os leucotrienos exercem suas ações biológicas ao ligar-se e ativar receptores de superfície específicos, com diferentes afinidades e expressão celular. Atualmente estão clonados dois receptores para LTB₄ (BLT₁ e BLT₂). A ativação do receptor alvo de LTB₄ em ratos está associado com as fases vasculares e celulares da resposta inflamatória

(CELOTTI e DURAND, 2003; NAVEAU, 2005).

Pelo menos, dois tipos de receptores já são reconhecidos para os cis-LTs (CisLT₁ e CisLT₂), amplamente distribuídos em tecidos e células inflamatórias. A maioria das ações dos cis-LTs parece ser mediada pela ativação do receptor CisLT₁ e inclui a contração das vias aéreas e o aumento da permeabilidade vascular (CELOTTI e DURAND, 2003).

Várias citocinas pró- e antiinflamatórias são secretadas por células do sistema imunológico a partir da ação moduladora de neurotransmissores adrenérgicos, secretados pela medula adrenal e liberados por axônios de nervos simpáticos (PAVLOV e TRACEY, 2005).

Dentre as diferentes citocinas, dado sua importância biológica, destaca-se o FNT- α , citocina sintetizada por células da linhagem macrófago-monócito, que participa da etapa inicial da resposta inflamatória local, funcionando no controle da invasão microbiana e estimulando os processos de cicatrização (VAN KEMPEN, VISSER e COUSSENS, 2006).

Algumas proteínas diméricas como as activinas, membros da família de fatores de crescimento TGF- β , tem sido relacionada a indução da expressão de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β e FNT- α , assim como, PGE₂ e TXA₂. Várias evidências demonstram que a atividade pró-inflamatória esta relacionada ao efeito pró-migratório observado em monócitos e na indução da expressão de metaloproteinase por macrófagos, estimulando sua migração e infiltração através da membrana basal no estado inflamatório (WERNER e ALZHEIMER, 2006).

Outros estudos têm relacionado o desenvolvimento de diferentes doenças inflamatórias ao FNT- α , tais como, a modulação da síntese hepática elevada de proteína C-reativa (PCR), conduzindo a disfunção endotelial e mortalidade cardiovascular; degradação significativa da cartilagem na osteoartrite; aumento na atividade invasiva e sobrevivência das células neoplásicas; redução da atividade da tirosina quinase no receptor da insulina, impedindo a captação da glicose mediada pela insulina no músculo esquelético, resultando em efeitos prejudiciais na sensibilidade a insulina e possíveis complicações diabéticas crônicas (SARZIPUTTINI et al., 2005; GONZALEZ-GAY, GONZALEZ-JUANATEY e MARTIN, 2005).

Muitas estratégias experimentais e clínicas para o tratamento das doenças inflamatórias têm como alvo as citocinas pró-inflamatórias, por exemplo, as abordagens terapêuticas anti-FNT, aplicadas prosperamente no tratamento da artrite reumática e a doença de Crohn (PAVLOV e TRACEY, 2005).

A presença de infiltrado leucocitário e a concentração reduzida de oxigênio são características comuns a tecidos inflamados, infectados ou com tumores. O fator de indução de hipóxia 1 α (FIH-1 α) regula a expressão de genes-alvos relacionados aos baixos níveis de oxigênio e aspectos chave da resposta inflamatória tais como o rubor e edema em tecidos lesionados, assim como a capacidade dos leucócitos em migrar para estes locais. Adicionalmente, o FIH-1 α pode aumentar a produção de óxido nítrico (NO) (NATHAN, 2003).

Níveis elevados de óxido nítrico (NO) contribuem para a atividade do fator de relaxamento derivado do endotélio (FRDE) e causa vasodilatação por meio do relaxamento do músculo liso vascular, via estimulação da guanilato ciclase solúvel. O NO é secretado por células endoteliais vasculares *in vitro* em resposta a uma variedade de substâncias como a bradicinina, histamina e 5hidroxitriptamina; e em macrófagos ativados por lipopolissacarídeos ou citocinas. Deste modo, o NO endógeno produzido no local de uma reação inflamatória aguda, modula a formação do edema pela redução do fluxo sanguíneo local (IALENTI et al., 1992; NATHAN, 2003).

Várias evidências demonstram a participação do NO como mediador inflamatório importante na patogênese da artrite reumatóide. Em células mononucleares do sangue periférico de pacientes com artrite reumatóide, observa-se a expressão aumentada da NO sintase induzida, ocasionando elevação nos níveis de NO. O NO é produzido constitutivamente pelas sintases neuronal ou endotelial (eNOS), e em altas concentrações pela iNOS após estimulação por uma variedade de citocinas pró-inflamatória (GONZALEZ-GAY, GONZALEZ-JUANATEY e MARTIN, 2005).

As DAINES, base do tratamento das doenças inflamatórias, estão entre as drogas mais utilizadas mundialmente. Entretanto, vários inibidores duais da COX e 5-LOX que se encontra em desenvolvimento tem se mostrado como uma alternativa promissora as DAINES clássicas. A maioria dos efeitos adversos dos inibidores da COX estão relacionados a biossíntese de leucotrienos devido a biodisponibilidade de ácido araquidônico para a via 5-LOX ou devido a redução das prostaglandinas vasodilatatória

PGE₂ e PGI₂ que tem ação protetora das vias aéreas (FIORUCCI et al., 2001)

Baseado nestas evidências sugere-se que as drogas que inibem simultaneamente a COX e 5-LOX (inibidores duais da LOX/COX) representam uma abordagem atraente na prevenção e controle de diferentes doenças inflamatórias.

Recentemente, o composto S-2474 (**3**) (Figura 3), um inibidor dual da COX/5-LOX com inibição seletividade da COX-2, demonstrou excelente atividade antiinflamatória em ratos, sem efeitos ulcerogênicos (FIORUCCI et al., 2001).

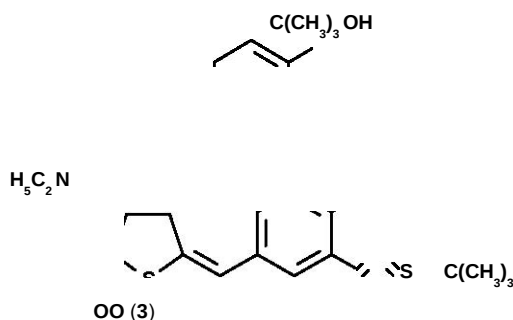


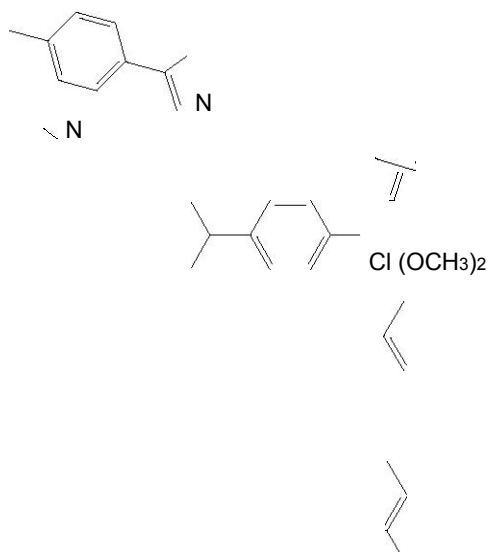
Figura 3 – S-2474 (**3**), inibidor dual da COX/5-LOX

O ER-34122 (**4**), um inibidor dual da COX/5-LOX, tem demonstrado um elevado efeito antiinflamatório em camundongos, quando comparado com a indometacina. Estes dados são confirmados pela capacidade do ER-34122 em suprimir a infiltração de neutrófilos polimorfonucleares (PMN), edema tecidual, e multiplicação de células sinoviais que aparecem na fase inicial da artrite em camundongos MRL/l (Figura 4) (FIORUCCI et al., 2001).

OCH₃

/

CH₃O



CONH₂

(4) Figura 4 – ER-34122 (4), inibidor dual da

COX/5-LOX

O tepoxalin (5), um composto inibidor dual da COX/LOX, inibe a produção de LTB₄ gástrica e suprime a biossíntese de outros mediadores da resposta inflamatória como diferentes PGs, IL-2, IL-6, e FNT- α . Adicionalmente, potente atividade analgésica tem sido observada no ensaio de contração abdominal induzido por ácido acético em camundongos (Figura 5) (FIORUCCI et al., 2001).

O CH₃ N



Cl

(5) Figura 5 – Tepoxalin (5), inibidor dual da

COX/LOX

O licofelona (**6**), um inibidor dual da COX1-2/5-LOX, atualmente submetido a ensaios clínicos de Fase III, demonstrou ação antiinflamatória e redução da velocidade de progressão da osteoartrite, reduzindo a produção de PGE₂, LTB₄ e IL-1 β (Figura 6) (NAVEAU, 2005; CHEN et al., 2006).

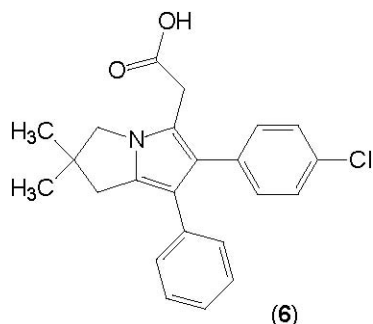


Figura 6 – Licofelona (**6**), inibidor dual da COX1-2/5-LOX

Uma nova classe de compostos híbridos tem sido projetada como inibidores duais da COX/LOX. Estes compostos apresentam um grupamento oxima ou um substituinte N-hidroxycarbamato inibitório da LOX acoplado ao inibidor seletivo da COX-2 rofecoxib. Ensaios de inibição enzimática *in vitro*, concluíram que: (a) a incorporação do grupamento *para*-oxima no C-3 do radical fenil do rofecoxib (**2**) fornece um modelo satisfatório para o design de inibidores duais da COX e LOX, a exemplo do composto 3-[4-(1-hidróximino)-etil-fenil]-4-(4-metano-sulfonil-fenil)-2(5*H*)-furanona (**7**) que exibiu uma ótima combinação de atividades inibitórias da COX-2/5-15-LOX e (b) compostos análogos do rofecoxib que possuem um substituinte N-hidróxi-carbamatos exibiram moderada atividade inibitória COX-1/2 em conjunto com uma potente atividade inibitória da 15-LOX, devido a presença do radical alquil(aril)oxi-carbonil-N-hidróxilamino, a exemplo do composto Nfenóxi-carbonil-N-{1-[4-(4-metano-sulfonil-fenil)-2(5*H*)furanon-3il]fenil}etil

hidróxilamino (**8**) (Figura 7) (CHEN et al., 2006).

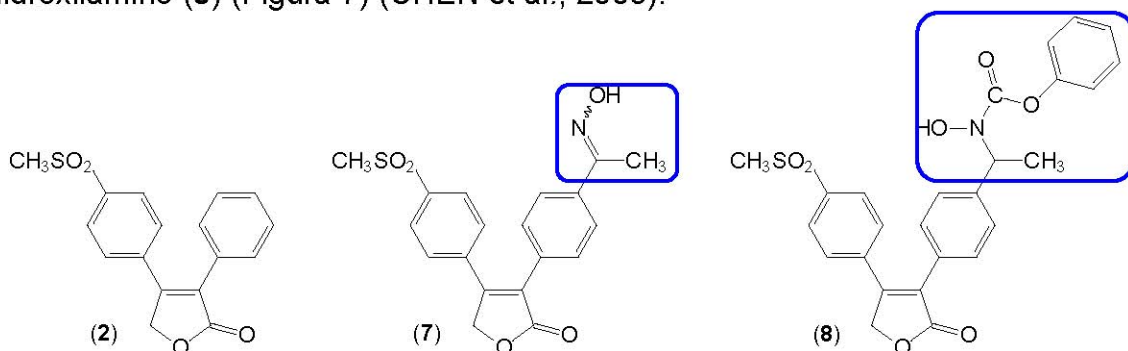


Figura 7 – Compostos híbridos inibidores duais da COX/LOX (**7** e **8**), análogos do rofecoxib (**2**)

Nas últimas décadas, os compostos heterocíclicos que apresentam o anel tiazolidínico têm sido alvos de extensos estudos químico e biológico. Dentre estes, destacam-se as tiazolidina-2,4-dionas (**9**), grupo de compostos bioisósteros da hidantoína (**10**) estruturalmente diversos, capazes de influenciar a regulação de diferentes cascatas moleculares, com implicações importantes no tratamento do câncer, doenças metabólicas, inflamatórias e neurodegenerativas (Figura 8) (BUCKINGHAM, 2005; RAKOWITZ et. al., 2006).

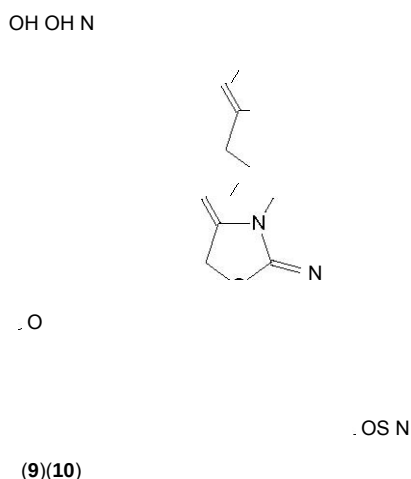


Figura 8 – Compostos bioisósteros tiazolidina-2,4-diona (**9**) e hidantoína (**10**)

Os receptores ativados pelo proliferador peroxissômico (PPAR), são membros da superfamília de receptores hormonais nucleares, responsáveis por ativar a transcrição de genes alvos ligando-se a elementos PPAR-responsivos (PPRE). Uma ampla variedade de ligantes PPAR γ tem sido identificada, incluindo ácidos graxos polinsaturados, drogas antiinflamatórias não-esteroides e derivados tiazolidínicos. A isoforma PPAR γ tem sido intensamente estudada por estar relacionada a uma variedade de funções fisiológicas e patológicas como câncer, aterosclerose, metabolismo de lipídios e diabetes tipo 2 (TSUKAMOTO et al., 2004).

Recentemente foi demonstrada a existência de um PPRE distal da região promotora da COX-2, e que o PPAR γ inibe fatores transcrpcionais, tais como, o fator- κ B nuclear e ativador proteína-1, necessários na indução da COX-2. Estas evidências sugerem uma provável ação de diferentes derivados tiazolidínicos na biossíntese de prostanóides. Adicionalmente, tem sido demonstrado que altas concentrações de TZDs (rosiglitazona ou pioglitazona) aumentam a liberação de ácido araquidônico (AA) da membrana celular a partir da inibição do processo de re-captção de AA. Este mecanismo de ação baseia-se na inibição da reação de acilação do AA livre, mediado pelas acil-CoA sintase e ou aciltransferase, disponibilizando AA e conduzindo a

subseqüente produção de prostanóides – TXA₂ e prostaglandinas (TSUKAMOTO et al., 2004).

Adicionalmente, os compostos agonistas tiazolidínicos PPAR γ reduzem a ativação de genes inflamatórios em uma variedade de tecidos e células, fornecendo a base para a utilização destas drogas terapeuticamente em doenças inflamatórias. Os agonistas tiazolidínicos PPAR γ atuam inibindo diferentes funções imunes em macrófagos; células endoteliais; linfócitos T e B e células dendríticas. Derivados tiazolidínicos também apresentam ações inibitórias a nível de sistema nervoso central (SNC), afetando diretamente células gliais e ativando células neuronais (FEINSTEIN et al., 2005).

Altas concentrações de derivados tiazolidínicos foram necessárias para reduzir a liberação de citocinas de células T ativadas. Em células endoteliais, 20100 μ M de troglitazona reduz a expressão de moléculas de adesão pró-inflamatórias e a indução dependente de interferon (IFN) γ de várias quimiocinas pró-inflamatórias (FEINSTEIN et al., 2005).

Estudos recentes têm demonstrado que derivados tiazolidínicos atuam inibindo a ativação de monócitos/macrófagos e a expressão de moléculas inflamatórias (interleucinas IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8; interferon- γ ; fator de necrose de tumor – FNT α ; óxido nítrico sintase induzida (iNOS) em diferentes tipos células *in vitro* (células endoteliais, células do cólon, linfócitos). A ação das TZDs troglitazona e rosiglitazona não inibem, mas podem promover um aumento significativo da expressão de citocinas pró-inflamatórias induzidas por FNT- α (IL6, IL-8) em células A549, OVCAR, BEAS-2B e HBEC (DESMET et al., 2005).

Nos últimos anos, uma série de derivados 2*R*,2'*R*/2*S*,2'*S* e 2*R*,2'*S*-meso 3,3'-(1,2-etanodil)-bis-[2-aril-4-tiazolidinonas], tem sido sintetizados e investigados quanto a sua atividade antiinflamatória. Vários destes compostos revelaram resultados promissores no teste de edema de pata induzido por carragenina em ratos Wistar. Dentre estes, destaca-se o isômero *meso* 3,3'-(1,2-etanodil)bis[2-(4metoxi-fenil)-4-tiazolidinona] (**11**), cujo efeito dose-dependente na terceira hora foi de 96,42% (100mg/kg) e 66,97% (50 mg/kg). Este mesmo derivado inibiu preferencialmente a COX-2, com melhores efeitos gastrointestinais quando comparados a outras DAINES (Figura 9) (VIGORITA et al., 2001)

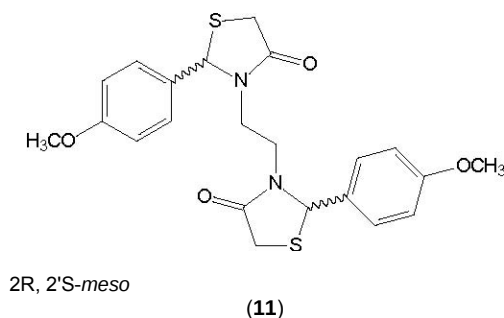


Figura 9 - Derivado 3,3'-(1,2-etanodil)-bis-[4-metoxi-2-aril-4-tiazolidinona] (**11**)

Derivados da série de 5-arilideno-2-imino-4-tiazolidinonas (**12**), potenciais candidatos a drogas antiinflamatórias, recentemente sintetizadas, foram analisadas quanto as suas características estruturais contribuindo para a atividade antiinflamatória. A introdução dos substituintes OCH₃, SCH₃, e SO₂CH₃ na posição *para* do grupo arilideno, favorece a atividade em experimentos *in vivo* e *in vitro*; a introdução do substituinte SO₂CH₃ demonstrou ser determinante para a inibição da COX-1; enquanto que, o substituinte 4-Cl, reduziu a atividade antiinflamatória *in vivo*, mantendo o grau de inibição seletiva para COX-2; a modificação do substituinte OCH₃ para posição 3, conduziu ao melhor perfil antiinflamatório alcançado (Figura. 10) (OTTANÀ et al., 2005).

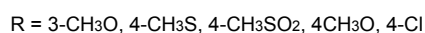
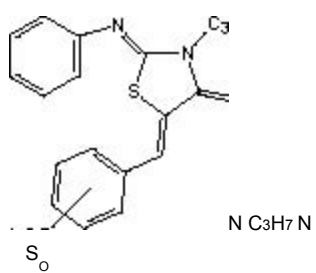
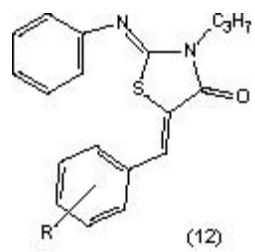


Figura 10 - Série de derivados 5-arilideno-2-imino-4-tiazolidinonas (**12**)

Estudos computacionais de “docking” com o composto 5-(4-metóxiarilideno)-2-fenil-imino-3-propil-4-tiazolidinona (**13**) demonstrou que ele liga-se ao sítio ativo da COX-2, através de pontes de hidrogênio nos resíduos de Arg 120 e Tyr. 355 e por meio de ligações de Van der Waals com os resíduos de ligação do canal, que são, His 90, Val 349, Leu 352, Ser 353, Leu 359, Tyr 385, Ala 516, Phe 518, Val 523, Gly 526, Ala 527, Ser 530, e Leu 531 (Figura11) (OTTANÀ et al., 2005).



H₃CO (13)

5-(4-metóxi-benzilideno)2-fenil-imino-3-propil-4-tiazolidinona

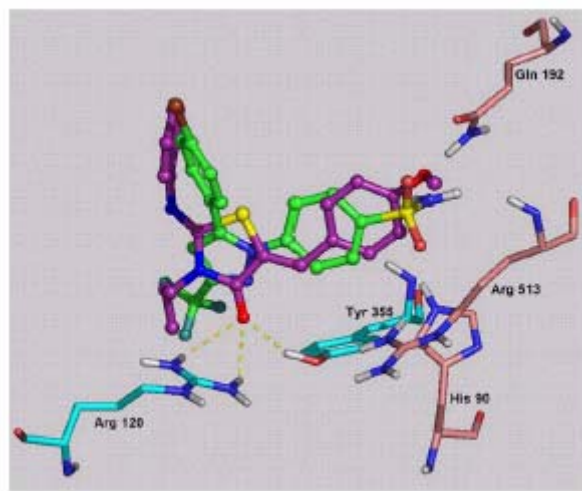


Figura 11 - Forma de ligação prevista AutoDock dos ligantes 5-(4-metóxiarilideno)-2-fenil-imino-3-propil-4-tiazolidinona (**13**) (violeta) comparado a posição cristalizada do SC-558 (verde) (adaptado de OTTANÀ et al., 2005).

As propriedades antiinflamatórias e anti-aterogênica atribuídas aos derivados tiazolidínicos representam uma alternativa terapêutica promissora no tratamento da aterosclerose comumente associadas a insulino-resistência no diabetes melito tipo 2 (PETERSEN e SHULMAN, 2006; FARHANGKHOEE et al., 2005).

Adicionalmente, dados recentes demonstram que as tiazolidina-2,4-dionas (TZDs) rosiglitazona e pioglitazona inibem a indução do inibidor ativador de plasminogeno tipo 1 (IAP-1) em células endoteliais vasculares C11 STH. O FNT α quando secretado por monócitos ou macrófagos nas paredes injuriadas dos vasos e tecido adiposo, contribui para elevar os níveis de IAP-1, marcador relacionado ao desenvolvimento da aterosclerose, desordem metabólica caracterizada pela disfunção endotelial e inflamação crônica dos vasos sanguíneos (LIU et al., 2005; KUREBAYASHI et al., 2005).

Desde 1980, a síntese, planejamento e avaliação das propriedades farmacológicas de derivados tiazolidínicos têm sido objeto de investigações dos pesquisadores do Grupo de Pesquisa em Inovação Terapêutica (GPIT) e do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos (LPSF) da Universidade Federal de Pernambuco. Empregando-se métodos fundamentados em diferentes estratégias da Química Medicinal, tem-se obtidos resultados animadores no desenvolvimento de derivados tiazolidínicos bioativos potenciais candidatos a fármacos antidiabéticos (MOURÃO, 2005), antimicrobianas (ALBUQUERQUE et al., 1999) e antiinflamatórias (UCHOA, 2004; SANTOS et al, 2005; COUTO, 2006).

Motivados pelo potencial dos derivados tiazolidínicos como agentes antidiabéticos

insulino-sensibilizantes, novos análogos da série 5-arilideno-3-(4metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona tem sido sintetizados e analisados quando ao seu perfil anti-hiperglicêmico e anti-hiperlipidêmico. A redução de 50% no nível da glicose plasmática e triglicerídeos foi observada com o derivado 5-(4-metóxiarilideno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-56) (**14**) em modelos experimentais de camundongos diabéticos induzidos por aloxano (Figura 12) (Pitta et al, Br, IP-0300997-1, 2003; MOURÃO et al., 2005).

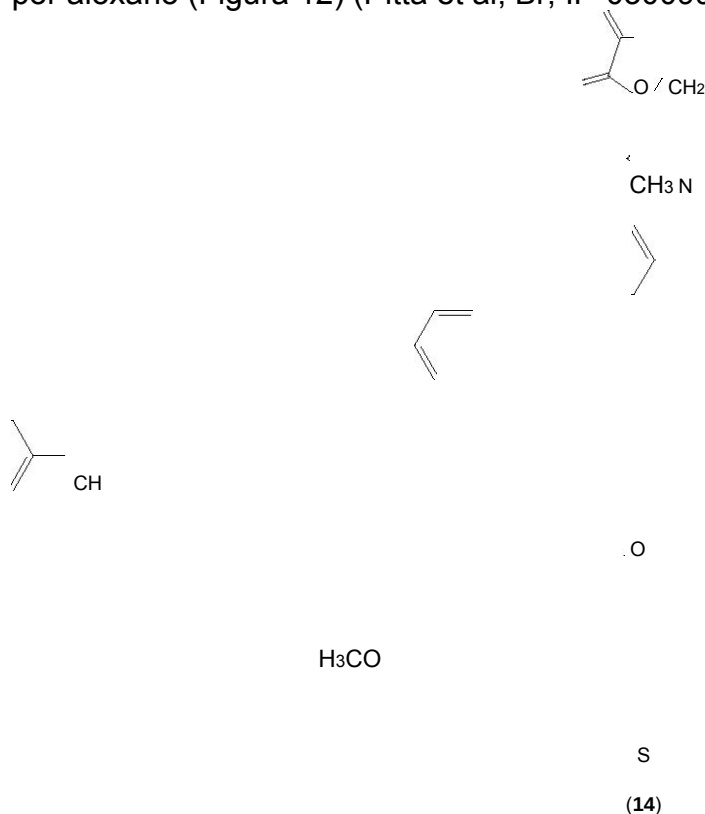


Figura 12 - Derivado 5-(4-metóxi-arilideno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-5) (**14**) com atividade anti-hiperglicêmica e anti-hiperlipidêmica.

Nos últimos anos, vários análogos da série 5-arilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona tem sido investigados quanto a sua ação antimicrobiana. Os compostos 5-(2-cloro-arilideno)-3-(4-bromo-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/CR) (**15**) e 5-(4-flúor-arilideno)-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/LY) (**16**) apresentaram CMI > 128 µg/mL frente aos microorganismos *Mycobacterium flavus* e a *Bacillus cereus* (Figura 13) (ALBUQUERQUE et al., 1999).

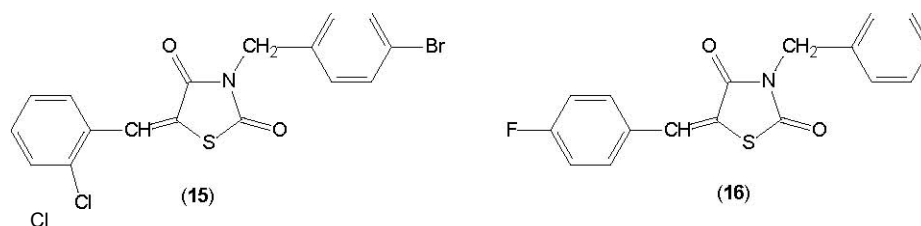


Figura 13 - Derivados 5-(2-cloro-arilideno)-3-(4-bromo-benzil)-tiazolidina-2,4diona (LPSF/CR) (**14**) e 5-(4-flúor-arilideno)-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/LY) (**15**) com

ação antimicrobiana.

Paralelamente, a atividade citotóxica também tem sido motivo de investigação para derivados 5-arilideno-tiazolidina-2,4-diona 3-substituídos. Resultados do estudo com os derivados 3-(4-flúor-benzil)-5-arilideno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/AL) (**17**) e (4-bromo-fenacil)-5-arilideno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/HQ) (**18**) demonstraram valores de $DI_{50} > 50$ mg/mL em células de carcinoma nasofaríngeo (Figura 14) (COSTA et al., 1995).

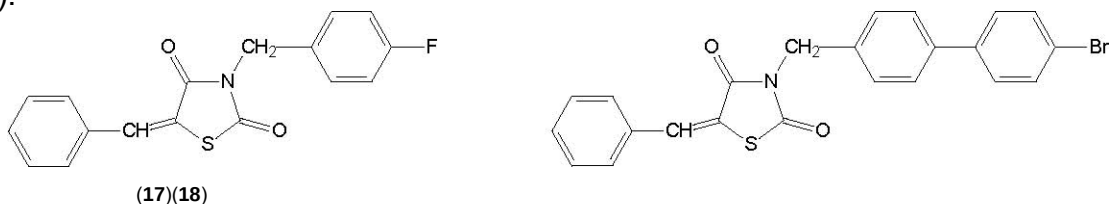
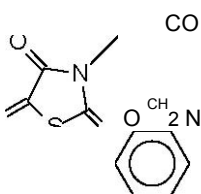


Figura 14 – Derivados 3-(4-flúor-benzil)-5-arilideno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/AL) (**17**) e (4-bromo-fenacil)-5-arilideno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/HQ) (**18**) apresentaram valores de $DI_{50} > 50$ mg/mL em células de carcinoma nasofaríngeo com atividade citotóxica.

Diferentes derivados da série 3-fenacil-tiazolidina-2,4-diona tem sido obtidos e investigados quanto a sua atividade analgésica periférica, resultando na identificação do derivado 3-(4-fenil-fenacil)-5-(4-metóxi-arilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/HP) (**19**), que exibiu atividade analgésica na dose de 250 mg/kg, por via oral, em ratos (Figura 15) (LIMA et al., 1998).



H₃CO

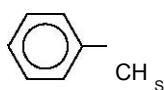
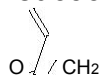


Figura 15 - Derivado 3-(4-fenil-fenacil)-5-(4-metóxi-arilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/HQ) (**19**) com atividade analgésica periférica.

Adicionalmente, derivados da série 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona recentemente sintetizados têm sido extensamente analisados quanto ao seu potencial antiinflamatório, a exemplo do derivado 5-(4-metil-sulfonil-arilideno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-23) (**20**), cuja ação antiinflamatória investigada no modelo de bolsão de ar induzido por carragenina, reduziu em 60% a migração leucocitária para o local da inflamação (Figura 16) (COUTO, 2006).



N



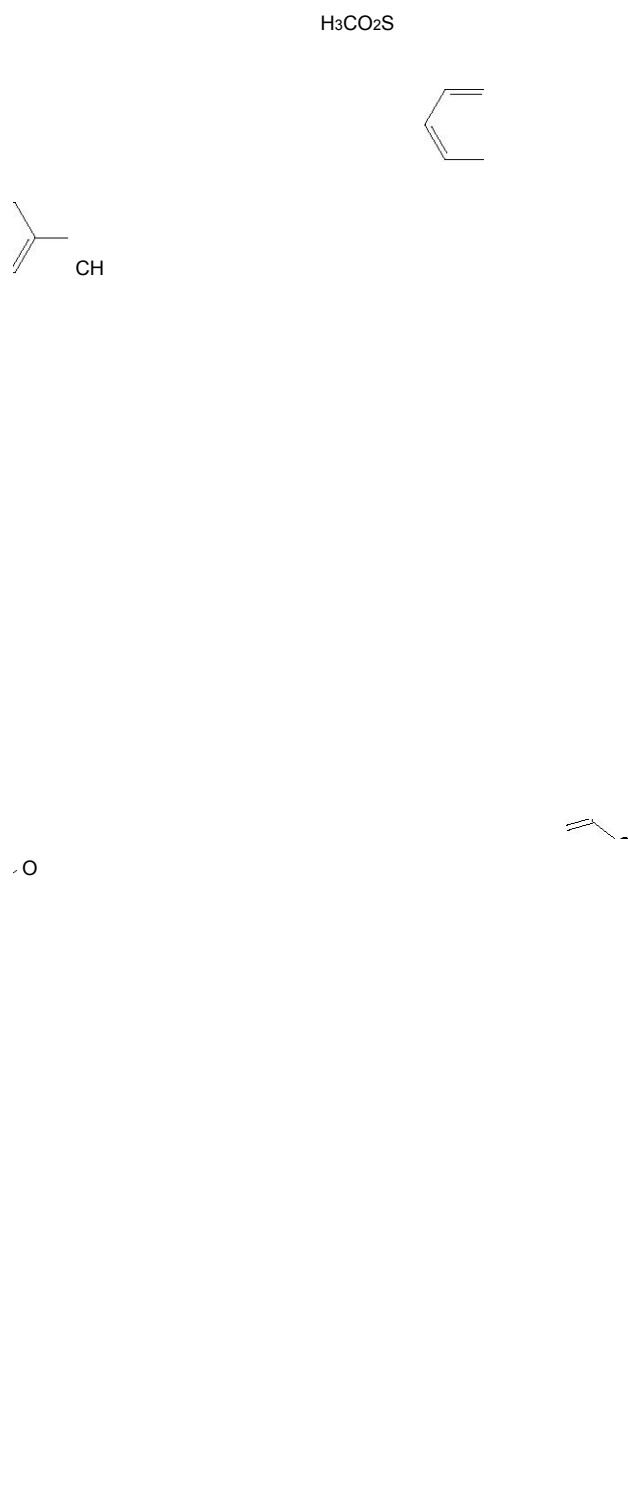


Figura 16 – Derivado 5-(4-metil-sulfonyl-aryliden)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4diona (LPSF/SF-23) (**20**) com atividade antiinflamatória.

Deste modo, os diferentes efeitos biológicos atribuídos aos derivados tiazolidínicos, particularmente os da série 5-aryliden-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GPIT/UFPE), tem instigado a síntese de novas moléculas bioativas candidatas a fármacos antiinflamatórios.

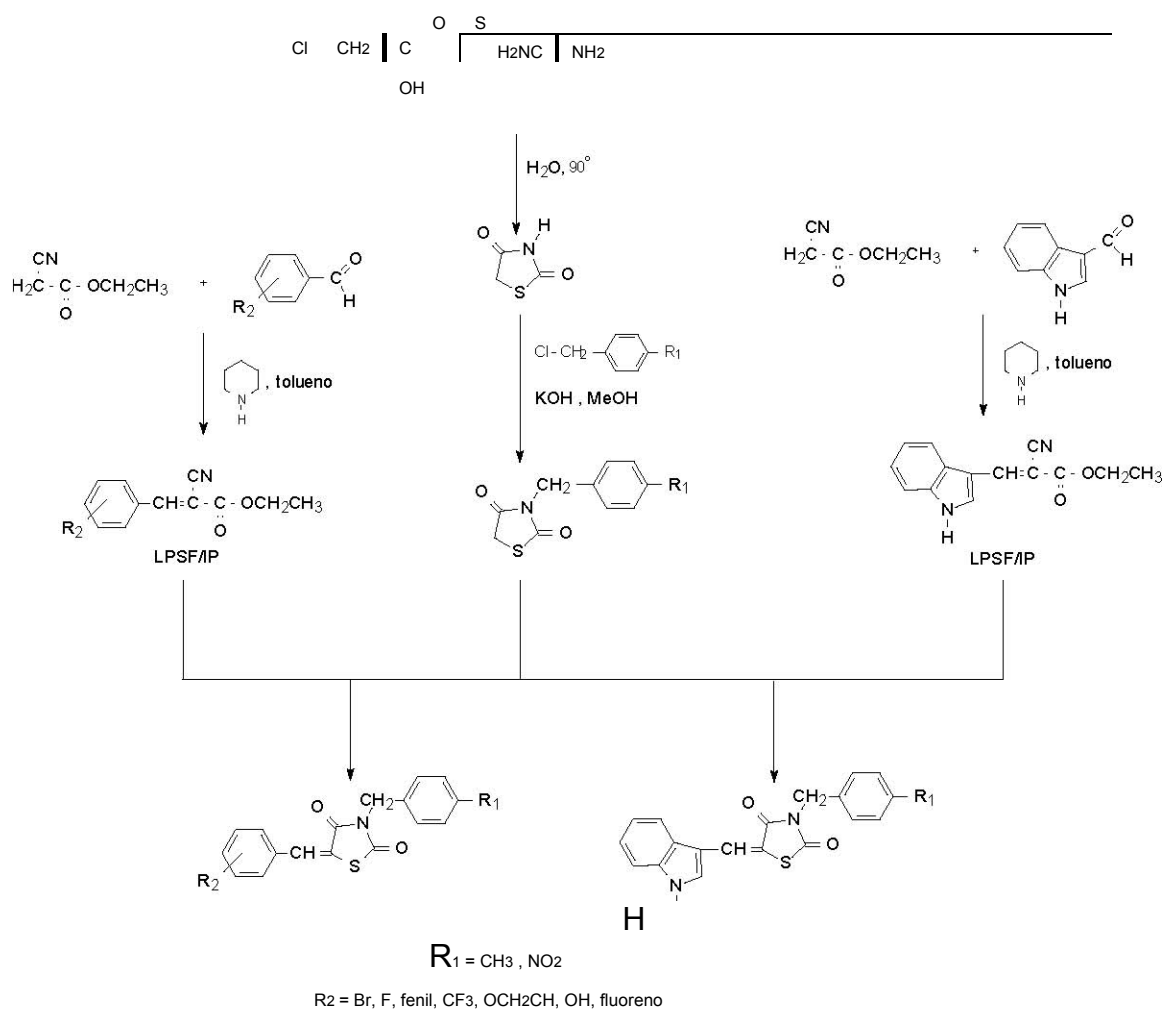


ESTUDO QUÍMICO

4. ESTUDO QUÍMICO

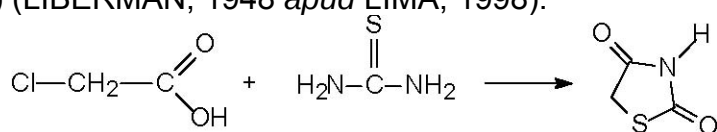
4.1. ROTA DE SÍNTESE DOS DERIVADOS 5-ARILIDENO-3-(4-METIL-BENZIL)-TIAZOLIDINA-2,4-DIONA (LPSF/GQ E LPSF/SF)

Os derivados 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF) foram obtidos em quatro etapas (Esquema 2).



Esquema 2 – Diagrama de síntese dos derivados 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4diona (LPSF/SF)

Na primeira, realizou-se a síntese do núcleo da tiazolidina-2,4-diona a partir do ácido monocloroacético e da tiouréia, através de uma reação de ciclização em meio aquoso. Esta reação constitui o método de escolha para preparação da tiazolidina-2,4-diona (Esquema 3) (LIBERMAN, 1948 *apud* LIMA, 1998).



Esquema 3 -Preparação da tiazolidina-2,4-diona a partir do ácido monocloroacético e da

tiouréia

A reatividade do anel tiazolidinônico permite principalmente reações de substituição nucleofílica e reações de condensação ou adição.

4.1.1. Reações de N-alkilação da tiazolidina-2,4-diona

Quando não apresenta substituição no átomo de nitrogênio, a tiazolidina-2,4-diona comporta-se como um ácido fraco, que reage com haletos de alquila, substituídos ou não, em soluções alcalinas conduzindo à formação de sais. Essa reação é descrita por diversos autores, diferindo apenas em relação ao meio alcalino utilizado: Metóxido de sódio (BRADSHER, BROWN e SINCLAIR, 1956); Hidróxido de sódio em solução etanólica (DAVIS e DAINS, 1935); Hidróxido de potássio em solução etanólica ou solução metanólica (LO, SHROPSHIRE, CROXALL, 1953).

4.1.2. Reações de condensação da tiazolidina-2,4-diona com aldeídos aromáticos ou seus derivados

O grupo metilênico em posição 5 da tiazolidina-2,4-diona apresenta uma reatividade característica frente a vários reagentes. Esse carbono metilênico comporta-se como um nucleófilo, e as reações ocorrem normalmente em presença de uma base, a tiazolidina-2,4-diona reage como um ânion. A formação deste ânion é facilitada pela presença dos grupamentos carbonílicos nas posições 2 e 4, e são dependentes do efeito do heteroátomo, obedecendo a seguinte ordem: $S > NH > NCH_3 > O$ (BARONOV e KOMARISTA, 1965).

Freqüentemente, estas reações ocorrem em presença de um ácido mineral ou de algumas gotas de piperidina, ou ainda em presença de ácido acético glacial e acetato de sódio anidro, onde o acetato de sódio anidro atua tanto como base quanto como agente desidratante (LIBERMAN, 1948 *apud* LIMA, 1998).

Derivados de aldeídos aromáticos, tais como os ésteres de Cope (COPE et al., 1937; 1941), são obtidos através da reação de condensação de Knoevenagel entre aldeídos aromáticos substituídos e cianoacetato de etila, em presença de uma base, normalmente a piperidina. Este éster cianocinâmico atua como um intermediário para as reações de condensações em posição 5 da tiazolidina-2,4-diona N-alkilada ou não (Esquema 4).

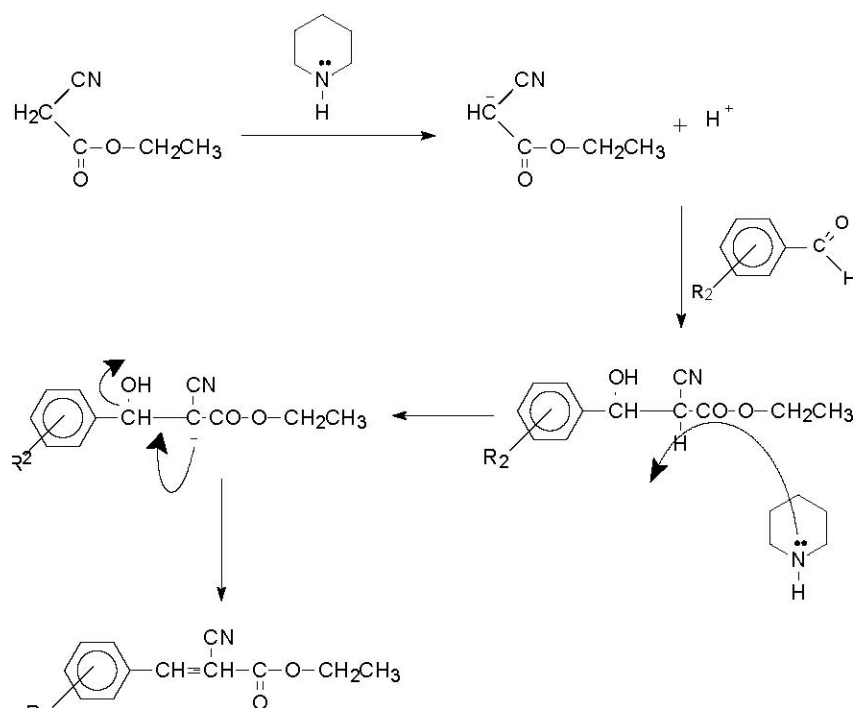
R²

H

H

R²

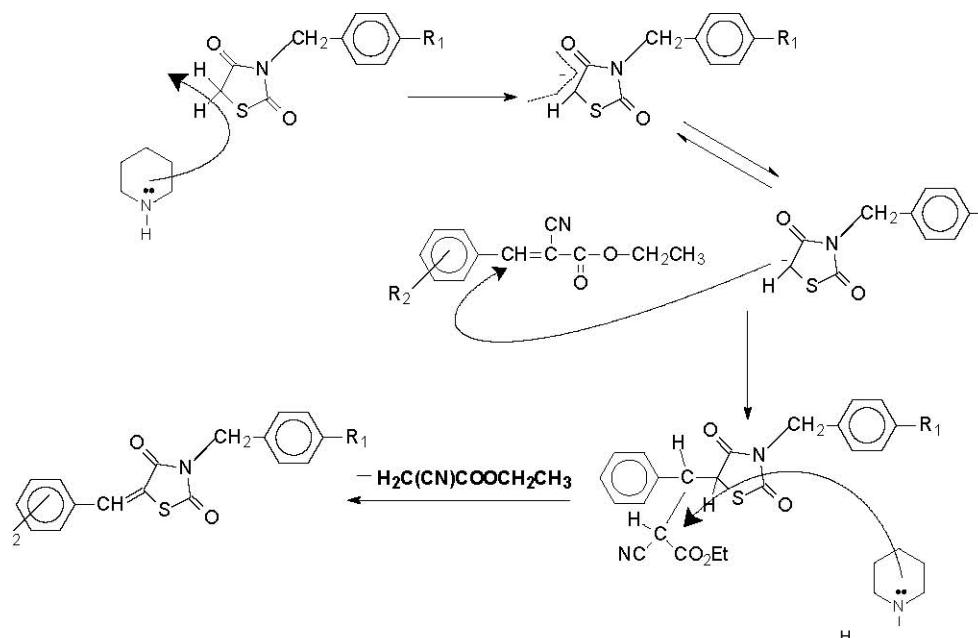
N



Esquema 4. Reações de condensações de Knoevenagel para obtenção dos ésteres cianocinâmicos

A formação da dupla exocíclica no núcleo tiazolidinônico a partir do éster de Cope ocorre através do seguinte mecanismo reacional: observa-se a formação de um carbânion na posição 5 da tiazolidina-2,4-diona N-alkilada, seguido de um ataque ao carbono β do éster cianocinâmico através de uma reação de adição de Michael, conduzindo aos derivados 5-arilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ e LPSF/SF) (LIBERMAN, 1948; LO, SHROPSHIRE, CROXALL, 1953; PITTA et al., 2003; SANTOS et al., 2005; MOURÃO et al., 2005) (Esquema 5).

CH₂ R₁



Esquema 5 - Mecanismo reacional da adição de Michael conduzindo aos derivados 5-arilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ e LPSF/SF)

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Equipamentos

Para elucidação estrutural dos derivados 5-arilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ e LPSF/SF), na espectrofotometria de absorção no infravermelho, utilizou-se um espectrofotômetro FTIR Bruker Modelo IFS 66 ou Bomem Modelo MB 100. Os espectros no infravermelho foram realizados em pastilha de KBr. Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) foram efetuados em espectrofotômetro Varian Modelo Plus 300 MHz, utilizando-se como solvente o DMSO- d_6 . As multiplicações dos sinais são indicadas pelas abreviações: singlete (s), dubleto (d), duplo dubleto (dd), tripleto (t), quadrupeto (q), multipeto (m). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm e os acoplamentos em Hz. Para determinação dos pontos de fusão utilizou-se aparelho Quimis Modelo 340.27. Os espectros de massas foram registrados sobre impacto eletrônico de 70 eV em espectrômetro Delsi-Nermag, modelo R-1010C ou eletrospray em aparelho Waters tipo ZQ.

4.2.2. Cromatografia

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) ou através de vapores de iodo.

4.3. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.3.1. Síntese da tiazolidina-2,4-diona

Em um balão de fundo redondo adicionou-se tiouréia (5 g – 0,0658 mols) e ácido monocloroacético (6,35 g – 0,0673 mols) previamente dissolvido em água. Aqueceu-se a mistura a uma temperatura de 96°C por 18 horas. Em seguida, deixou-se o produto obtido em repouso por 24 horas na geladeira. Formaram-se cristais brancos correspondentes a tiazolidina-2,4-diona, cuja purificação foi realizada através de cristalizações sucessivas em água destilada.

A tiazolidina-2,4-diona, de fórmula molecular $C_3H_3NO_2S$ (MM = 117), após purificação, apresenta-se na forma de cristais brancos. Este composto foi obtido com rendimento de 84 %, apresentando ponto de fusão 121-122 °C [ponto de fusão na literatura 122 °C (KOCHKANYAN; ISRAELIAN; ZARITOUSKII, 1978)] e R_f = 0,51, em sistema de eluição $CHCl_3/CH_3OH$ 96:4.

RMN 1H (δ , ppm) - DMSO - d_6 : 4,11 ppm (CH_2 , s, 2H); 12,00 ppm (NH, s, 1H) IV
(cm^{-1}) – KBr: 3115 (NH); 1670 e 1735 (C=O)

4.3.2. Síntese da 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ e LPSF/SF)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 1,136 g – 0,0097 mols da tiazolidina-2,4-diona, na mesma razão molar foram adicionados o haleto de benzila e o hidróxido de potássio, em presença de metanol. A mistura reacional foi aquecida a 65 °C, por 8 horas, levando à formação da 3-(4-metil-benzil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-1) e 3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-1).

A 3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-1), de fórmula molecular $C_{11}H_{11}NO_2S$ (M = 221), foi obtida com rendimento de 56 % após purificação através de cromatografia sob pressão (*n*-hexano/AcOEt 9:1). Observou-se o ponto de fusão 70-72 °C e R_f = 0,68, em sistema de eluição $CHCl_3/CH_3OH$ 92:8 [ponto de fusão na literatura 75 °C (MOURÃO et al., 2005)].

RMN 1H (δ ppm) - DMSO- d_6 : 4,26 e 4,61 ppm (CH_2 , s, 2H), 2,26 ppm (CH_3 , s, 2H)
 CH_3 : 2,26 (s, 3H); Hidrogênios aromáticos: 7,14 (m, 4H).

IV (cm^{-1}) – KBr: 1676 e 1756 ($\text{C}=\text{O}$).

A 3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-1), de fórmula molecular $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ (MM = 252), após purificação através de cromatografia sob pressão em CHCl_3 , apresentou-se na forma de cristais brancos, com um rendimento de 72 %, ponto de fusão 119-120 °C [ponto de fusão na literatura 117 °C (CAVALCANTI et al., 1992)] e $R_f = 0,68$.

RMN ^1H (δ , ppm) – CDCl_3 : 4,00 e 4,83 ppm (CH_2 , s, 2H); 7,54 ppm J= 8,7 Hz (CH , d, 2H), 8,16 ppm J= 8,7 Hz (CH , d, 2H).

IV (cm^{-1}) – KBr: 1670 e 1740 ($\text{C}=\text{O}$).

4.3.3. Síntese dos ésteres de Cope (LPSF/IP)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados o aldeído aromático substituído e cianoacetato de etila em quantidades equimolares, em presença de piperidina como catalisador e benzeno como solvente. A mistura reacional foi aquecida a uma temperatura de 110 °C, durante 4 horas. O produto foi mantido na geladeira por 12 horas. Os 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etilas (LPSF/IP) foram purificados através de cristalizações sucessivas em etanol absoluto.

4.3.4. Síntese da 5-arilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ e LPSF/SF)

Quantidades equimolares da 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-1 ou LPSF/SF-1) e dos derivados 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila (LPSF/IP) substituídos dissolvidos em etanol, em presença de 350 μL piperidina como catalisador, foram aquecidas sob refluxo durante 4 horas. Após resfriamento, ocorre a cristalização dos derivados 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF), que foram purificados através de lavagens sucessivas com água destilada e álcool etílico absoluto.

4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A estrutura dos novos compostos das séries derivados 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-

diona (LPSF/SF), objetivo deste trabalho, foram confirmadas através das respectivas características físico-químicas e identificação espectroscópica por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H), infravermelho (IV) e espectroscopia de massas (EM), são apresentados a seguir.

Os derivados 5-arilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-dionas (LPSF/GQ e LPSF/SF) foram isolados em um único isômero configuracionais. Os estudos anteriores de cristalografia do raio X e RMN ^{13}C demonstraram a Z configuração como favorecida em derivados 5-arilideno-tiazolidinônicos (GUARDA et al., 1997).

Em 2003, Lima estudou a modelagem molecular do 5-arilideno-3-benzil-2tioxiimidazolidin-4-ona (LPSF/NN) e do 5-arilideno-3-(2-oxo-2-fenil-etil)-2-tioxiimidazolidin-4-ona (LPSF/NN) (Figura 17), onde também observou uma predominância do isômero Z.

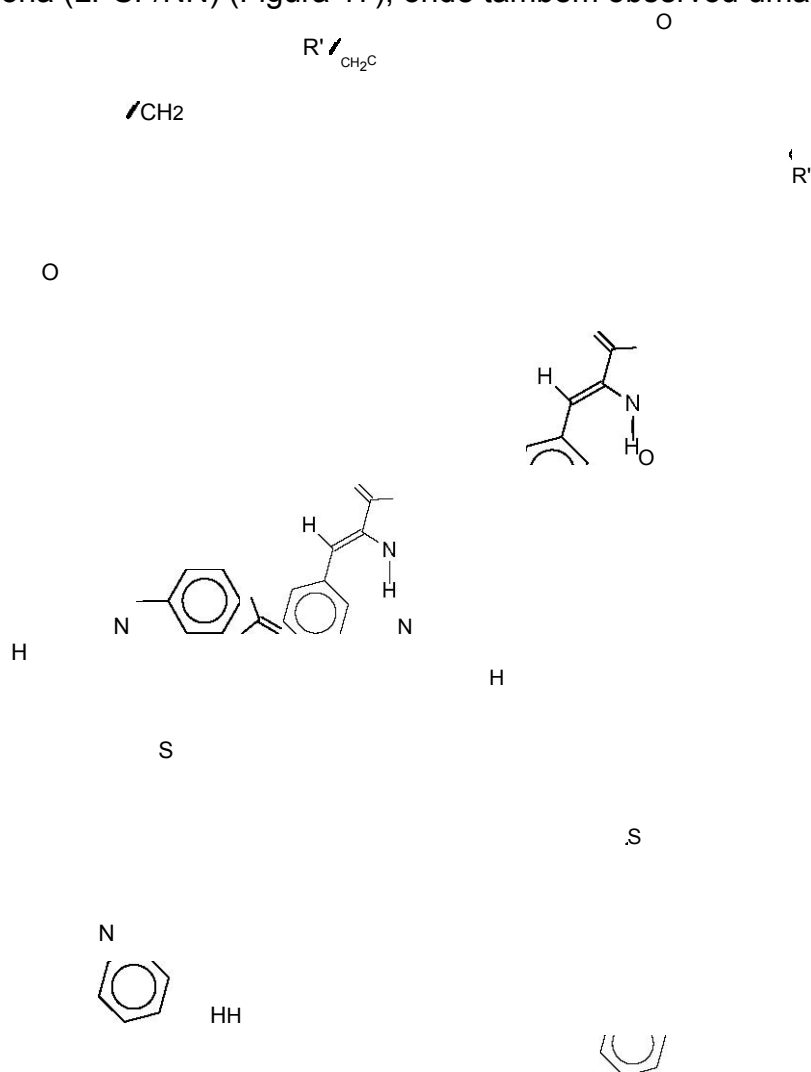


Figura 17 - Derivados imidazolidínicos

Estudos realizados em derivados tiazacridínicos apresentaram o mesmo comportamento. Na 5-(acridin-9-il-metilideno)-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/AC)

(Figura 18), após a análise dos resultados se verificou uma maior estabilidade para a configuração *Z*, que apresentou o menor valor de calor de formação em relação ao isômero *E*, com uma diferença de 2,45 Kcal/mol (MOURÃO et al., 2005).

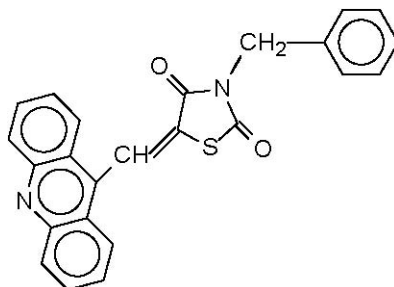


Figura 18 - 5-Acridin-9-il-metilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona

Um estudo configuracional na série 5-arilideno-3-(4-cloro-2-nitro-benzil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/TM) (Figura 19), no qual as configurações *Z* e *E* foram determinadas a partir da otimização global da geometria molecular, onde se observou uma maior estabilidade para o isômero *Z* em 0,37 Kcal/mol para os derivados clorado (LPSF/TM-2) e indólico (LPSF/TM-3), em 1,24 Kcal/mol para o fluorado (LPSF/TM-4), em 0,08 Kcal/mol para o metoxilado (LPSF/TM-5), em 1,74 Kcal/mol para o substituintes dimetilamino (LPSF/TM-6) e em 1,70 Kcal/mol confirmando o comportamento observado por em trabalhos anteriores (MIRANDA, 2005).

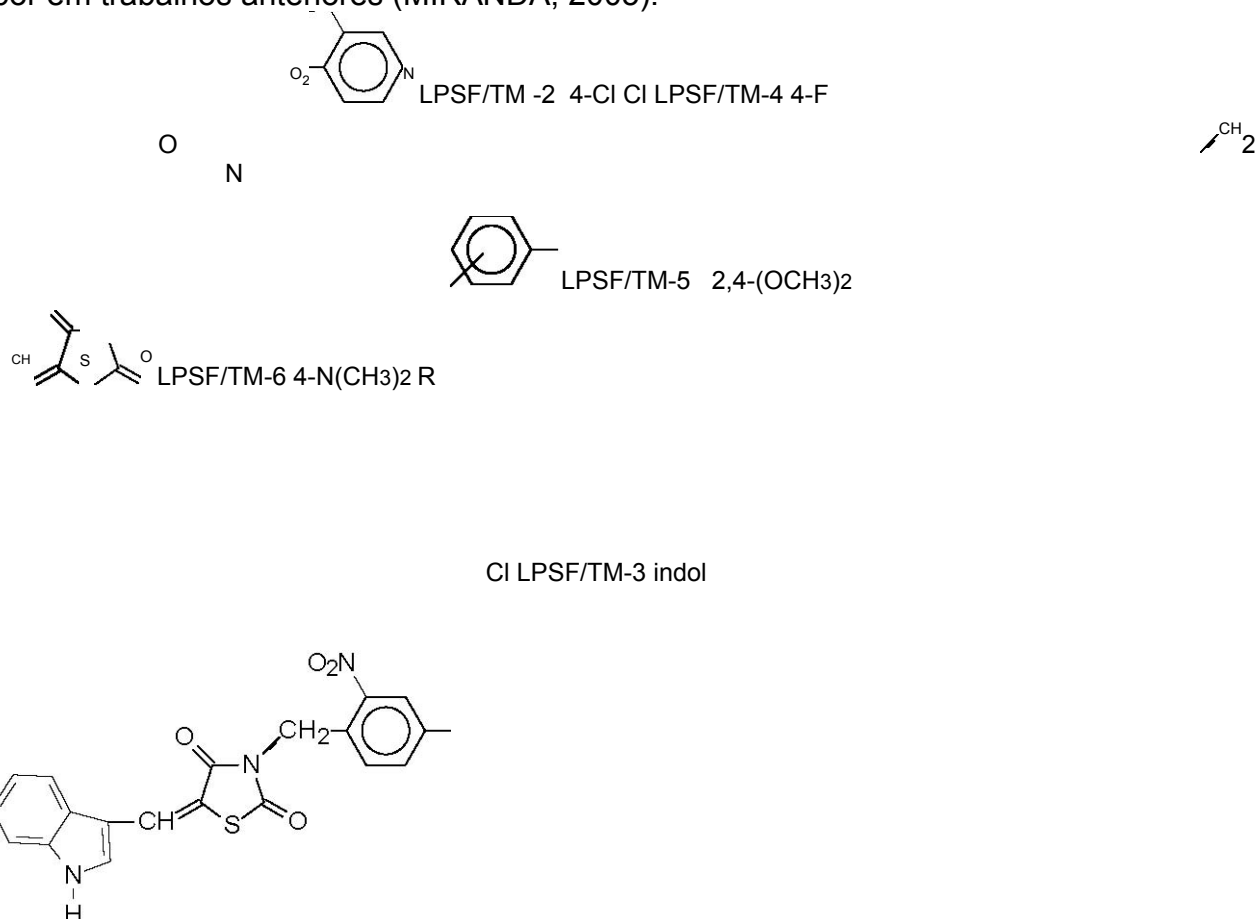


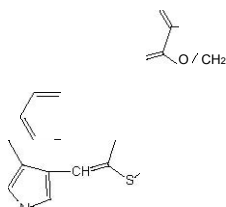
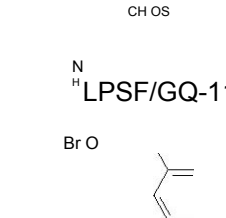
Figura 19 - Derivados 5-arilideno-(4-cloro-2-nitro-benzil)-tiazolidínicos (LPSF/TM)

4.4.4. Derivados 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF)

A análise dos resultados obtidos na síntese dos derivados 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF) nos permite afirmar que a metodologia utilizada apresenta-se como uma boa via de acesso para a obtenção destes compostos, tal afirmativa baseia-se nos rendimentos obtidos.

As características físico-químicas (Tabela 1, 2 e 3), os deslocamentos químicos (δ), as bandas de absorção no infravermelho e as fragmentações moleculares dos derivados obtidos comprovam as estruturas moleculares propostas para os derivados 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF).

Tabela 1 – Características dos derivados 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ)

Molécula	F.M.	M.M.	P.F. (°C)	Rdt. (%)	Rf	Eluente
						
						
						

.C₂₀H₁₆N₂O₂S 348 229-231 98 0,48 Benz/AcOEt

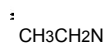
95:5

N
H LPSF/GQ-11

Br O



$\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{NO}_3\text{BrS}$ 417 180-181 71 0,65 *n*-hex/AcOEt



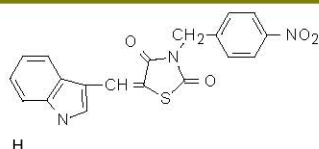
$\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{NO}_2\text{S}$ 385 185-186 76 0,80 *n*-hex/AcOEt



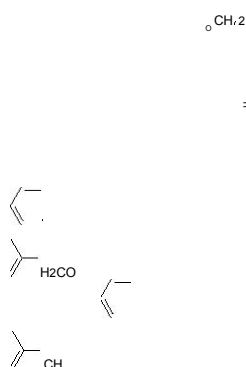
<

Tabela 2 – Características dos derivados 5-aryliden-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina2,4-diona (LPSF/SF)

Molécula	F.M.	M.M.	P.F. (°C)	Rdt. (%)	Rf	Eluente
----------	------	------	-----------	----------	----	---------



LPSF/SF-10

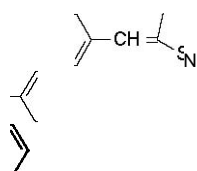


C₂₄H₁₈N₂O₅S 446 171-172 81 0,50 *n*-hex/AcOEt

s 9:1 LPSF/SF-11

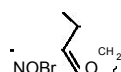


NO₂ C₁₇H₁₁BrN₂O₄S 419 169-170 76 0,64 *n*-hex/AcOEt



OCH S

LPSF/SF-13



9:1



$\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{BrN}_2\text{O}_5\text{S}$ 449 210-211 79 0,84 *n*-hex/AcOEt
N

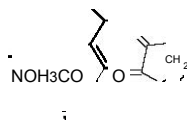


.o 7:3

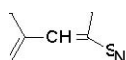
H₃CO CH

S

LPSF/SF-15



$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}$ 430 173-174 77 0,76 *n*-hex/AcOEt



.o 7:3

H₃CO CH

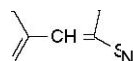
S

H₃CO

LPSF/SF-17



$\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ 356 222-223 58 0,53 *n*-hex/AcOEt



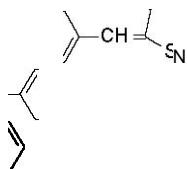
OHO CH S

.7:3

LPSF/SF-18



$\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{FN}_2\text{O}_4\text{S}$ 358 151-152 29 0,84 *n*-hex/AcOEt



OCH S

.7:3

LPSF/SF-19



:N

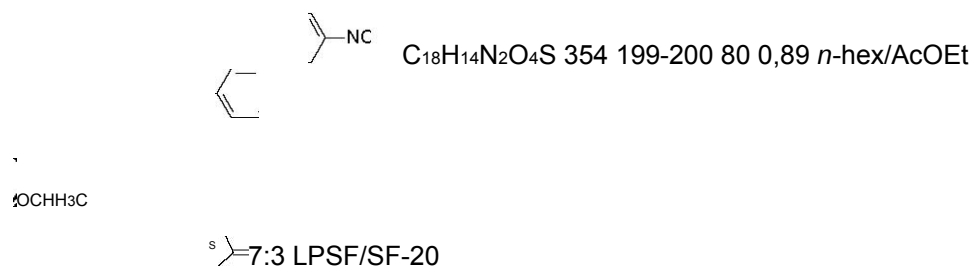
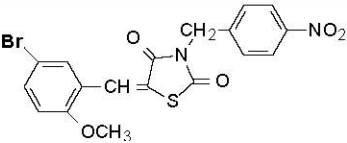
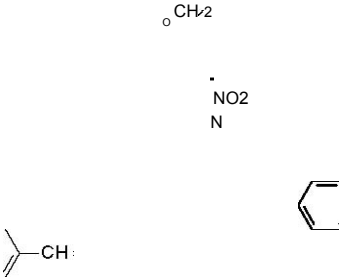
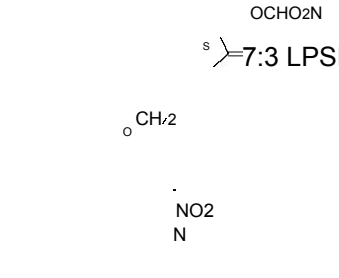
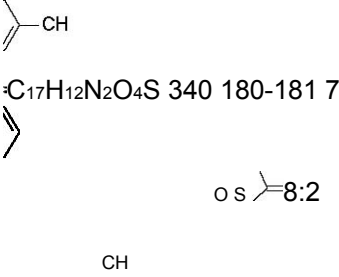


Tabela 3 – Características dos derivados 5-aryliden-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina2,4-diona (LPSF/SF)

Molécula	F.M.	M.M.	P.F. (°C)	Rdt. (%)	R _f	Eluente
 LPSF/SF-21	$C_{17}H_{11}BrN_2O_4S$	419	203-204	94	0,64	<i>n</i> -hex/AcOEt 8:2
 LPSF/SF-22	$C_{18}H_{14}N_2O_4S$	354	228-229	81	0,50	<i>n</i> -hex/AcOEt
 LPSF/SF-23	$C_{17}H_{12}N_2O_4S$	340	180-181	75	0,80	<i>n</i> -hex/AcOEt
 LPSF/SF-24	$C_{17}H_{12}N_2O_4S$	340	180-181	75	0,80	<i>n</i> -hex/AcOEt



C₂₄H₁₆N₂O₄S 428 244-245 53 0,80 *n*-hex/AcOEt

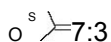


LPSF/SF-25

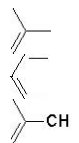
7:3



C₁₇H₁₂O₆N₃S 386 149-150 53 0,46 *n*-hex/AcOEt



LPSF/SF-26

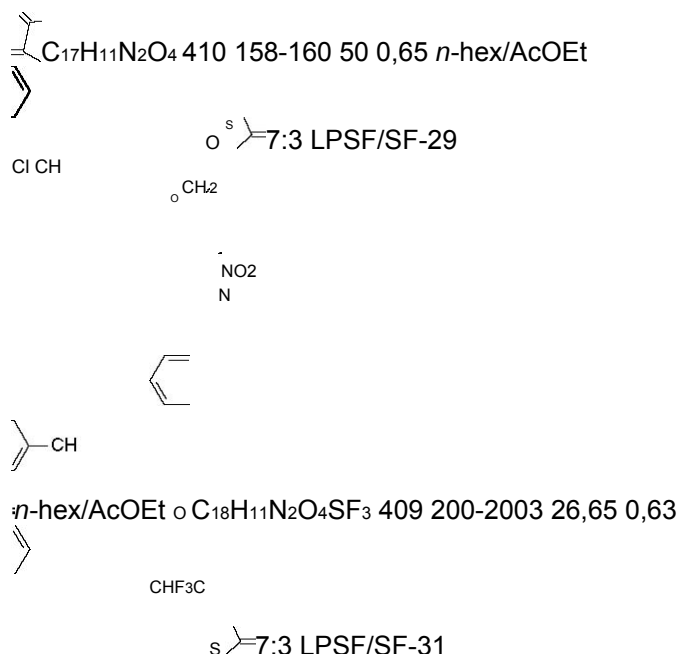


C₂₃H₁₆N₂O₄S 416 203-204 51 0,60 *n*-hex/AcOEt



7:3LPSF/SF-28





4.4.4.1. Análise de Infravermelho e de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

As tiazolidina-2,4-dionas apresentam duas bandas de frequências no infravermelho na região das carbonilas em aproximadamente 1660 e 1719 cm^{-1} . Entretanto, trabalhos descritos na literatura atribuem a banda de baixa frequência tanto a carbonila em posição 4 (DEROSCH, 1961 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985) quanto em posição 2 (DEMOEN, 1966 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985). Contudo, estudos realizados por Oliveira (2004) em derivados da imidazolidina-2,4-diona substituídas nas posições 3 e 5, análogos estruturais da tiazolidina-2,4-diona, revelaram através do espectro vibracional calculado que a banda de menor frequência corresponde a C=O em posição 4 e a banda de maior frequência a C=O em posição 2. O derivado 5-(1*H*-indol-il-metilideno)-3-(4-metil-benzil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-11) e 5-(1*H*-indol-il-metilideno)-3-(4-nitro-benzil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-10) apresentam uma frequência de absorção do NH em 3406 cm^{-1} e 3353 cm^{-1} , respectivamente.

Para os derivados tiazolidinônicos obtidos, os espectros de RMN ^1H apresentam os picos de absorção com deslocamentos químicos entre 7,51 – 9,92 ppm, correspondentes aos hidrogênios aromáticos do grupamento benzilidênico e do benzílico substituído em posição *para* pelo grupamento metil (LPSF/GQ) ou nitro (LPSF/SF). Os sinais característicos dos grupos CH₂ e CH aparecem como singletos nas regiões entre 4,28 – 5,20 ppm e 7,82 – 8,10 ppm, respectivamente.

A seguir se encontram os deslocamentos químicos e as bandas no infravermelho para os derivados tiazolidinônicos (LPSF/GQ e LPSF/SF) sintetizados.

Tabela 4 – Frequências de absorção no infravermelho dos derivados 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF) (cm⁻¹)

COMPOSTO	NH	-CH=	C=O (2)	C=O (4)
LPSF/GQ-11	3406	1595	1727	1664
LPSF/GQ-22	-1589	1741	1689	LPSF/GQ-23 -
1600	1731	1679	LPSF/SF-10	3353
1602	1731	1673	LPSF/SF-11	-1588
1724	1688	LPSF/SF-13	-1606	1741
1686	LPSF/SF-15	-1606	1733	1684
LPSF/SF-17	-1602	1738	1682	LPSF/SF-18
-1592	1737	1677	LPSF/SF-19	-1607
1742	1683	LPSF/SF-20	-1601	1737
1686	LPSF/SF-21	-1598	1733	1681
LPSF/SF-22	-1601	1747	1689	LPSF/SF-24
-1607	1736	1685	LPSF/SF-25	-1594
1734	1682	LPSF/SF-26	-1609	1748
1685	LPSF/SF-28	-1604	1745	1682
LPSF/SF-29	-1609	1739	1686	LPSF/SF-31
-1608	1745	1688		

Pastilhas de KBr - Espectrofotômetro FTIR Bruker, modelo IFS66 Tabela 5 – Deslocamentos Químicos (δ) dos derivados 5-arilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ e LPSF/SF)

Molécula	-CH= (s)	CH ₂ (s)	NH (s)	OH (S)	OCH ₃ (s)	CH ₃ (s)	Benzílicos
LPSF/GQ-11	7,82	4,79	9,09	-	-	2,27	7,92 (2H, d) J=7,79 Hz 7,51 (2H, d) J=7,79 Hz
LPSF/GQ-22	7,92	4,78	-	-	3,92	2,26	7,19 (2H, d) J=8,39 Hz 7,15 (2H, d) J=8,39 Hz
LPSF/GQ-23	8,01	4,80	—	-	—	2,27	7,21 (2H, d) J=8,39 Hz 7,16 (2H, d) J=8,39 Hz
LPSF/SF-10	7,84	4,98	12,22	-	-	-	8,22 (2H, d) J=8,69 Hz 7,59 2H, d) J=8,69 Hz
LPSF/SF-11	7,94	4,97 5,20	-	-	-	-	7,20 (2H, d) J=8,69 Hz 8,21 (2H, d) J=8,69 Hz

LPSF/SF-13	7,97	4,98	-	-	-	-	7,60 (2H, d) J=8,69 Hz 8,21 (2H, d) J=8,69 Hz
LPSF/SF-15	7,94	4,97	-	-	3,93	-	8,21 (2H, d) J=8,99 HZ7,59 (2H, d) J=8,99 Hz
LPSF/SF-17	7,93	4,98	-	-	3,74 3,84	-	7,59 (2H, d) J=8,90 Hz 8,21 (2H, d) J=8,90 Hz
LPSF/SF-18	Daniel Tarciso Martins Pereira					-10,37	--
	7,89	4,96					8,2 1 (2H, d) J=8, 39 Hz 6,9 3 (2H, d) J=8, 69 Hz 7,5 8 (2H, d) J=8, 39 Hz 7,5 1 (2H, d) J=8, 69 Hz
LPSF/SF-19		7,99			4,98		----
							8,2 1 (2H, d) J=8, 69 Hz 7,3 3-

			7,5 9 (4H, m) 7,6 0 (2H, d) J=8, 69 Hz
--	--	--	--

LPSF/SF-20	7,95	4,97	---2,37
-------------------	------	------	---------

8,2
1
(2H,
d)
J=8,
39
Hz
7,5
9
(2H,
d)
J=8,
39
Hz
7,5
4
(2H,
d)
J=8,
39
Hz
7,3
7
(2H,
d)
J=8,
69
Hz

LPSF/SF-22

8,10

4,99

8,3
6
(2H,
d)
J=8,
69
Hz
7,9
1
(2H,
d)
J=8,
69
Hz
8,2
1
(2H,
d)
J=8,
69
Hz
7,6
2
(2H,
d)
J=8,
99
Hz

LPSF/SF-24 7,99 4,98 ----8,21 (2H. d) J=8,90 Hz

LPSF/SF-26

7,98

4,97

8,2

1

(2H,

d)

J=

8,6

9

Hz

7,5

8 –

7,6

9

(6H,

m)

L

LPSF/SF-29

7,99

4,98

8,2
2
(2H,
d)
J=8,
99
Hz
7,9
8
(1H,
d)
J=2,
09
Hz
7,6
0
(2H,
d)
J=8,
99
Hz
7,8
3
(2H,
d)
J=8,
39
Hz

LPSF/SF-31 8,07

Daniel Tarciso Martins Pereira

4.4.4.2. Análise da Espectrometria de Massas

Os espectros de massas para os derivados 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4diona (LPSF/GQ) foram realizados através de técnicas de ionização por impacto eletrônico (IE) para os derivados (LPSF/GQ-11; LPSF/GQ-22; LPSF/GQ23; LPSF/SF-10 a LPSF/SF20) em espectrômetro Delsi-Nermag, modelo R-1010C ou por eletrospray [ESI(+)] em aparelho Waters tipo ZQ (LPSF/SF-23 e LPSF/SF24). As principais fragmentações com suas intensidades relativas se encontram nos Esquemas 6 a 11.

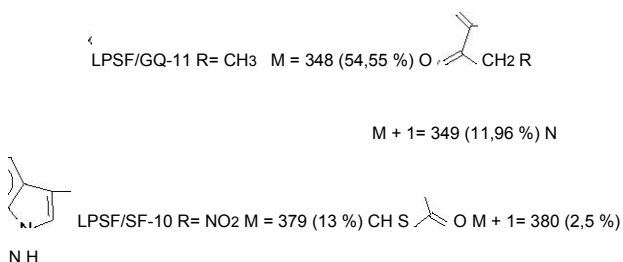
A presença do átomo do bromo foi confirmada pelas intensidades relativas do pico do isótopo $M + 2$ para os derivados 5-(3-bromo-4-metóxi-arilideno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-22), 5-(3-bromo-arilideno)-3-(4-nitrobenzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-13) e 5-(3-bromo-4-metóxi-arilideno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-15), em comparação ao íon molecular.

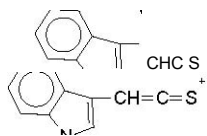
Para o derivado 5-(3-bromo-arilideno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-13) observa-se que ocorre a perda de HNO_2 conduzindo ao pico de base $m/z = 89$ (100 %), e para os derivados 5-(3-bromo-4-metóxi-arilideno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-22) e 5-(4-fenil-arilideno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-23) observa-se uma ruptura da ligação lateral N-C em posição 3 conduzindo ao pico de base $m/z = 105$ (100 %).

Os derivados LPSF/SF-15, LPSF/SF-17, LPSF/SF-18, LPSF/SF-19 e LPSF/SF-20 apresentaram, como principal fragmentação, uma dupla ruptura heterolítica do anel tiazolidinônico em α - S-C e δ - C-C, dando formação ao fragmento iônico correspondente aos picos de base $m/z = 244$, 224, 150, 152 e 148, respectivamente.

Os picos de base dos derivados LPSF/SF-23 e LPSF/SF-24 são decorrentes da técnica utilizada eletrospray, e se apresentam como $M + \text{Na} = 441$ (100 %) e $M + \text{Na} = 363$ (100 %), respectivamente.

O derivado 5-(1*H*-indol-3-il-metilideno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-11) apresenta como fragmentos iônicos mais estáveis $m/z = 173$ (82,12 %) e o pico de base $m/z = 105$, e o composto 5-(1*H*-indol-3-il-metilideno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-10) apresenta como pico de base o fragmento $m/z = 173$. Também se observa a perda de uma molécula de HCN conduzindo a formação do íon $m/z = 102$ para estes derivados constituindo uma importante via de fragmentação dos derivados alquil indólicos.





ζ R LPSF/GQ-11 m/z= 105 (100 %)

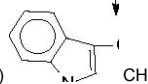
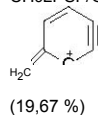


L

PSF/SF-10 m/z= 136 (1 %) H
LPSF/GQ-11 (82,12 %) m/z = 173
LPSF/SF-10 (100 %) CH₂



CH₃LPSF/GQ-11 (31,98 %)



CLPSF/SF-10



H m/z = 91 (10,09%)

H m/z = 89 (4,47%)

H

m/z = 129 CH₂

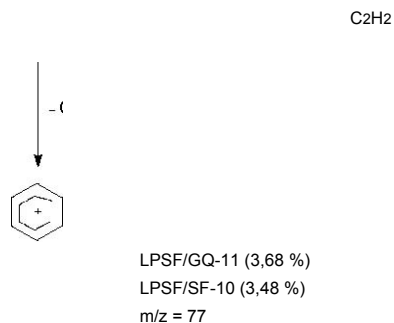


[C m/z = 90LPSF/GQ-11 (9,48 %) CH CH

HC LPSF/SF-

10 (1 %)

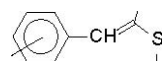




Esquema 6 – Principais fragmentações dos derivados LPSF/GQ-11 e LPSF/SF-10

LPSF/GQ-22 R= 3-Br, 4-OCH₃ M = 417 (31,03 %)

CH₃ M + 2 = 419 (29,82 %)

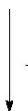


LPSF/GQ-23 R= C₆H₅ M = 385 (81,95 %)

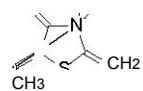
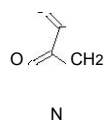
CH S

O M + 1 = 386 (22,36 %)

R



fenil



O

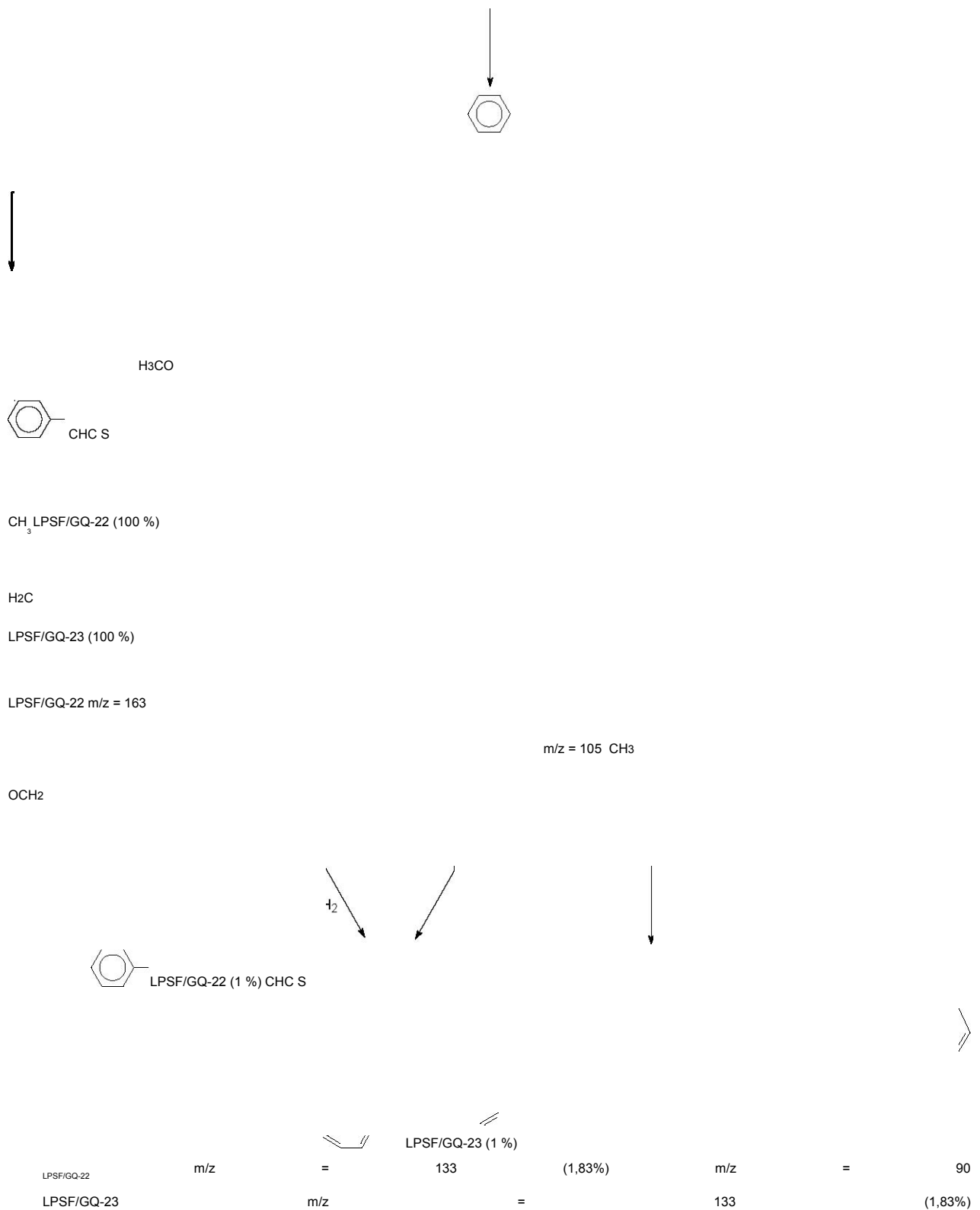
LPSF/GQ-22 m/z = 210 (93,13 %)

LPSF/GQ-23 m/z = 242 (21,43 %) _R

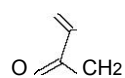
CHCS N

SO m/z = 232 Br

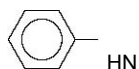
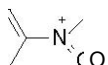
fenil



Esquema 7 – Principais fragmentações dos derivados LPSF/GQ-22 e LPSF/GQ-23





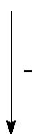


CHC S

$m/z = 89$ (2,2%)

$m/z = 121$ (2,83 %)

$m/z = 133$



CH_2NO



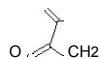
O

:C

HC

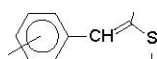
$m/z = 91$ (100%)
 $m/z = 75$ (1 %)

Esquema 8 – Principais fragmentações do derivado LPSF/SF-11



N

$NO_2 M + 2 = 420$ (25,64 %)

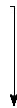


LPSF/SF-15 R= 3-Br, 4-OCH₃ M = 448 (10,9 %)

CH S

$O M + 2 = 450$ (10,67 %)

R



• LPSF/SF-13 (10,57 %) LPSF/SF-13 m/z = 212 (80,66 %)



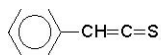
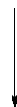
m/z + 2 = 214 (53,82 %) _R

%)

LPSF/SF-15 (3,27 %) LPSF/SF-15 m/z = 242 (33,61

m

/z = 136 m/z + 2 = 244 (100 %) HNO₂ Br



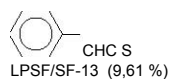
Br LPSF/SF-13 (100 %) H₃CO



LPSF/SF-15 (3,27 %) LPSF/SF-15 m/z = 163

H m/z = 89

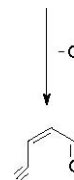
OCH₂ CH₂



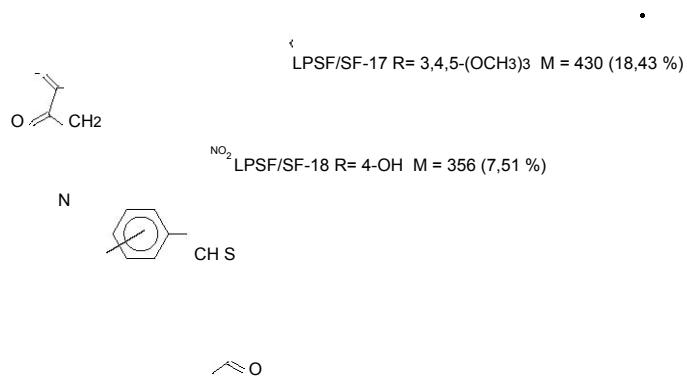
LPSF/SF-13 m/z = 133 (81,92%) ^C LPSF/SF-15 (2 %)

C LPSF/SF-15 m/z = 133 (3,77%) m/z = 75

H



Esquema 9 – Principais fragmentações dos derivados LPSF/SF-13 e LPSF/SF-15



R

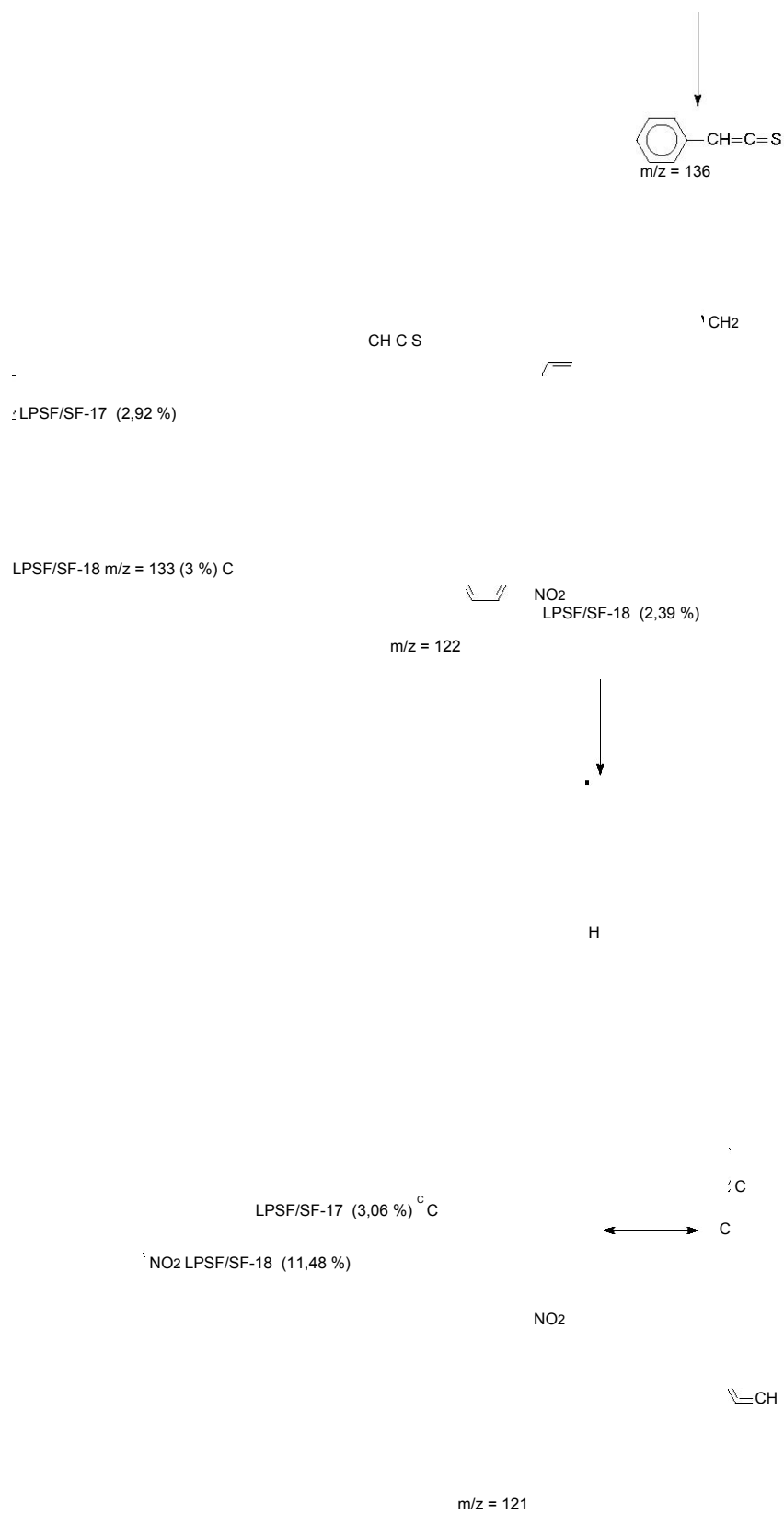
LPSF/SF-17 (20,51 %)

LPSF/SF-17 m/z = 224 (100 %)

2 LPSF/SF-18 (2,12 %)

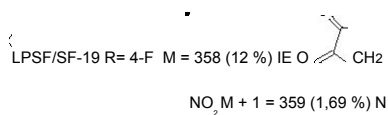
LPSF/SF-18 m/z = 150 (100 %) R

CHCS ^{H C} 2



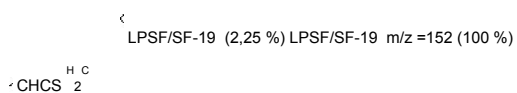
Esquema 10 – Principais fragmentações dos derivados LPSF/SF-17 e LPSF/SF-18

Síntese, Comprovação Estrutural e Atividade Antiinflamatória de Compostos Tiazolidinônicos-3,5-Dissubstituídos



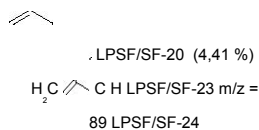
LPSF/SF-20 R= 4-CH₃ M = 354 (15,93 %) IE CH S

O LPSF/SF-23 R= 4-SO₂CH₃ M = 418, M + Na = 441 (100 %) ESI R
LPSF/SF-24 R= H M = 340, M + Na = 363 (100 %) ESI



^{O₂} LPSF/SF-20 (4,41 %) LPSF/SF-20 m/z = 148 (100 %) R ^{m/z = 136} LPSF/SF-23
LPSF/SF-23 m/z = 212

LPSF/SF-24 LPSF/SF-24 m/z = 134
HNO₂



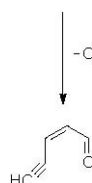
CH₂

LPSF/SF-19 (2,24 %) LPSF/SF-20

(1,31 %) LPSF/SF-23

m/z = 75 LPSF/SF-24

Esquema 11 – Principais fragmentações dos derivados LPSF/SF-19, LPSF/SF-20, LPSF/SF-23 e LPSF/SF-24



Daniel Tarciso Martins Pereira



5. ESTUDO BIOLÓGICO

Vários modelos animais têm sido utilizados para avaliar compostos que possuem atividade antiinflamatória e antireumática. Bactérias, látex, zimosan, formalina e carragenina são alguns agentes utilizados na indução da resposta inflamatória. Entretanto, nos modelos de edema de pata, bolsão de ar e pleurisia em roedores, a carragenina é o agente mais extensamente utilizado na indução experimental da inflamação (SINGH et al., 2000; GAMBERO et al.; 2003).

Para a avaliação da atividade antiinflamatória dos compostos sintetizados, optamos por utilizar o modelo do bolsão de ar induzido por carragenina, reconhecido por ser um excelente modelo de inflamação aguda no qual a extravasação de fluido, migração de leucócitos, e vários parâmetros bioquímicos do exsudato envolvidos na resposta inflamatória podem ser detectados prontamente (KOO et al., 2006).

Recentes estudos têm demonstrado que a ação da carragenina induz o influxo de neutrófilos da circulação sanguínea para dentro da cavidade (bolsão de ar inflamatório). Adicionalmente, estes neutrófilos produzem leucotrienos que participam da resposta inflamatória estimulando as funções dos leucócitos e aumentando a permeabilidade vascular. A migração de leucócitos induzida localmente, assim como, a liberação de vários mediadores inflamatórios, intensifica a resposta inflamatória (PALASKA et al., 2002; KIM et al., 2006).

O modelo de inflamação do bolsão ar induzido por carragenina consiste na injeção subcutânea de ar estéril na parte dorsal dos roedores. Este procedimento induz a proliferação de células organizadas em camadas na superfície da cavidade formando uma estrutura semelhante a sinovia após alguns dias. A injeção de carragenina no bolsão induz a inflamação, e esta cavidade funcionará como um reservatório de células e mediadores que poderão ser medidas facilmente no exsudato que se acumula localmente (ROMANO et al., 1997).

5.1. MATERIAL, ANIMAIS E MÉTODOS

5.1.1. Equipamentos

Balança Analítica (Neo Clave ASV 3001);
Balança semi-analítica (SARTORIUS);
Capela de fluxo laminar (filtro HEPA classe A3, partículas 0,3 micron)
Microscópio óptico colemain
Seringas descartáveis 1, 3 e 5 mL (BD Plastipak).

5.1.2. Reagentes e soluções

Solução de Carragenina a 1 % (SIGMA-ALDRICH);
Éter dietílico (VETEC);
Solução salina a 0,9 %;
Tween 80 (MERK).

5.1.3. Compostos testados

5-(1*H*-indol-3-il-metilideno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona
(LPSF/SF-10) (**26**)

- 5-(3-bromo-arilideno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-13)
(**28**)
5-(3-bromo-4-metóxi-arilideno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona
(LPSF/SF-15) (**29**)

3-(4-nitro-benzil)-5-(3,4,5-trimetóxi-arilideno)-tiazolidina-2,4-diona
(LPSF/SF-17) (**30**)

5-(3-bromo-4-metóxi-arilideno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-22) (**24**)
5-(bifenil-4-il-metilideno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ23)
(**25**)

5.1.4. Animais

Camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*) de ambos os sexos, pesando entre 25 ± 5 g, provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos/UFPE, foram utilizados nos experimentos. Os animais foram divididos em grupos de seis, mantidos em gaiolas de polipropileno acondicionadas em estantes com ventilação com filtro de exaustão de ar renovado, ambiente aclimatado entre 25°C ± 3° C, fotoperíodo de 12/12 horas, ração e água *ad libitum*. Os experimentos foram executadas segundo as diretrizes aprovadas pela Comissão de Ética para Experimentos com Animais/UFPE (Protocolo N°016269/2006-23).

5.2. METODOLOGIA

Estudos realizados com análogos tiazolidínicos, objetivando determinar a

toxicidade aguda, demonstraram um baixo risco de toxicidade, nenhuma alteração comportamental e fisiológica significativa, ou efeito letal na dose de 1000 mg/kg, após administração por via oral (PREVITERA et al., 1990; UCHOA, 2004).

5.2.1. Formação do Bolsão de Ar e Indução do Processo Inflamatório

Todos os animais foram submetidos a jejum, com a retirada da ração cerca de 12 horas antes do início do experimento. Durante o experimento os animais tiveram livre acesso à ingestão de água.

Inicialmente, foram produzidos bolsões de ar por injeção 2,5 mL de ar estéril (filtro EPA, capela de fluxo laminar horizontal) na área dorsal do animal (dia - 0). Decorridos 72 horas, mais 2,5 mL de ar estéril foi injetado na cavidade a fim de manter o espaço (dia - 3). Na execução desse procedimento os animais foram mantidos sob leve anestesia com éter dietílico. Decorrido um novo intervalo de 72 horas (dia-6), os animais receberam por via oral (gavagem), as substâncias testes (LPSF/SF e LPSF/GQ) nas doses de 0,03, 0,3 e 3 mg/Kg, o controle (veículo) e o padrão (piroxicam) na dose de 3 mg/Kg. Os compostos testados e o padrão piroxicam foram previamente dissolvidos na solução de Tween 80/água destilada (1:99 v/v) considerada como o veículo. Uma hora após a administração oral das substâncias testes, os animais receberam uma injeção de 1 mL de solução de carragenina 1%, diretamente na cavidade previamente formada pelas injeções de ar estéril (bolsão), com o objetivo de induzir a resposta inflamatória (Figura 20) (KIM et al., 2006).

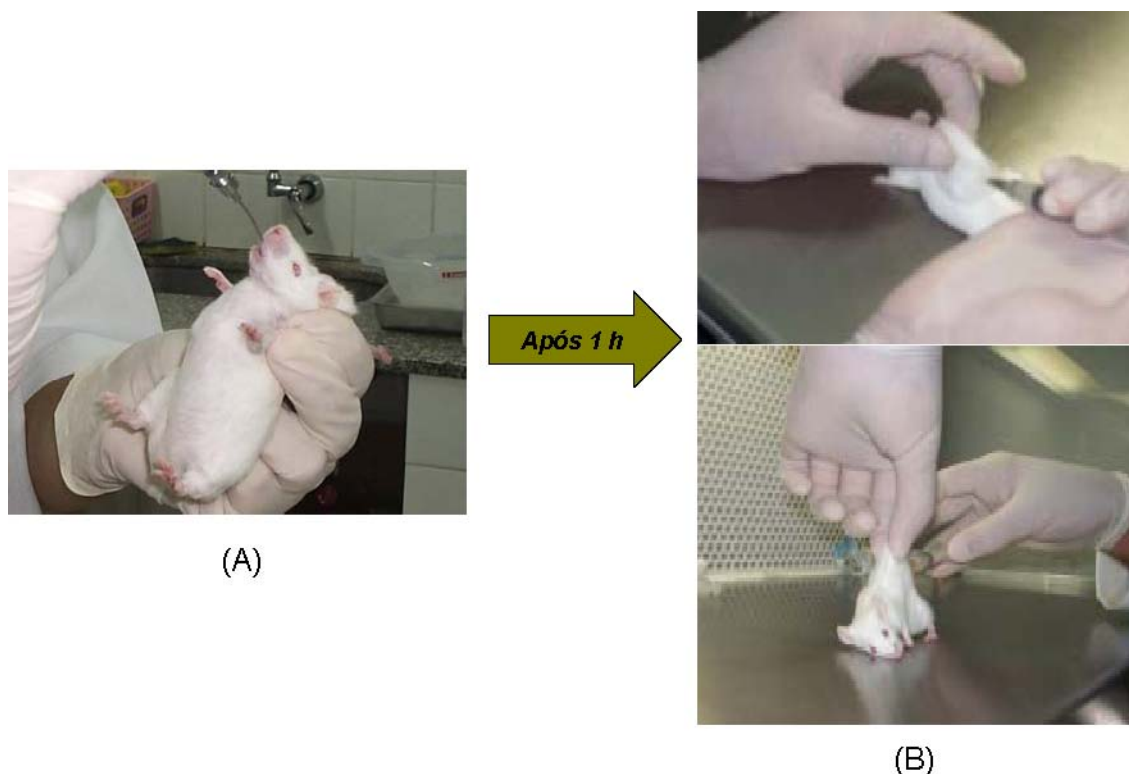


Figura 20 - (A) Administração por via oral dos compostos testados e (B) Administração da carragenina 1% no bolsão de ar

Seis horas após, os animais foram eutanasiados (deslocamento cervical). O bolsão foi completamente lavado com 3 mL de uma solução tampão EDTA 0,1% v/v. Em seguida, uma pequena incisão foi feita na parede do bolsão, e o exsudato foi cuidadosamente removido por meio de uma seringa estéril (Figura 21). A contagem diferencial do número total de leucócitos (PMN) foi executada microscopicamente, após diluição de uma amostra do exsudato (50 μ L) em solução de Turk (250 μ L), utilizando-se uma câmara de Neubauer. Os dados foram analisados estatisticamente através de análise de variância (ANOVA) e teste de Bonferroni com intervalo de confiança de 95%, utilizando-se o software Origin 7.0 (KHANUM, SHASHIKANTH, DEEPAK, 2004).





(D)

Figura 21 - (C) Lavagem do bolsão com EDTA 0,1% e (D) Coleta do exsudato com seringa estéril

O percentual de inibição da migração celular dos compostos testados foi calculado de acordo com a equação abaixo (PALASKA et al., 2002).

$$\text{Atividade antiinflamatória \%} = (m - m' / m) \times 100$$

Onde, m e m' representam a média do número de células nos grupos controle (veículo) e tratados, respectivamente. A contagem diferencial do número total de células do grupo controle (veículo) corresponde a 100% de inflamação. Tomando-se por referência o valor do grupo controle (veículo), calculou-se o percentual de inibição da inflamação dos demais compostos. Todos os valores descritos nas figuras e texto foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM) para o número de animais estudados (n = 6).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Seis novos compostos das séries LPSF/SF e LPSF/GQ foram estudados para a atividade antiinflamatória no modelo de inflamação do bolsão ar induzido por carragenina em camundongos, nas doses de 0,3 e 3 mg/Kg administrados oralmente.

Todos os representantes das séries LPSF/SF e LPSF/GQ testados demonstraram interessante atividade antiinflamatória, com um percentual de inibição da migração celular variando entre 34,97 a 78,21% (Tabela 6).

Tabela 6 – Atividade Antiinflamatória apresentada pelos derivados das séries LPSF/SF e LPSF/GQ com respectivas doses em mg/Kg de peso corpóreo do camundongo. Os valores apresentados são significativos para o intervalo de confiança de 95% (ANOVA, teste de Bonferroni)

Derivado	Substituinte no anel benzílico	Dose (mg/Kg)	Concentração Molar (mMol/Kg)	Contagem de PMN (10^5 /mL)	Percentual de inibição de migração celular
LPSF/SF-10	NO ₂	0,3	$7,92 \cdot 10^{-1}$	$19,22 \pm 1,44$	60,91
LPSF/SF-13	NO ₂	3	7,16	$15,65 \pm 1,87$	68,17
		0,3	$7,16 \cdot 10^{-1}$	$31,98 \pm 3,02$	34,97
		0,03	$7,16 \cdot 10^{-2}$	$17,96 \pm 0,003$	19
LPSF/SF-15	NO ₂	3	6,68.	$10,72 \pm 1,30$	78,21
		0,3	$6,68 \cdot 10^{-1}$	$23,05 \pm 1,67$	53,13
		0,03	$6,68 \cdot 10^{-2}$	$18,97 \pm 0,03$	14
LPSF/SF-17	NO ₂	3	6,98	$15,66 \pm 1,44$	68,15
		0,3	$6,98 \cdot 10^{-1}$	$18,91 \pm 3,75$	61,56
LPSF/GQ-22	CH ₃	3	8,47	$16,73 \pm 1,87$	65,98
LPSF/GQ-23	CH ₃	0,3	$7,18 \cdot 10^{-1}$	$17,75 \pm 0,93$	63,91
Piroxicam		3	9,05	$15,06 \pm 1,91$	69,37
Salina				$49,18 \pm 1,91$	-

PMN = Leucócitos polimorfonucleares. Camundongos tratados oralmente com os novos derivados tiazolidínicos nas doses mencionadas. Cada valor representa a média $\pm$ erro padrão de n = 6 animais. O percentual de inibição foi calculado de acordo com a equação: Atividade antiinflamatória % = $(m-m'/m) \times 100$

Daniel Tarciso Martins Pereira

O composto 5-(3-bromo-4-metóxi-aryliden)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-15) (**29**) revelou-se o mais efetivo dentre os testados na dose de 3 mg/kg, alcançando um nível de inibição (78,21 %) da migração celular superior ao piroxicam, droga padrão (69,37 %) (Figura 22). Também observamos inibição da migração celular com os compostos 5-(3-bromo-aryliden)-3-(4-nitrobenzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-13) (**28**) (68,17%), o 5-(3,4,5-trimetóxiaryliden)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-

2,4-diona (LPSF/SF-17) (**30**) (68,15 %) e o 5-(3-bromo-4-metóxi-arilideno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ22) (**24**) (65,98%) na dose de 3 mg/Kg.

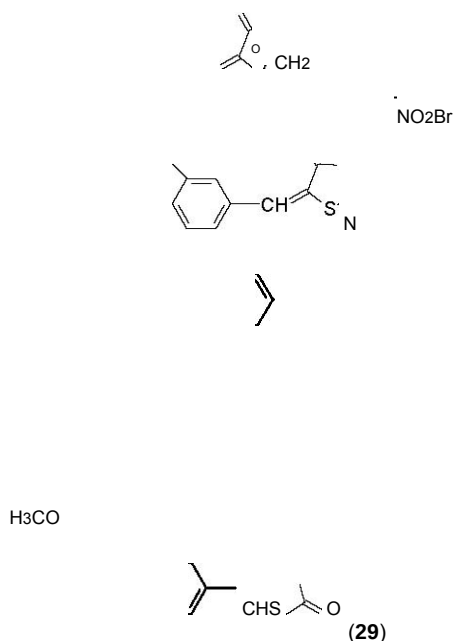


Figura 22 – Estrutura química do 5-(3-bromo-4-metóxi-arilideno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-15) (**29**)

Adicionalmente, a substituição do grupamento arilideno pelo grupo 1*H*indol-3-il-metileno na posição 5 do núcleo tiazolidínico levou a uma acentuada redução na inibição da migração celular observada no derivado 5-(1*H*-indol-3-ilmetileno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-10) (**26**) (47,14%), na dose 3 mg/kg (Figura 23).

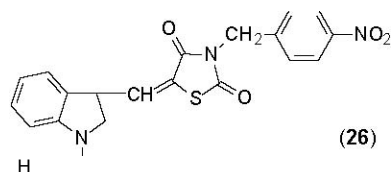
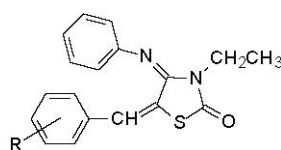


Figura 23 - Estrutura química do 5-(1*H*-indol-3-il-metilideno)-3-(4-nitro-benzil)thiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-10) (**26**)

5.3.1. Influência dos Substituintes na Resposta Biológica

Ottanà e colaboradores (2005a) verificaram que derivados tiazolidínicos com grupamento arilideno de configuração (*Z*), geralmente conduzem a inibição da COX-2. Ao mesmo tempo, a introdução de um substituinte na posição *para* deste grupamento representa uma contribuição positiva na inibição da COX-2, com exceção do grupamento 4-SO₂CH₃. Adicionalmente, este estudo demonstrou que o grupamento 4-OCH₃ é muito mais ativo do que o seu análogo 3-OCH₃ em igual concentração e que substituições bioisostéricas do átomo de oxigênio pelo de enxofre resultando em 4-SCH₃, conduz a um melhoramento na resposta (Figura 24).



R = 3-OCH₃; 4-S-CH₃; 4-SO₂CH₃; 4-OCH₃; 4-Cl; 3,4-(OCH₃)₂

Figura 24 - Estrutura química do 5-arilideno-2-fenilimino-3-propil-thiazolidinona

Considerando-se os representantes da série LPSF/SF, destacamos o derivado LPSF/SF-15 (**29**) com percentuais de inibição da migração celular de 78,21% e 53,13%, para as doses de 3 e 0,3 mg/kg respectivamente (Gráfico 1). Nos derivados substituídos com o grupamento nitro em posição *para* do grupo benzílico (LPSF/SF), destacamos a contribuição do grupamento metoxi em *para* no grupo arilideno que se associa aos efeitos elétron-retirador do átomo de bromo (LPSF/SF 15) (**29**), como relevantes para a atividade antiinflamatória. A retirada o grupamento metóxi em *para* conduz ao derivado LPSF/SF-13 (**28**) que apresenta apenas os efeitos eletrônicos do átomo de bromo na mesma posição, contribuindo para redução moderada na atividade antiinflamatória. Quando substituímos o grupamento nitro (LPSF/SF-15) (**29**) (78,21%) na posição *para* do grupo benzílico por um grupamento metila (LPSF/GQ-22) (**24**) (65,98%), observamos uma redução da atividade antiinflamatória. Este resultado sugere que o grupamento nitro na posição *para* do grupo benzílico representa uma contribuição química positiva para ação inibitória da migração celular, provavelmente devido aos efeitos elétron-retirador do

grupo nitro (Gráficos 1 e 2) (Figura 25).

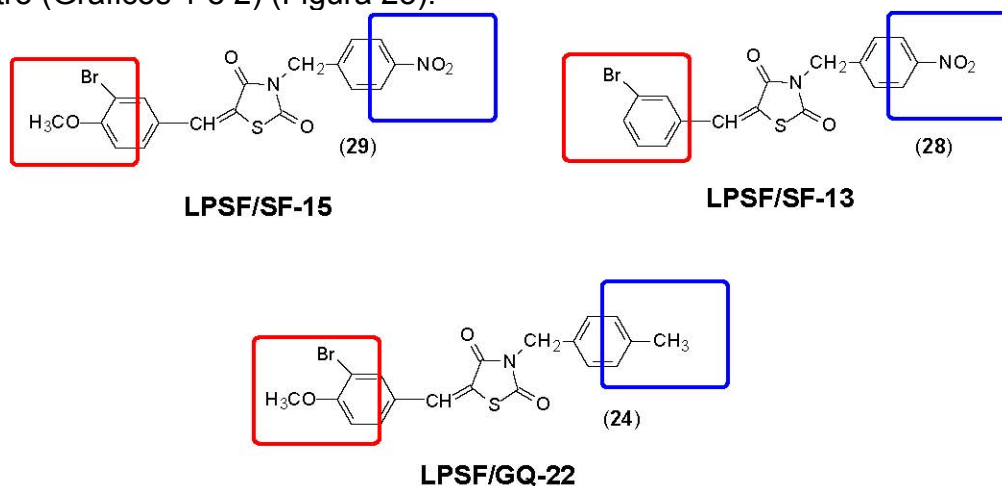


Figura 25- Derivados tiazolidínicos sintetizados pelo LPSF/GPIT/UFPE

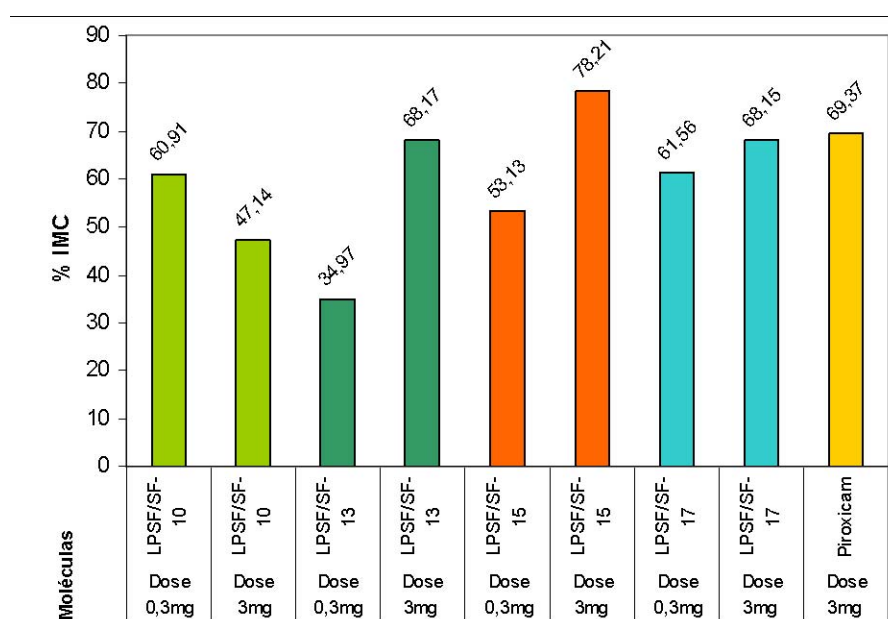
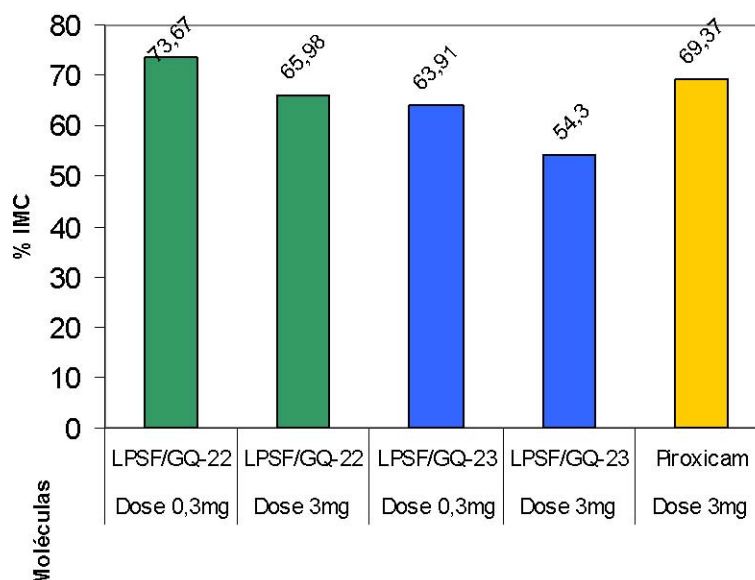


Gráfico 1 - Percentual de Inibição da migração celular dos derivados 5-arilideno-3(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF). O percentual de inibição foi calculado de acordo com a equação: Atividade antiinflamatória % = $(m-m'/m) \times 100$

Gráfico 2 - Percentual de Inibição da migração celular dos derivados 5-arilideno-3(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ). O percentual de inibição foi calculado de acordo com a equação: Atividade antiinflamatória % = $(m-m'/m) \times 100$



Surpreendentemente, os dados obtidos neste experimento com os derivados da série LPSF/GQ demonstram que a atividade inibitória relacionada a migração de PMN reduziu com o aumento da dose administrada. Resultados contrários foram achados com os derivados da série 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF), com exceção do composto LPSF/SF-10 (26).

Devido a não realização de testes específicos nenhum mecanismo de ação antiinflamatório relacionados a estes compostos pode ser sugerido. Entretanto, os resultados obtidos mostram-se significativos, fato este que sugere um estudo mais aprofundado destas séries de compostos.

ESTUDO DE MODELAGEM MOLECULAR



6. ESTUDO DE MODELAGEM MOLECULAR

6.1. Estudo da estrutura e análise conformacional dos derivados 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)-tiiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitrobenzil)-tiiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF)

A estrutura e a análise conformacional dos representantes da série LPSF/GQ e LPSF/SF, explorados quanto a sua atividade antiinflamatória, foram obtidas utilizando o

método AM1 (DEWAR et al., 1985), do programa BioMedCache [BioMedCACHe version 6.1, Copyright ©2000-2003 Fujitsu Limited, Copyright©1989-2000, Oxford Molecular Ltd., <http://www.CACHeSoftware.com>], usando os valores de default para critério de convergência.

Os resultados obtidos nestes cálculos estão de acordo com os estudos realizados anteriormente por Mourão e colaboradores (2005) com derivados 5-arilideno-tiazolidinônicos e confirmam o isômero configuração Z como o mais estável.

6.2. Forma de ligação dos derivados 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF) no sítio ativo da COX-2

Utilizando, como alvo, o complexo enzimático SC-558/COX, simulações computacionais foram realizadas para explorar o modo de ligação dos representantes das séries LPSF/GQ e LPSF/SF, candidatos a agentes antiinflamatórios. O programa usado para esses cálculos foi o FlexX, que é um programa de “docking” que considera a flexibilidade do ligante (RAREY et al., 1996).

A estrutura cristalina da enzima COX-2 complexada com o inibidor SC-558 seletivo para COX-2 (1-phenylsulfonamide-3-trifluoromethyl-5-parabromophenylpyrazole) (Figura 26), está disponibilizada no banco de dados do RCSB Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb>) (6COX – código – PDB). A conformação e orientação espacial do SC-558 extraído do complexo cristalográfico inibidorenzima foi usado como modelo para a avaliação dos compostos representantes das séries 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF) no sítio ativo da enzima. O sítio ativo foi definido com os átomos a uma distância de raio de 6,5Å do ligante co-cristalizado. O modelo de interação proposto para os ligantes no sítio ativo da 6COX foi determinado como sendo a conformação de maior estabilidade (melhor “docking”) dentre as 30 conformações geradas no modelo ligante de acordo com a função “score” do programa FlexX, ou seja, a estrutura que apresenta a energia de ligação mais favorável (energia de binding). As geometrias destes compostos foram, subseqüentemente, otimizadas usando o campo de força Tripos com cargas Gasteiger-Hückel (Sybyl version 7.2, Tripos Associates Inc., St. Louis, Missouri, USA).

6.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de validar o protocolo de “docking”, o ligante conformacional SC-558 (Figura 26) foi retirado da estrutura cristalográfica do complexo COX-2/ligante e em seguida, realizado o “docking” no sítio ativo. A análise estrutural do complexo SC-558/COX-2 indicou que o inibidor seletivo interagiu com os aminoácidos His90 e Leu352 (Figura 27).

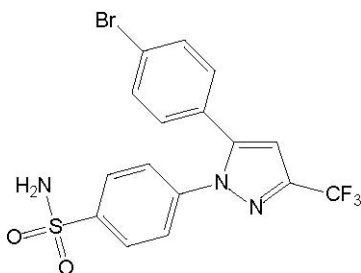


Figura 26 - SC-558, inibidor seletivo da COX-2

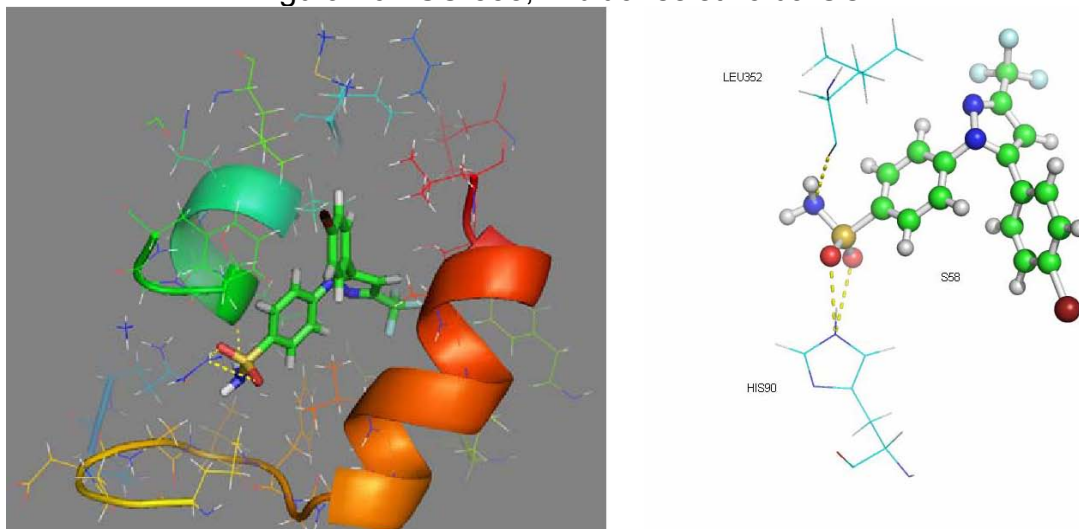


Figura 27 – Modo de ligação do ligante SC-558 ao sítio ativo da COX-2. Principais ligações de hidrogênio (em amarelo) formadas entre o radical amino e o átomo de oxigênio do ligante SC-558 e os aminoácidos His90 e Leu352 no sítio ativo da COX-2.

Adicionalmente, o piroxicam (Figura 28), inibidor não seletivo da COX, utilizado como padrão de referência na avaliação da atividade antiinflamatória dos representantes das séries LPSF/GQ e LPSF/SF, interage com o sítio da COX-2 por meio de ligações de hidrogênio com os aminoácidos Ser530 e Val523 (Figura 29).



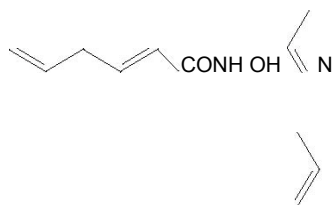


Figura 28 - Piroxicam, derivado oxicam, inibidor não seletivo da COX

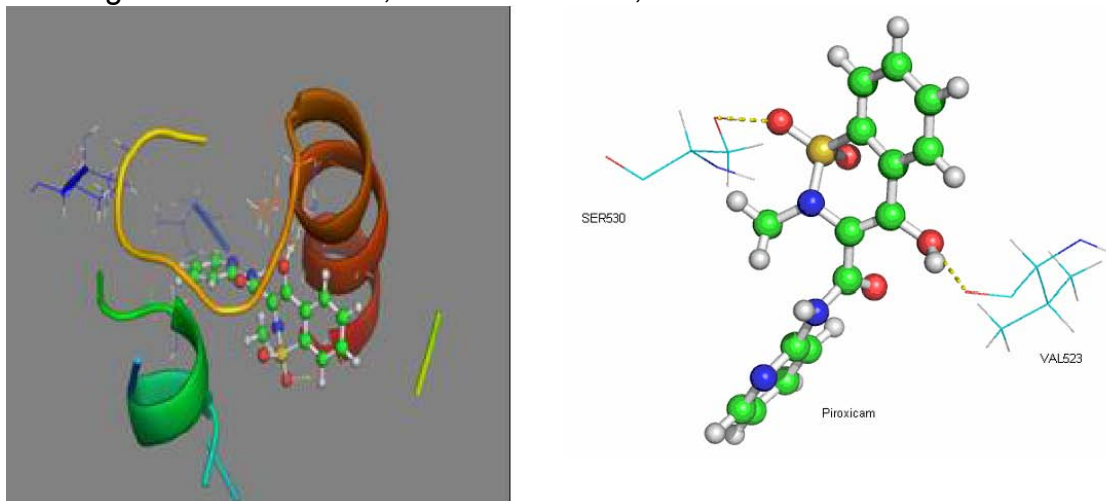
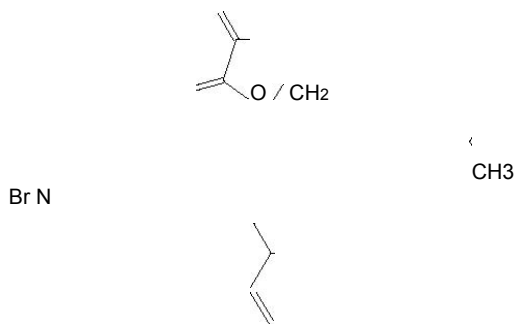
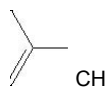


Figura 29 – Modo de ligação do piroxicam ao sítio ativo da COX-2. Principais ligações de hidrogênio (em amarelo) formadas com os aminoácidos Ser530 e Val523

O perfil de ligação dos compostos representantes das séries 5-arilideno-3(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF) no sítio ativo da enzima COX-2 foi comparado com o perfil do composto SC-558.

O representante mais ativo da série LPSF/GQ, o composto 5-(3-bromo-4-metóxi-arilideno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-22) (0,3 mg/kg) (**24**) interage com a COX-2, através de ligação de hidrogênio entre o oxigênio do substituinte *p*-metóxi do grupamento arilideno e o aminoácido Glu343 (Figura 30 e 31).





.O

H₃CO

S

Figura 30 – LPSF/GQ-22, derivado da série LPSF/SF, candidato a agente antiinflamatório

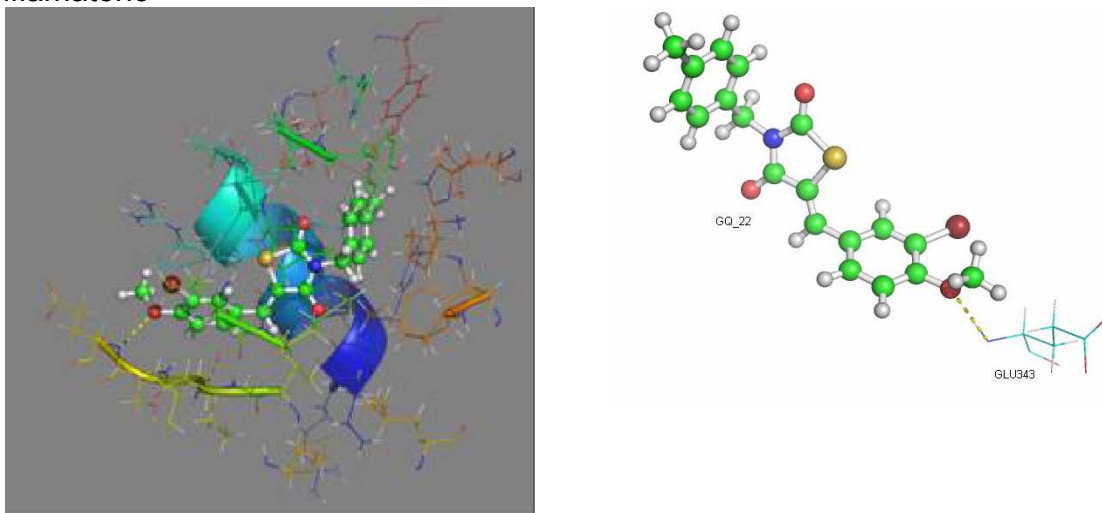


Figura 31 – Perfil de ligação do LPSF/GQ 22 ao sítio ativo da COX-2. Principais ligações de hidrogênio (em amarelo) formadas com o oxigênio do substituinte *p*metóxi do grupamento arilideno e o aminoácido Glu343.

A análise estrutural do complexo SC-558/COX-2 demonstra que a forma de ligação do inibidor seletivo da COX-2 ocorre através de ligações com os aminoácidos His 90, Gln 192, e Arg 513, localizados no fundo do sítio ativo da COX-2. O composto 3-(4-nitro-benzil)-5-(3,4,5-trimetóxi-arilideno)-tiazolidina-2,4diona (LPSF/SF-17) (30), apresentou a menor energia de ligação livre (-27,044 Kcal/mol) ou seja, conformação estrutural com a menor energia de ligação. O modo de ligação do composto LPSF/SF-17 (30) (68,15 %) com o sítio ativo da COX-2 ocorre através de ligações de hidrogênio, entre os átomos de oxigênio dos substituintes 3,5-metóxi do grupamento arilideno com os aminoácidos Glu343 e Arg288 e, entre o substituinte nitro do grupamento benzílico com os aminoácidos His323, Tyr473 e Ser289 (Figura 32).

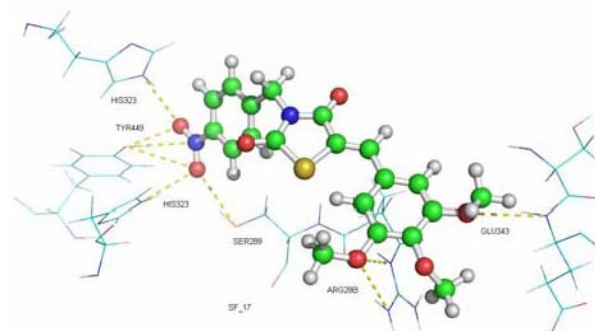
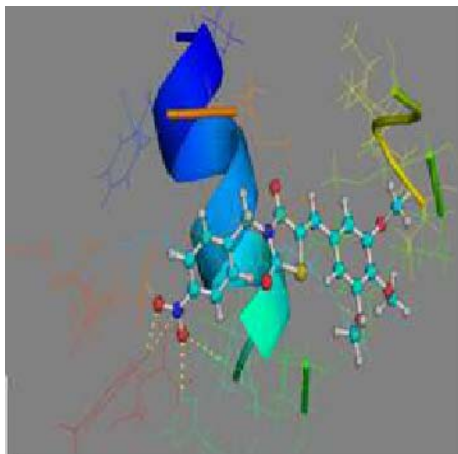


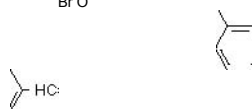
Figura 32 – Modo de ligação do LPSF/SF-17 ao sítio ativo da COX-2. Principais ligações de hidrogênio (em amarelo) formadas entre os átomos de oxigênio dos substituintes 3,5-metóxi do grupamento arilideno com os aminoácidos Glu343 e Arg288 e, entre o substituinte nitro do grupamento benzílico com os aminoácidos His323, Tyr473 e Ser289.

Na Tabela 7, estão expressos os resultados de “docking” para os representantes das séries 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF), conforme modelo de interação proposto para os ligantes no sítio ativo da COX-2 de acordo com a função “score” do programa FlexX.

Tabela 7 – Resultados de “docking” dos ligantes das séries LPSF/GQ, LPSF/SF, e piroxicam na COX-2.

COMPOSTOS	Energia livre de ligação Kcal/mol	Dose mg/Kg	Inibição da migração celular %
-----------	--------------------------------------	---------------	-----------------------------------

Br O



-CH2

CH3

N

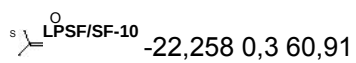
H3CO HC



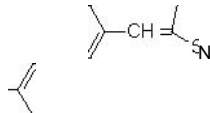
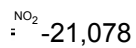
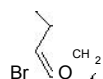
S

-14,599 3 65,98

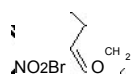
° LPSF/GQ-22



3



3



-24,170



LPSF/SF-15 0,3

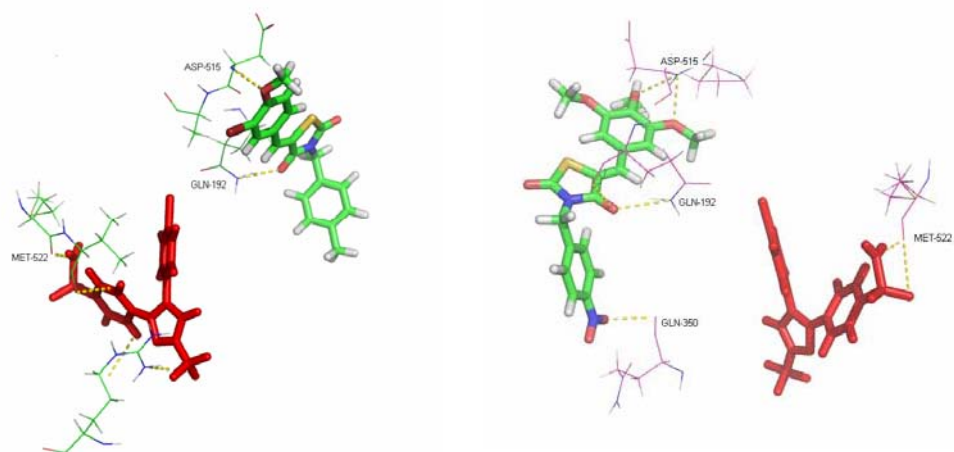


Figura 33 – Modo de ligação dos compostos LPSF/GQ-22, LPSF/SF-17 e SC-558 ao sítio ativo da COX-2 (em vermelho).

Derivados da tiazolidina-2,4-diona, a exemplo da rosiglitazona, atuam como agonistas sintéticos dos receptores ativados pelo proliferador peroxissômico - PPAR γ , envolvido em uma ampla variedade de funções fisiológicas e patológicas como o câncer, aterosclerose, diabetes tipo 2 e doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer's (TSUKAMOTO et al., 2004; SUBBARAMAIAH et al., 2001).

Atualmente, tem havido um grande interesse na função do PPAR γ no evento inflamatório. DEVCHAND et al. (1996) foi o primeiro a relatar que camundongos deficientes em PPAR γ apresentavam um aumento na resposta inflamatória induzida por leucotrieno B₄ e ácido araquidônico. Diferentes agonistas tiazolidínicos PPAR γ atuam inibindo diferentes funções imunes em macrófagos; células endoteliais; linfócitos T e B e células dendríticas (FEINSTEIN et al., 2005). Estudos realizados por KATO et al. (1999) tem demonstrado que derivados da tiazolidina-2,4-diona atuam inibindo a expressão do mRNA PAI-1 induzido por TNF- α , e provavelmente, este mecanismo é regulado pelo PPAR γ , em concentrações micromolares (10-20 μ M), reduzindo este fator de risco associado a aterosclerose. Rosiglitazona e troglitazona, derivados tiazolidínicos agonistas do PPAR γ , inibem a inflamação em modelos de colite. A rosiglitazona também atua inibindo o edema induzido por adjuvante completo de Freund e carragenina (OLIVEIRA et al, 2007). No cérebro humano, a alterada expressão de mRNA da COX-2 está relacionada como uma evidência do mal de Alzheimer. SUBBARAMAIAH et al. (2001), relata que agonistas PPAR γ tais como a troglitazona suprimem a ativação transcricional da COX-2 em células humanas.

Estas evidências e os resultados da atividade antiinflamatória dos representantes da série LPSF/GQ e LPSF/SF, fornecem a base para a investigação do “docking” no PPAR γ (tabela 8).

Tabela 8 – Resultados de “docking” dos ligantes das séries LPSF/GQ, LPSF/SF e rosiglitazona.

COMPOSTOS	Energia livre de ligação Kcal/mol
-----------	--------------------------------------

COMPOSTOS	Kcal/mol
LPSF/GQ-22	-14,602
LPSF/SF-10	-22,910
LPSF/SF-13	-22,679
LPSF/SF-15	-26,547
LPSF/SF-17	-27,972
Rosiglitazona	-34,029

Utilizando como alvo a estrutura da macromolécula do PPAR γ , obtida do banco de dados de proteínas RCSB Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb>) onde a rosiglitazona está co-cristalizada com essa enzima com código 2PRG – PDB, observou-se que os representantes das séries LPSF/GQ e LPSF/SF, quando comparados com o ligante Rosiglitazona, encontram-se ancorados nos mesmos resíduos ligante no sítio ativo da enzima. A rosiglitazona forma ligações de hidrogênio com os aminoácidos Ser289, His323, Gln286, His449 e Tyr473, enquanto que o composto LPSF/SF-13, mostra-se sobreposto a rosiglitazona, ligando-se, através de ligações de hidrogênio, aos aminoácidos His449, Tyr473 e Gln286 (Figura 34).

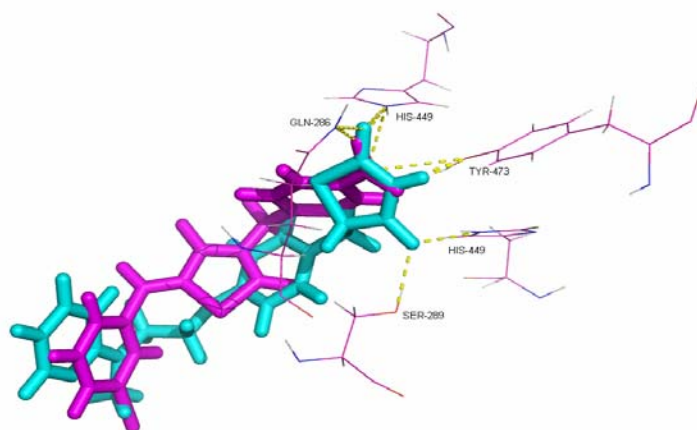


Figura 34 – Modo de ligação dos compostos LPSF/SF-13 (roxo) e rosiglitazona (azul) sobrepondo-se simultaneamente no sítio ativo do complexo PPAR γ .

Adicionalmente, o composto LPSF/SF-15, interage com o PPAR γ , no mesmo sítio ativo da rosiglitazona, através de ligações de hidrogênio, entre os oxigênios do grupo nitro do anel benzílico em posição 3 com os aminoácidos Gln286, His449 e Tyr473.

Estes mesmos aminoácidos também estão envolvidos na formação de pontes de hidrogênio com o oxigênio em posição 2 – His449 e Gln286 e com o átomo de nitrogênio em posição 3 – Tyr473 na rosiglitazona. O oxigênio do grupo metoxila em posição *para* do grupo benzilideno forma pontes de hidrogênio com os aminoácidos Ser342 e Glu343 (Figura 35).

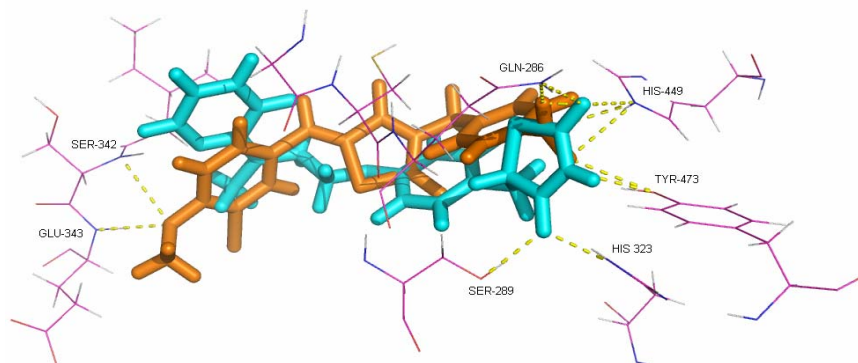


Figura 35 – Modo de ligação dos compostos LPSF/SF-13 (laranja) e rosiglitazona (azul) sobrepondo-se simultaneamente no sítio ativo do complexo PPAR γ .

Os compostos LPSF/SF13 e LPSF/SF15, representantes da série 5arilideno-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF), demonstraram uma energia de ligação no complexo PPAR γ da ordem de -22 Kcal/mol e -26 Kcal/mol respectivamente. Deste modo, acreditamos que estes compostos agonistas do PPAR γ possam estar contribuindo para o mecanismo de ação antiinflamatório.



7. CONCLUSÕES

Recentes estudos têm demonstrado o potencial dos derivados tiazolidínicos contribuindo para a regulação da resposta inflamatória em diferentes modelos experimentais *in vivo* e *in vitro*.

Dezenove novos derivados tiazolidínicos 3,5-substituídos das séries LPSF/GQ e LPSF/SF foram sintetizados e tiveram suas estruturas químicas elucidadas por espectroscopia de infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e espectrometria de massas.

Seis representantes das séries LPSF/GQ e/ou LPSF/SF tiveram sua atividade antiinflamatória investigada no modelo de inflamação do bolsão de ar induzido por carragenina em camundongos. Todos os derivados tiazolidínicos testados demonstraram uma atividade antiinflamatória, com um percentual de inibição da migração celular variando entre 34,97 a 63,91% para a dose de 0,3 mg/Kg. Destacamos o derivado 5-(3-bromo-4-metóxi-benzilideno)-3-(4-nitrobenzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/SF-15) (29), com 78,21% de inibição da migração celular, na dose de 3 mg/kg, perfil de atividade superior ao fármaco piroxicam.

Algumas características estruturais dos compostos sintetizados das séries LPSF/GQ e LPSF/SF que contribuíram efetivamente para a ação antiinflamatória foram identificadas, particularmente a presença dos substituintes metóxi e fenil em posição *para* no grupo benzilideno. Deste modo, estes substituintes conduziram na potencialização da inibição da migração de leucócitos polimorfonucleares para o local da inflamação.

Os resultados obtidos com os representantes das séries LPSF/GQ e/ou LPSF/SF, no modelo de inflamação do bolsão de ar induzido por carragenina, são importantes e comprovam o potencial dos derivados tiazolidínicos substituídos em posição 3 e 5 como candidatos a agentes antiinflamatórios.

Adicionalmente, os resultados obtidos nos estudos de modelagem molecular com os representantes das séries LPSF/GQ e/ou LPSF/SF sugerem um provável mecanismo

antiinflamatório, para os compostos estudados, mediado via PPAR γ .

Este trabalho aponta perspectivas para um estudo aprofundado com os demais compostos destas séries, com a realização de ensaios farmacológicos complementares e determinação da DE50 a fim de esclarecer o mecanismo de ação antiinflamatório, associado com a identificação e otimização destas séries de compostos através das diferentes estratégias fundamentadas na Química Medicinal, obtendo-se novos derivados tiazolidínicos candidatos a fármacos antinflamatórias mais específicos e menos tóxicos.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, J.F.C.; ROCHA FILHO, J.A.; BRANDÃO, S.S.F.; LIMA, M.C.A.; XIMENES, E.A.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; CHANTEGREL, J.; PERRISSIN, M.; LUUDUC, C. Synthesis and antimicrobial activity of substituted imidazolidinediones and thioxoimidazolidinones. **Il Farmaco**, v. 54, p. 77-82, nov.1999.

ALVAREZ, J.C. High-throughput docking as a source of novel drug leads. **Current Opinion in Chemical Biology**, v.8, p. 1–6, 2004.

BARANOV, S.N.; KOMARITSA, I.D. Khim. Geter. Soed. v. 1, p. 69-73, 1965. *In*: LIMA, J.G. Alguns aspectos químicos do anel tiazolidina-2,4-diona. **Rev. Univ. Rural, Série Ciênc. Exat. e da Terra**, v. 18/20, n. 1/2, p. 1-8, jan.1996/dez. 1998.

BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M.; MIRANDA, A.L.P.; RODRIGUES, C.R. A Química Medicinal de N-Acildrazonas: Novos Compostos-Protótipos de Fármacos Analgésicos, Antiinflamatórios e Anti-Trombóticos. **Química Nova**, v. 25, No. 1, 129-148, 2002.

BOTTING, R.M. Cyclooxygenase: Past, present and future. A tribute to John R. Vane (1927-2004). **Journal of Thermal Biology**, v. 31, p. 208-219, 2006.

BRADSHAW, C.K.; BROWN, F.C.; SINCLAIR, E.F.J. Some analogs of 3benzylrhodanine. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 78, n. 23, p. 6189-6192, dec.1956.

BUCKINGHAM, R.E Thiazolidinediones: Pleiotropic drugs with potent anti-inflammatory properties for tissue protection. **Hepatology Research**, v. 33, p. 167–170, sept. 2005.

BUCKWALTER, J.A.; MARTIN, J.A. Osteoarthritis, **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 58, p. 150– 167, 2006.

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

CHEN, Q.-H., PRAVEEN RAO, P.N.; KNAUS, E. E. Synthesis and biological evaluation of a novel class of rofecoxib analogues as dual inhibitors of cyclooxygenases (COXs) and lipoxygenases (LOXs). **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14. p. 7898–7909, 2006

CHISHOLM, B.; POTYRAILO, R.; SHAFFER, R.; CAWSE, J.; BRENNAN, M.; MOLAISON, C. Combinatorial chemistry methods for coating development VI. Correlation of high throughput screening methods with conventional measurement techniques. **Progress in Organic Coatings**, v. 48, p. 219–226, 2003.

COPE, A.C. Condensations reactions. I. The condensation of ketones with cyanoacetic esters and the mechanism of the Knoevenagel reaction. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 59, p. 2327-2330, 1937.

COPE, A.C.; HOFMANN, C.M.; WYCKOFF, C.; HARDENBERGH, E. Condensation reactions. II. Alkylidene cyanoacetic and malonic esters. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 63, p. 3452-3456, 1941.

COSTA, D.L.B.; CHANTEGREL, J.; LIMA, M.C.A.; ALBUQUERQUE, J.F.C.; LIMA, R.M.O.C.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; LUU-DUC, C. Imidazolidinediones et thiazolidinediones substituées: synthese, etude struturelle et activite cytotoxique. **J. Pharm. Belg.**, v. 50, p. 5-10, 1995.

COUTO, J.A. **Novos Compostos 5-(4-metil-sulfonil-benzilideno)imidazolidínicos e tiazolidínicos: Síntese, Elucidação Estrutural e Atividade Antiinflamatória**. 2006. (Mestrado em Biotecnologia de Produtos Bioativos) Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brasil.
DAVIS, J.A.; DAINS, F.B. Some alkyl derivatives of certain aryl substituted thiazolidones. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 57, p. 2627-2633, 1935.

DEMOEN, J. Bull. Soc. Chim. Belg., v. 75, p. 524, 1966. *In*: LÓPEZ, C.A.; TRIGO, G. The chemistry of hydantoins. **Advances in Heterocyclic Chemistry**, v, 38, p. 177-227, 1985.

DERKOSCH, J. Monatsh. Chem. v. 75, p. 524, 1966. *In*: LÓPEZ, C.A.; TRIGO, G. The chemistry of hydantoins. **Advances in Heterocyclic Chemistry**, v, 38, p. 177-227, 1985.

DESMET, C.; WARZÉE, B.; GOSSET, P.; MÉLOTTE, D.; RONGVAUX, A.; GILLET, L.; FIÉVEZ, L.; SEUMOIS, G.; VANDERPLASSCHEN, A.; STAELS, B.; LEKEUX, P.; BUREAU, F. Pro-inflammatory properties for thiazolidinediones. **Biochemical Pharmacology**, v. 69, p. 255–265, 2005.

DEWAR, M.J.S; ZOEBISCH, E.G.; HEALY, E.F. ; STEWART, J.J.P. **J. Amer. Chem. Soc.** v. 107, p. 3902-3909, 1985.

FARHANGKHOEE, H.; KHAN, Z.A.; KAUR, H.; XIN, X.; CHEN, S.; CHAKRABARTI, S. Vascular endothelial dysfunction in diabetic cardiomyopathy: Pathogenesis and potential treatment targets. **Pharmacology & Therapeutics**, Article in Press, No of Pages 16, 2005.

FEINSTEIN, D.L.; SPAGNOLO, A.; AKAR, C.; WEINBERG, G.; MURPHY, P.; GAVRILYUK, V.; RUSSO, C.D. Receptor-independent actions of PPAR thiazolidinedione agonists: Is mitochondrial function the key? **Biochemical Pharmacology**, v. 70, p. 177–188, 2005.

FINKBEINER, H. The carboxylation of hydantoins. **J. Org. Chem.**, v. 30, p. 3414-3419, 1965.

FIORUCCI, S.; MELI, R.; BUCCI, M.; CIRINO, G. Dual inhibitors of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase. A new avenue in anti-inflammatory therapy? **Biochemical Pharmacology**, v. 62, p. 1433–1438, 2001.

GAMBERO, A.; BECKER, T.L.; GURGUEIRA, S.A.; BENVENGO, Y.H.B.; RIBEIRO, M.L.; MENDONÇA, S.; PEDRAZZOLI JR., J. Acute inflammatory response induced by *Helicobacter pylori* in the rat air pouch. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, 38, 193-198, 2003.

GONZALEZ-GAY, M.A.; GONZALEZ-JUANATEY, C.; MARTIN, J. Rheumatoid Arthritis: A Disease Associated with Accelerated Atherogenesis. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, p. 8-17, 2005.

IALENTI, A.; IANARO, A.; MONCADA, S.; DI ROSA, M. Modulation of acute inflammation by endogenous nitric oxide, **European Journal of Pharmacology**, v. 211, p. 177-182, 1992.

KATO, K.; SATOH, H.; ENDO, Y.; YAMADA, D.; MIDORIKAWA, S.; SATO, W.; MIZUNO, K.; FUJITA, T.; TSUKAMOTO, K.; WATANABE, T. Thiazolidinediones down-regulate plasminogen activator inhibitor type 1 expression in human vascular endothelial cells: a possible role for PPAR gamma in endothelial function, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v.258, p. 431–435, 1999.

KIM, J.Y.; HWANG, Y.P.; KIM, D.H.; HAN, E.H.; CHUNG, Y.C.; ROH, S.H.; JEONG, H.G. Inhibitory Effect of the Saponins Derived from Roots of *Platycodon grandiflorum* on Carrageenan-Induced Inflammation. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v. 70 (4), p. 858–864, 2006.

KOCHKANYAN; ISRAELYAN; ZARITOUSKII, 1978

KOO, H.J.; LIM, K.H.; JUNG, H.J.; PARK, E.H. Anti-inflammatory evaluation of gardenia extract, geniposide and genipin. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, p.496–500, 2006.

KUREBAYASHI, S.; XUA, X.; ISHII, S.; SHIRAISHI, M.; KOUHARA, H.; KASAYAMA, S. A novel thiazolidinedione MCC-555 down-regulates tumor necrosis factor- α -induced expression of vascular cell adhesion molecule-1 in vascular endothelial cells. **Atherosclerosis**, v. 182, p. 71–77, 2005.

LEITE, L.F.C.C.; MOURÃO, R.H.V.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; HERNANDES, M.Z.; NEVES, F.A.R.; VIDAL, S.; BARBE, J.; PITTA, I.R. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies of arylidenethiazolidinediones with potential hypoglycemic and hypolipidemic activities, *European Journal of Medicinal Chemistry*, Article in Press p.1-9, 2007.

LIBERMAN, D.; HIMBERT, J.; HENGL, L. Bull. Soc. Chim. Fr., p. 1120-1124, 1948. In: LIMA, J.G. Alguns aspectos químicos do anel tiazolidina-2,4-diona. **Rev. Univ. Rural, Sér. Ciênc. Exatas e da Terra**, v. 18/20, n. 1/2, p. 1-8, 1998.

LIMA, J.G. Alguns aspectos químicos do anel tiazolidina-2,4-diona. **Rev. Univ. Rural, Sér. Ciênc. Exatas e da Terra**, v. 18/20, n. 1/2, p. 1-8, 1998.

LIU, H.B.; HU, Y.S.; MEDCALF, R.L.; SIMPSON, R.W.; DEAR, A.E. Thiazolidinediones inhibit TNF α induction of PAI-1 independent of PPAR α activation. **Biochemical and**

Biophysical Research Communications, v. 334, p. 30–37, 2005.

LO, C.P.; SHROPSHIRE, E.Y.; CROXALL., W.J. J. Am. Chem. Soc., v. 75, p. 4845-4846, 1953. *In*: LIMA, J.G. Alguns aspectos químicos do anel tiazolidina-2,4diona. **Rev. Univ. Rural**, **♦er. Ciênc. Exatas e da Terra**, v. 18/20, n. 1/2, p 1-8, 1998.

MILLER, S.B. Prostaglandins in Health and Disease: An Overview. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v. 36, n. 1, p. 37-49, 2006.

MONTANARI, C.A. A química medicinal na próxima década. **Química Nova**, v. 23 n. 1, p. 134-137, 2000.

MOURÃO, R.H.; SILVA, T.G.; SOARES, A.L.M.; VIEIRA, E.S.; SANTOS, J.N.; LIMA, M.C.A.; LIMA, V.L.M.; GALDINO, S.L.; BARBE, J.; PITTA, I.R. Synthesis and Biological Activity of Novel Acridinylidene and Benzylidene thiazolidinediones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, p. 1129–1133, 2005.

NATHAN, C. Points of control in inflammation. **Nature**, v. 420, p. 846-852, 2002.

NATHAN, C. Oxygen and the inflammatory cell. **Nature**, v. 422, p. 675-676, 2003.

NATHAN, C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. **Nature Reviews**, v. 6, p. 173-182, 2006.

NAVEAU, B. Dual Inhibition of Cyclo-oxygenase and 5-Lipoxygenase: a Novel Therapeutic Approach to Inflammation? **Joint Bone Spine**, v. 72, p. 199-201, 2005.

OLIVEIRA, M.S. **Modelagem molecular, síntese, atividade biológica e relações quantitativas estrutura-atividade de derivados imidazolidínicos**. 2004. (Qualificação - Programa de Pós-Graduação em Química) Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brasil.

OTTANÀ, R.; MACCARI, R.; BARRECA, M.L.; BRUNO, G.; ROTONDO, A.; ROSSI, A.; CHIRICOSTA, G.; DI PAOLA, R.; SAUTEBIN, L.; CUZZOCREA, S.; VIGORITA, M.A. 5-Arylidene-2-imino-4-thiazolidinedions: Design and synthesis of novel anti-inflammatory agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 4243-4252, 2005.

PALASKA, E.; SAHIN, G.; KELICEN, P.; DURLU, N.T.; ALTINOK, G. Synthesis and anti-inflammatory activity of 1-acylthiosemicarbazides, 1,3,4-thiadiazoles and 1,2,4-triazole-3-thiones. **IL Farmaco**, v. 57, p. 101-107, 2002.

PANCHAGNULA, R.; THOMAS, N.S. Biopharmaceutics and pharmacokinetics in drug research. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 201, p. 131–150, 2000.

PAVLOV, V.A.; TRACEY, K.J. The cholinergic anti-inflammatory pathway. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 19, p. 493–499, 2005.

PETERSEN, K.F.; SHULMAN, G.I. Etiology of Insulin Resistance. **The American Journal of Medicine**, v. 119, n. 5A, p. 10S-16S, 2006.

PITTA, I.R.; LIMA, M.C.A; GALDINO, S; BARBE, J. Compostos arilidenotiazolidinadiônicos com atividade hipoglicêmica Br, PI 0144/02 em 10/04/2003.

PREVITERA, T.; VIGORITA, M.G.; BASILE, M.; FENECH, G.; TROVATO, A.; OCCHIUTO, F.; MONFORTE, M.T.; BARBERA, R. 3,3'-Di(1,3-thiazolidine-4-one) system. V. Synthesis and pharmacological properties of 3,3'(1,2-ethanediyl)bis-(2-heteroaryl-1,3-thiazolidine-4-one) derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 25, p. 569-579, 1990.

RAKOWITZ, D.; MACCARI, R.; OTTANÀ, R.; VIGORITA, M.G. In vitro aldose reductase inhibitor activity of 5-benzyl-2,4-thiazolidinediones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, p. 567–574, 2006.

RAREY, M.; KRAMER, B.; LENGAUER, T., KLEBE, G., **J. Mol. Biol.**, v. 261, p. 470, 1996.

ROMANO, M.; FAGGIONI, R.; SIRONI, M.; SACCO, S.; ECHTENACHER, B.; DI SANTO, E.; SALMONA, M.; GHEZZI, P. Carrageenan-induced acute inflammation in the mouse air pouch synovial model. Role of tumour necrosis factor. **Mediators of Inflammation**, v. 6, p. 32-38, 1997.

SANTOS, L.C.; UCHOA, F.T.; CANAS, A.R.P.A.; SOUSA, I.A.; MOURA, R.O.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; BARBE, J. Synthesis and antiinflammatory activity of new thiazolidine-2,4-diones, 4-thioxothiazolidinones and 2thioxoimidazolidinones . **Heterocyclic Communications**, v. 11(2), p. 121-128, 2005

SARZI-PUTTINI, P.; CIMMINO, M.A.; SCARPA, R.; CAPORALI, R.; PARAZZINI, F.; ZANINELLI, A.; ATZENI, F.; CANESI, B. Osteoarthritis: An Overview of the Disease and Its Treatment Strategies. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, p. 1-10, 2005.

SIMMONS, D.L. What makes a good anti-inflammatory drug target? **Drug Discovery Today**, v. 11, n.5/6, p. 210-219, 2006.

SINGH, H.; KUMAR, S.; DEWAN, S.; KUMAR, V.L. Inflammation induced by latex of *Calotropis procera* – a new model to evaluate anti-inflammatory drugs. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 43, p. 219-224, 2000.

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

SUBBARAMAIAH, K.; LIN, T.; HART, J.C.; DANNENBERG, A.J. Peroxisome proliferator-activated receptor α ligands suppress the transcriptional activation of cyclooxygenase-2, *J. Biol. Chem.*, v.27, p.12440–12448, 2001.

TSUKAMOTO, H.; HISHINUMA, T.; SUZUKI, N.; TAYAMA, R.; HIRATSUKA, M.; TOMIOKA, Y.; MIZUGAKI, M.; GOTO, J. Thiazolidinediones increase arachidonic acid release and subsequent prostanoid production in a peroxisome proliferator-activated receptor α -independent manner. **Prostaglandins & other Lipid Mediators**, v 73, p. 191–213, 2004.

UCHÔA, F.D.T. **Síntese e avaliação da atividade antiinflamatória de 5-benzilideno-3-(4-clorobenzil)-tiazolidina-2,4-dionas**. 2004. (Mestrado em Biotecnologia de Produtos Bioativos) Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brasil.

VAN KEMPEN, L.C.L.; VISSER, K.E.; COUSSENS, L.M. Inflammation, proteases and cancer. **European Journal of Cancer**, v. 42, p. 728-734, 2006.

VANE, J.; CORIN, R.E. Prostacyclin: A Vascular Mediator. **Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.**, v. 26, p. 571–578, 2003.

VANE, J.R.; BOTTING, R.M. The mechanism of action of aspirin. **Thrombosis Research**, v. 110, p. 255–258, 2003.

VANE J. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for the aspirin-like drugs. **Nature**, v. 234, p. 232-235, 1971.

VIGORITA, M. G.; OTTANÀ, R.; MONFORTE, F.; MACCARI, R.; TROVATO, A.; MONFORTE, M. T.; TAVIANO, M. F. Synthesis and antiinflammatory, analgesic activity of 3,3'-(1,2-ethanediyil)-bis[2-aryl-4-thiazolidinone] chiral compounds. Parte 10. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 11, p. 2791-2794, 2001.

WERNER, S.; ALZHEIMER, C. Roles of activin in tissue repair, fibrosis, and inflammatory disease. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, Article in press, 388; No of Pages 15, 2006.

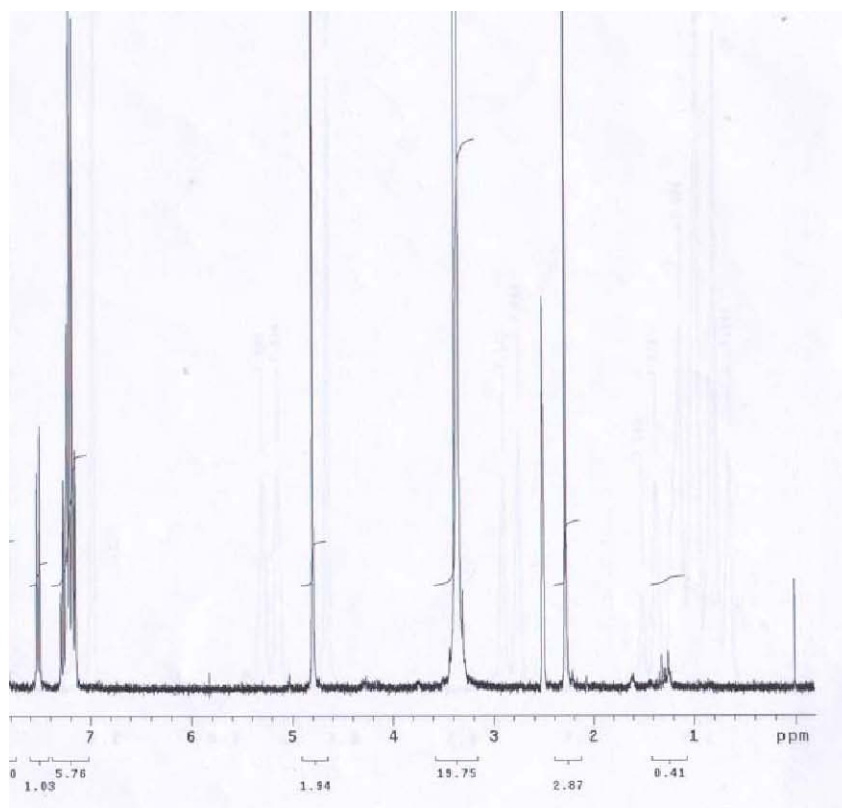
WILLOUGHBY, D.A.; MOORE, A.R.; COLVILLE-NASH, P.R. COX-1, COX-2, and COX-3 and the future treatment of chronic inflammatory disease. **The Lancet**, v. 355, p. 646-648, 2000.



ANEXOS

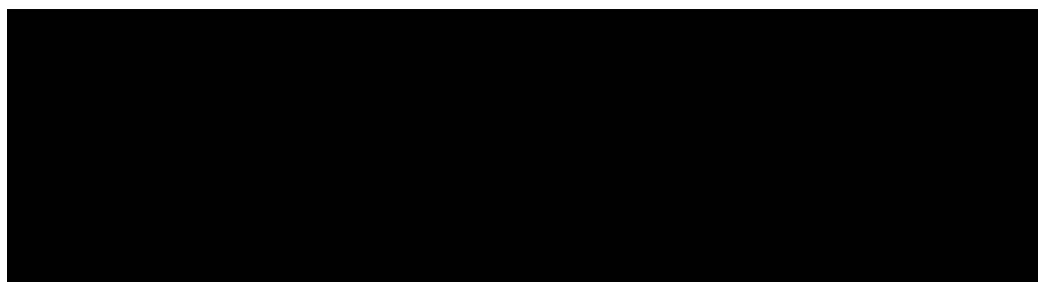
9. ANEXOS

Anexo 1 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/GQ-11 106 Anexo 2 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/GQ-22 107 Anexo 3 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/GQ-23 108 Anexo 4 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-10 109 Anexo 5 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-11 110 Anexo 6 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-13 111 Anexo 7 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-15 112 Anexo 8 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-17 113 Anexo 9 -Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-18 114 Anexo 10 -Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-19 115 Anexo 11 -Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-20 116 Anexo 12 -Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-21 117 Anexo 13 -Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-22 118 Anexo 14 -Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-24 119 Anexo 15 -Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-26 120 Anexo 16 -Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-28 121 Anexo 17 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-29 122 Anexo 18 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-31 123 Anexo 19 – Espectro de massas do composto LPSF/QG-11 124 Anexo 20 – Espectro de massas do composto LPSF/QG-22 125 Anexo 21 – Espectro de massas do composto LPSF/QG-23 126 Anexo 22 – Espectro de massas do composto LPSF/SF-10 127 Anexo 23 – Espectro de massas do composto LPSF/SF-11 128 Anexo 24 – Espectro de massas do composto LPSF/SF-13 129 Anexo 25 – Espectro de massas do composto LPSF/SF-15 130 Anexo 26 – Espectro de massas do composto LPSF/SF-17 131 Anexo 27 – Espectro de massas do composto LPSF/SF-18 132 Anexo 28 – Espectro de massas do composto LPSF/SF-19 133 Anexo 29 – Espectro de massas do composto LPSF/SF-20 134 Anexo 30 – Espectro de massas do composto LPSF/SF-24 135 Anexo 31 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-19 136 Anexo 32 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-21 136 Anexo 33 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-22 137 Anexo 34 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-23 137 Anexo 35 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-24 138 Anexo 36 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-25 138 Anexo 37 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-26 139 Anexo 38 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-27 139 Anexo 39 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-28 140 Anexo 40 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-29 140 Anexo 41 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-31 141



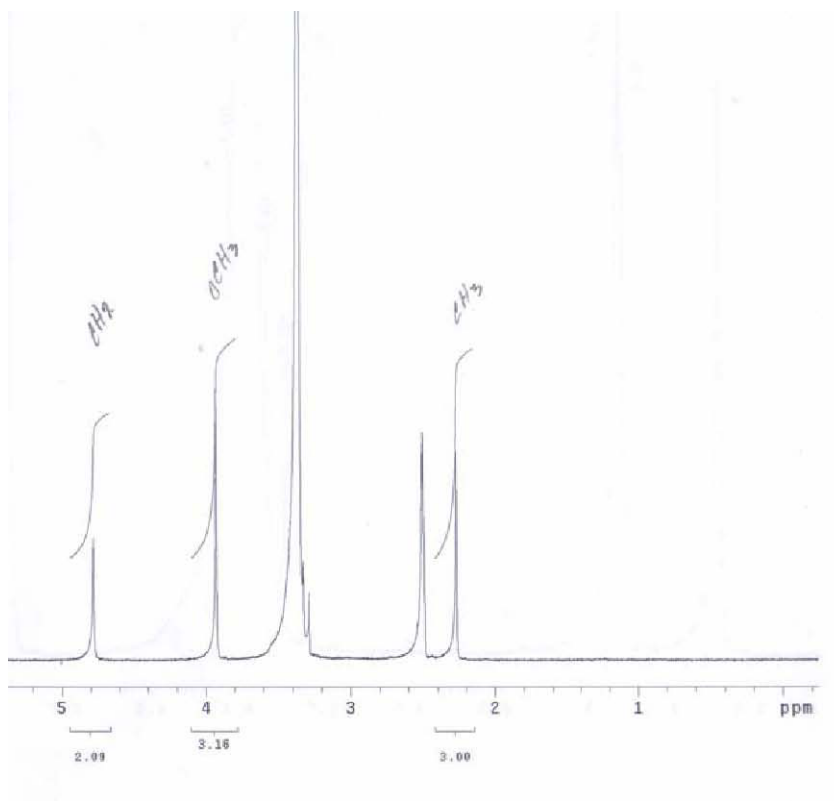
de RMN¹H do composto LPSF/GQ-11

Daniel Tarciso Martins Pereira



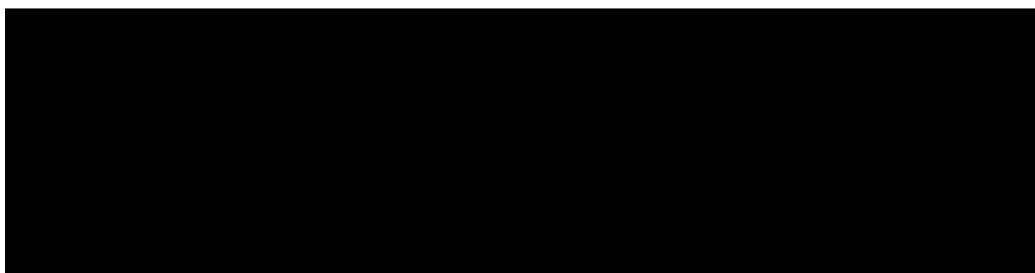
Anexo 1 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/GQ-11

Daniel Tarciso Martins Pereira



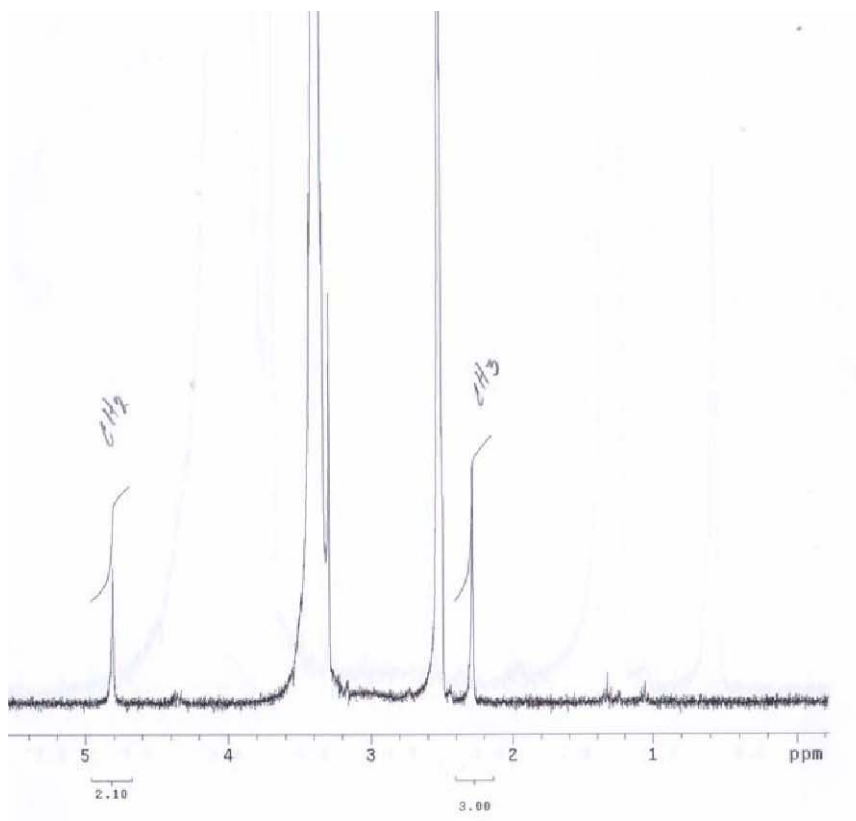
de RMN¹H do composto LPSF/GQ-22

Daniel Tarciso Martins Pereira



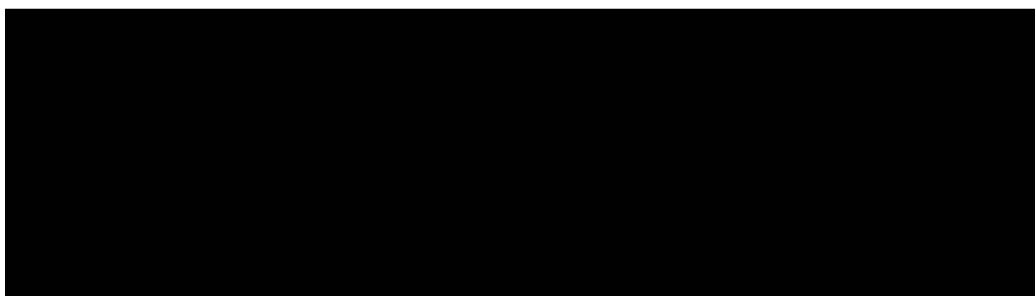
Anexo 2 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/GQ-22

Daniel Tarciso Martins Pereira



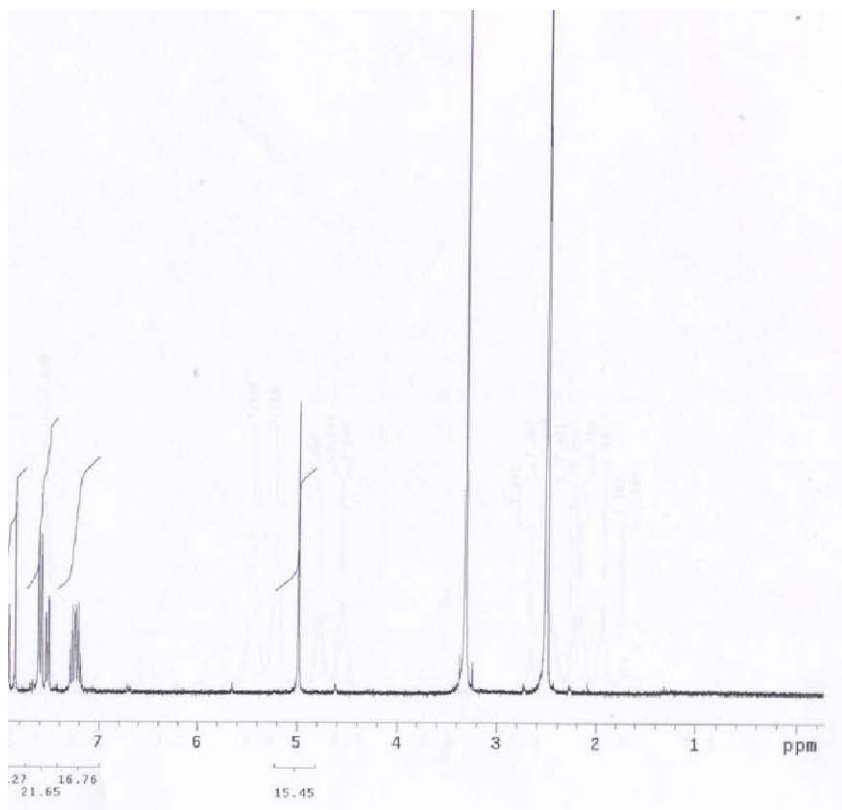
de RMN¹H do composto LPSF/GQ-23

Daniel Tarciso Martins Pereira



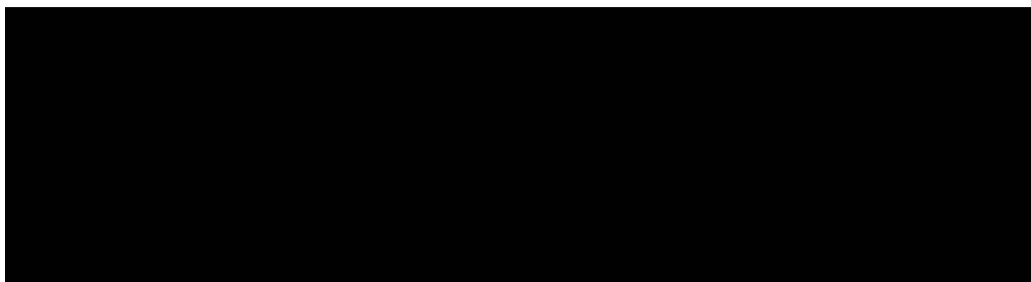
Anexo 3 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/GQ-23

Daniel Tarciso Martins Pereira



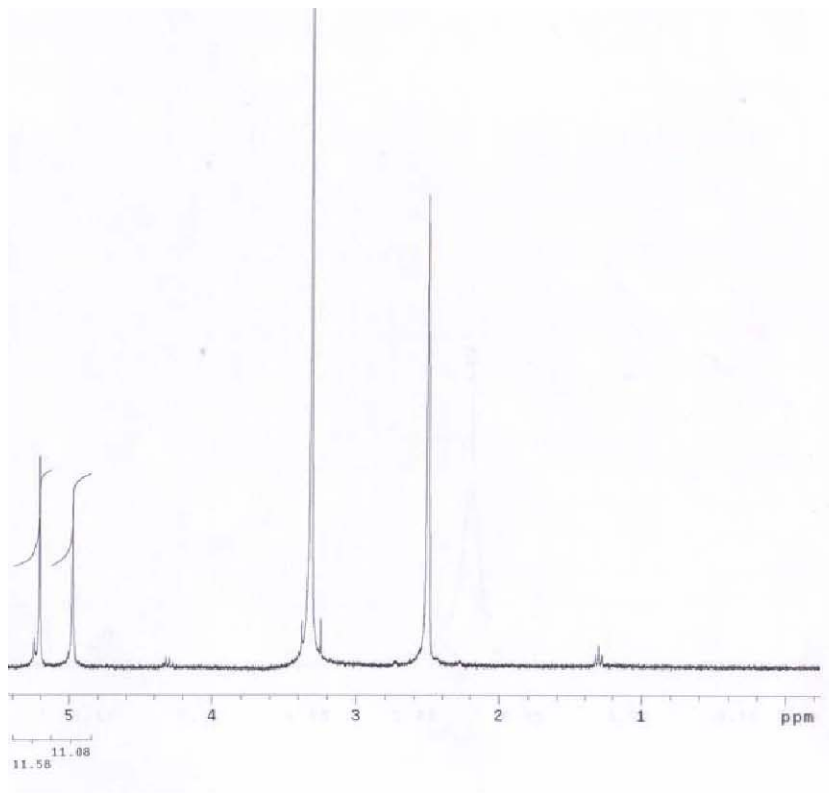
de RMN¹H do composto LPSF/SF-10

Daniel Tarciso Martins Pereira



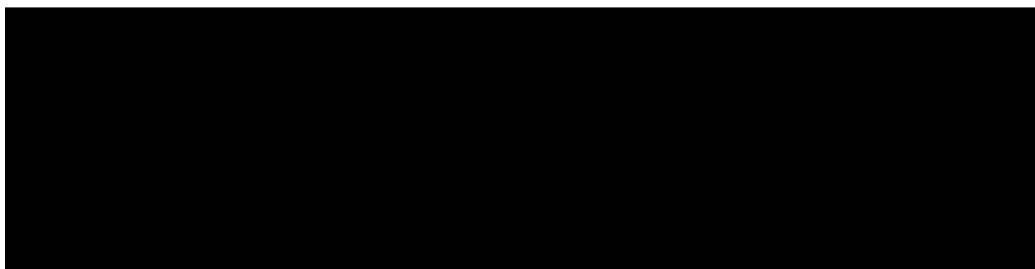
Anexo 4 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-10

Daniel Tarciso Martins Pereira



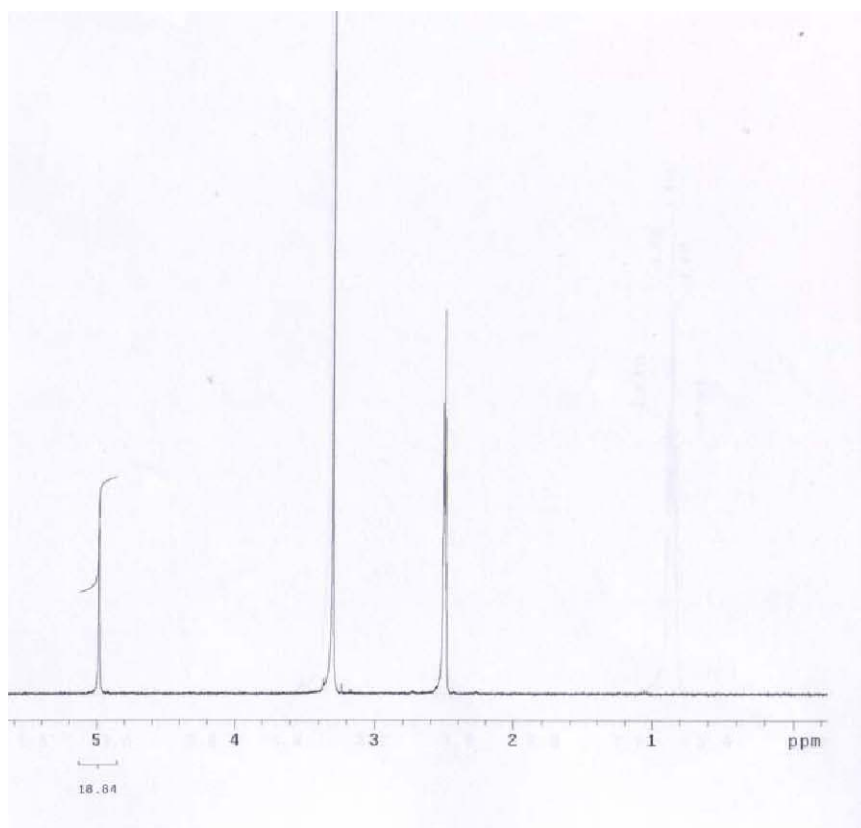
de RMN¹H do composto LPSF/SF-11

Daniel Tarciso Martins Pereira



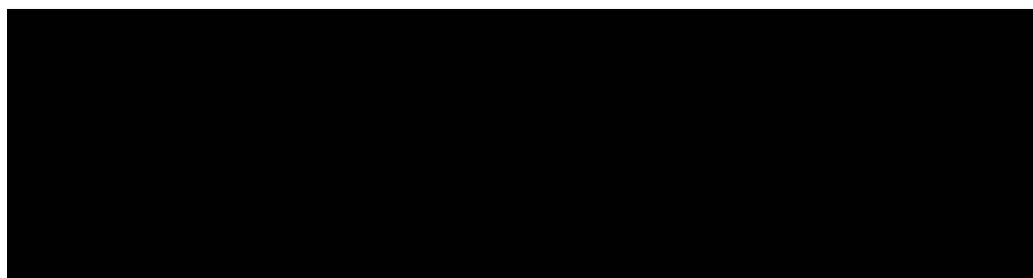
Anexo 5 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-11

Daniel Tarciso Martins Pereira



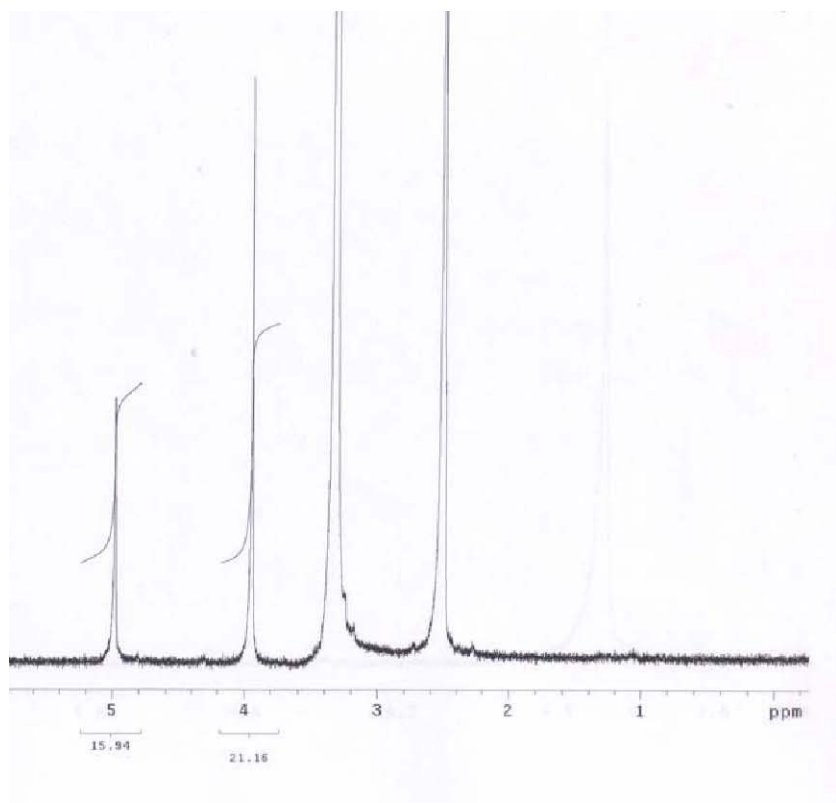
ro de RMN¹H do composto LPSF/SF-13

Daniel Tarciso Martins Pereira



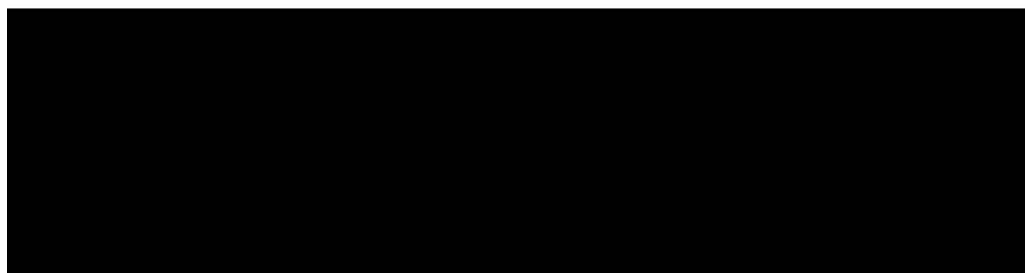
Anexo 6 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-13

Daniel Tarciso Martins Pereira



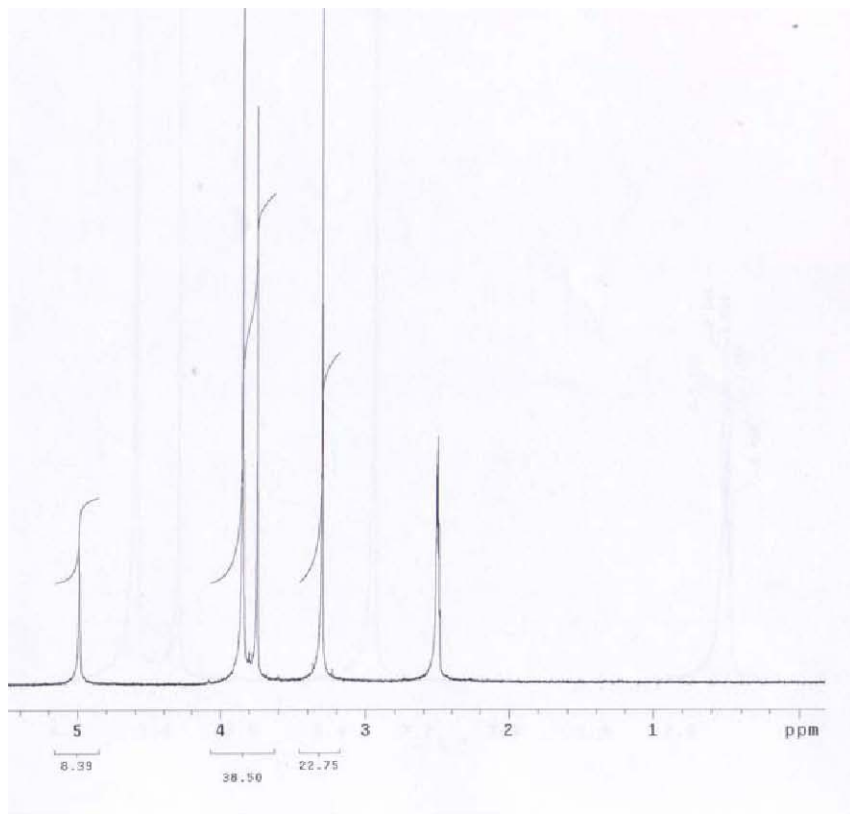
de RMN¹H do composto LPSF/SF-15

Daniel Tarciso Martins Pereira



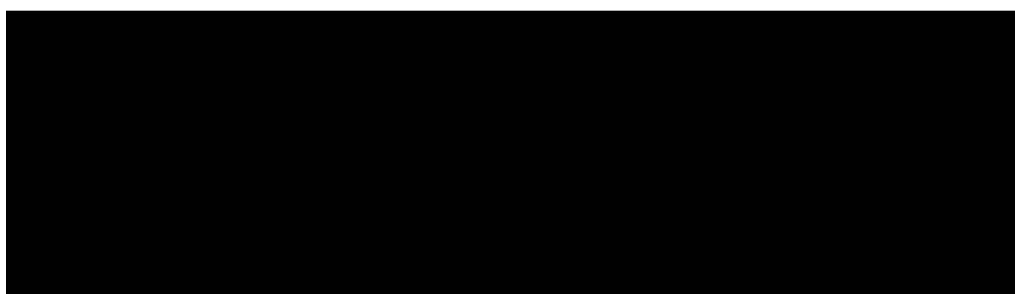
Anexo 7 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-15

Daniel Tarciso Martins Pereira



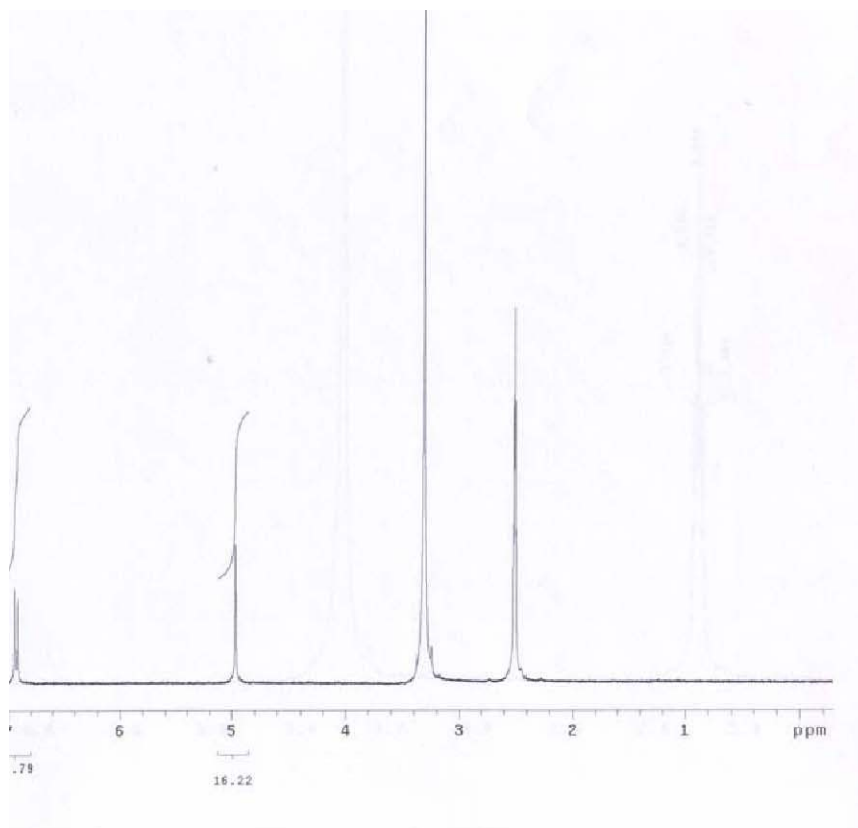
de RMN¹H do composto LPSF/SF-17

Daniel Tarciso Martins Pereira



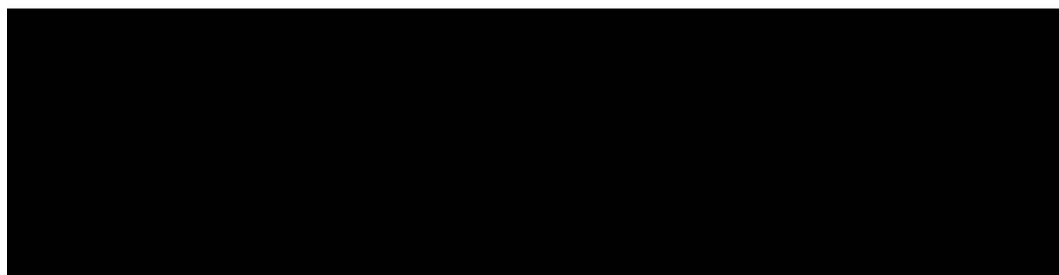
Anexo 8 - Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-17

Daniel Tarciso Martins Pereira



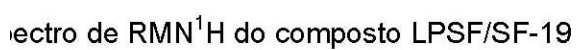
ro de RMN¹H do composto LPSF/SF-18

Daniel Tarciso Martins Pereira

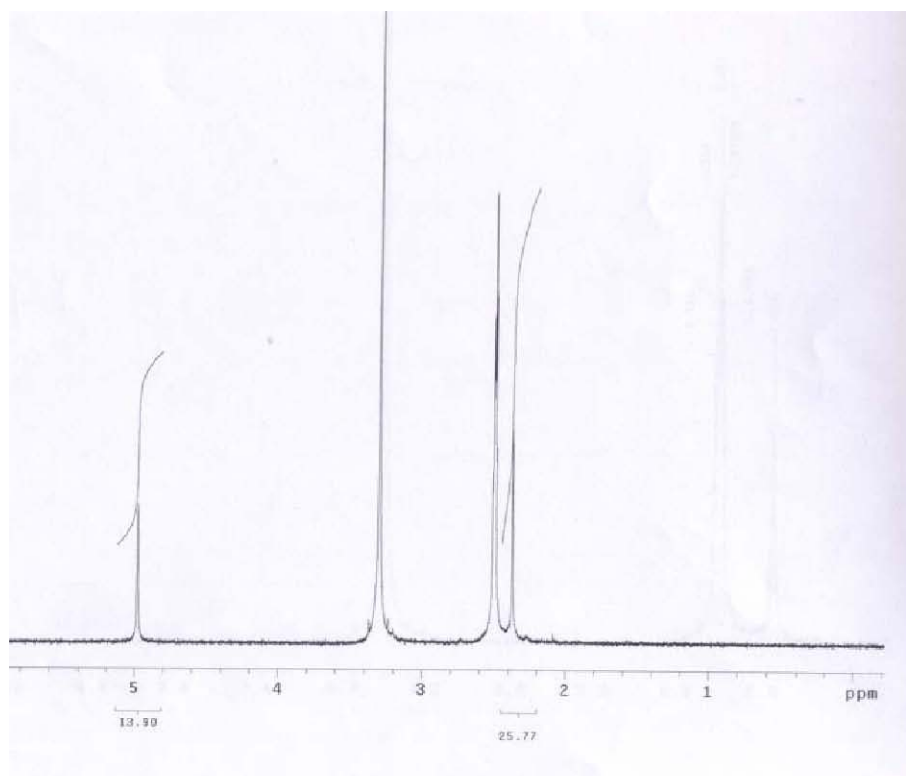


Anexo 9 - Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-18

Daniel Tarciso Martins Pereira

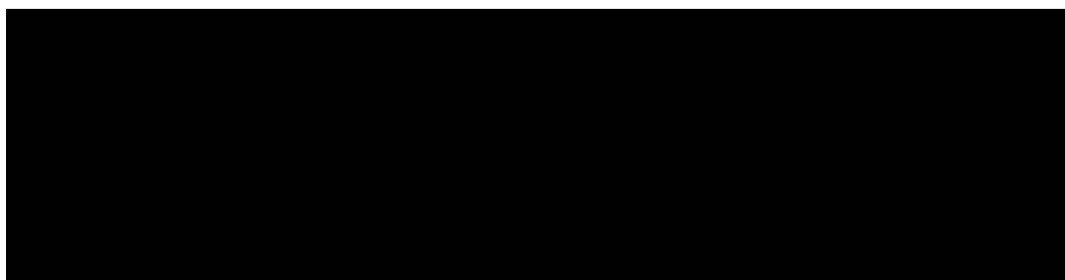


Daniel Tarciso Martins Pereira

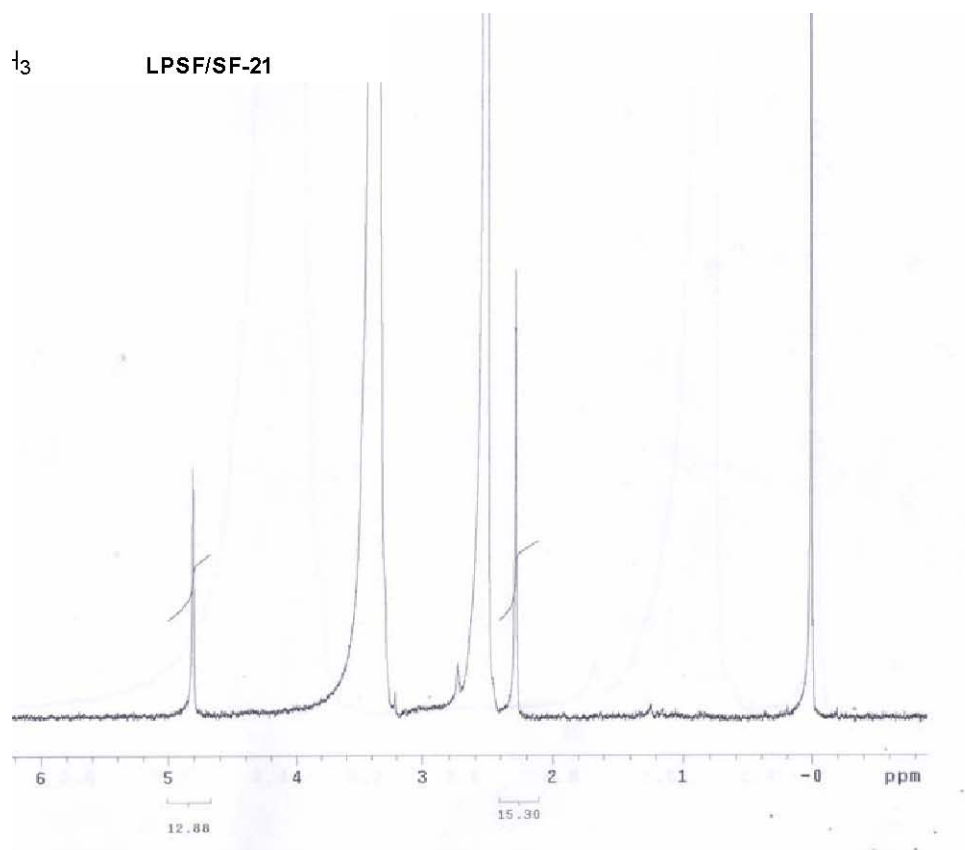


Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-20

Daniel Tarciso Martins Pereira

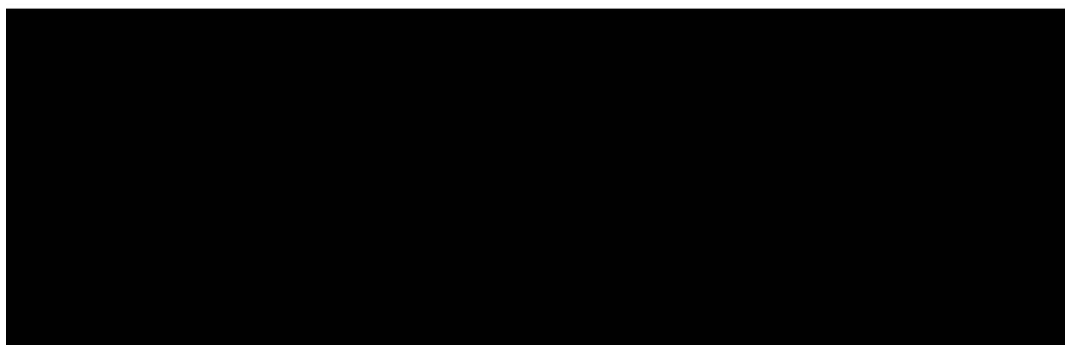


Daniel Tarciso Martins Pereira

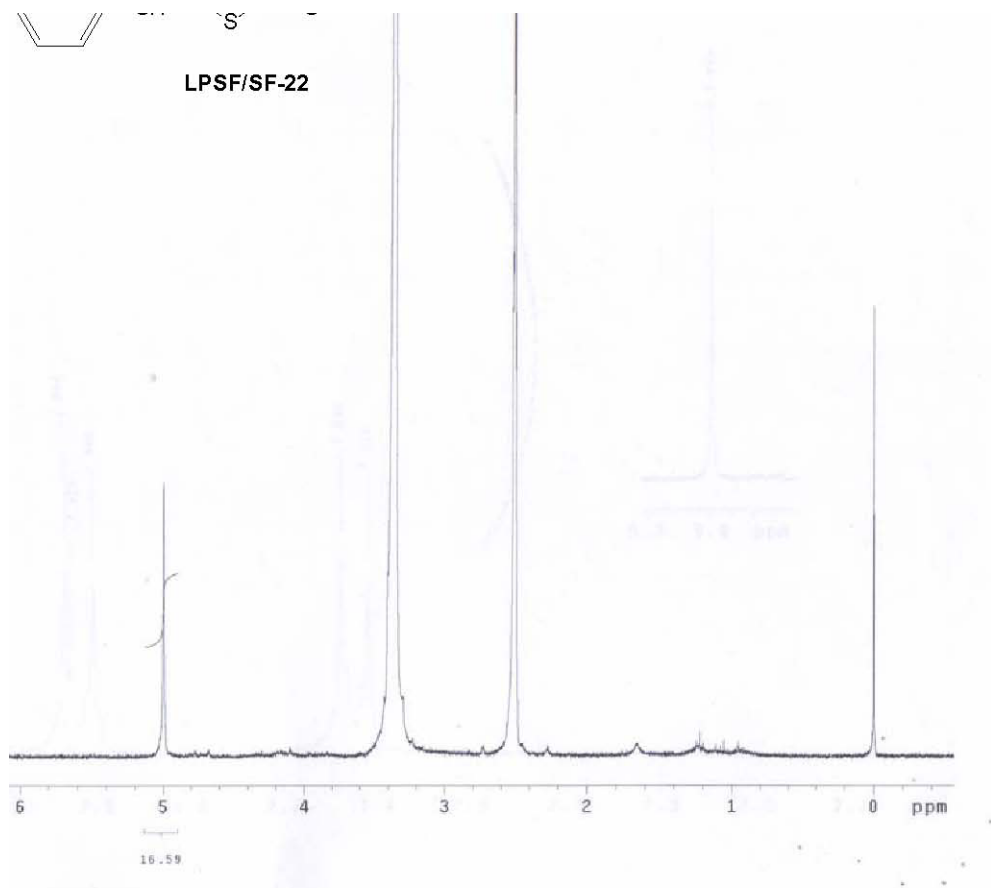


Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-21

Daniel Tarciso Martins Pereira

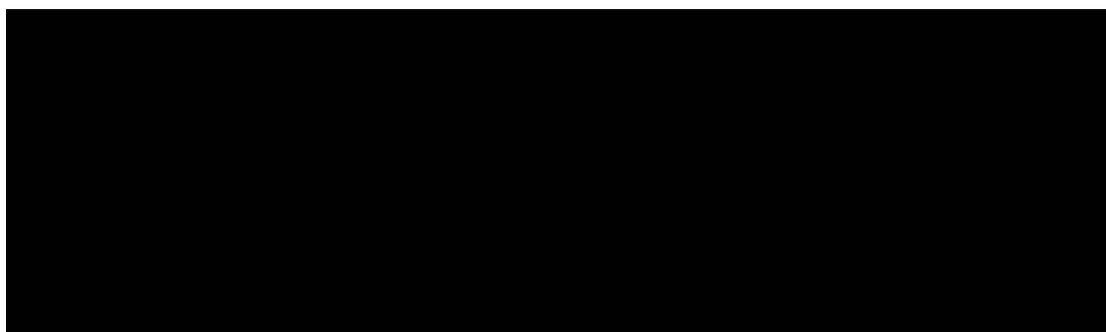


Daniel Tarciso Martins Pereira

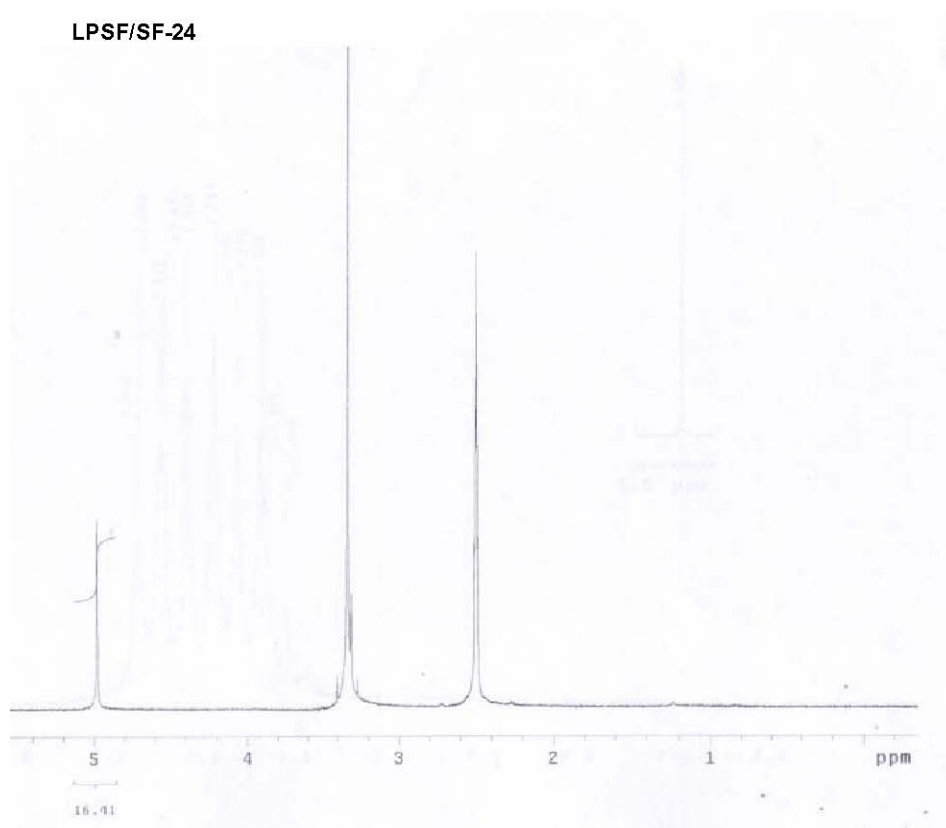


Espectro de RMN ^1H do composto LPSF/SF-22

Daniel Tarciso Martins Pereira

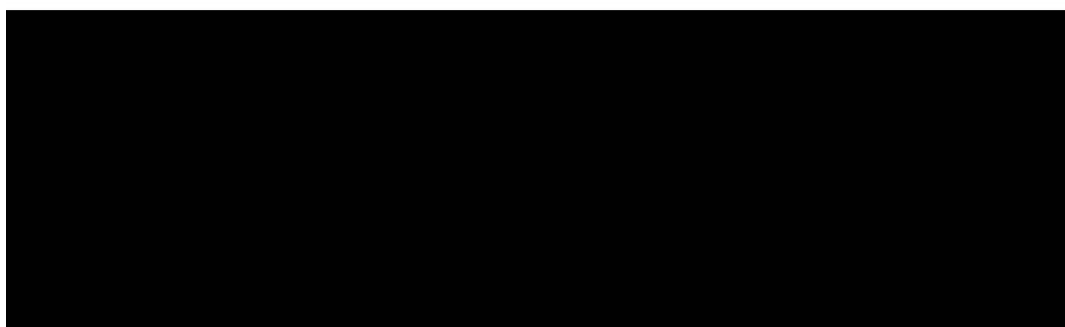


Daniel Tarciso Martins Pereira

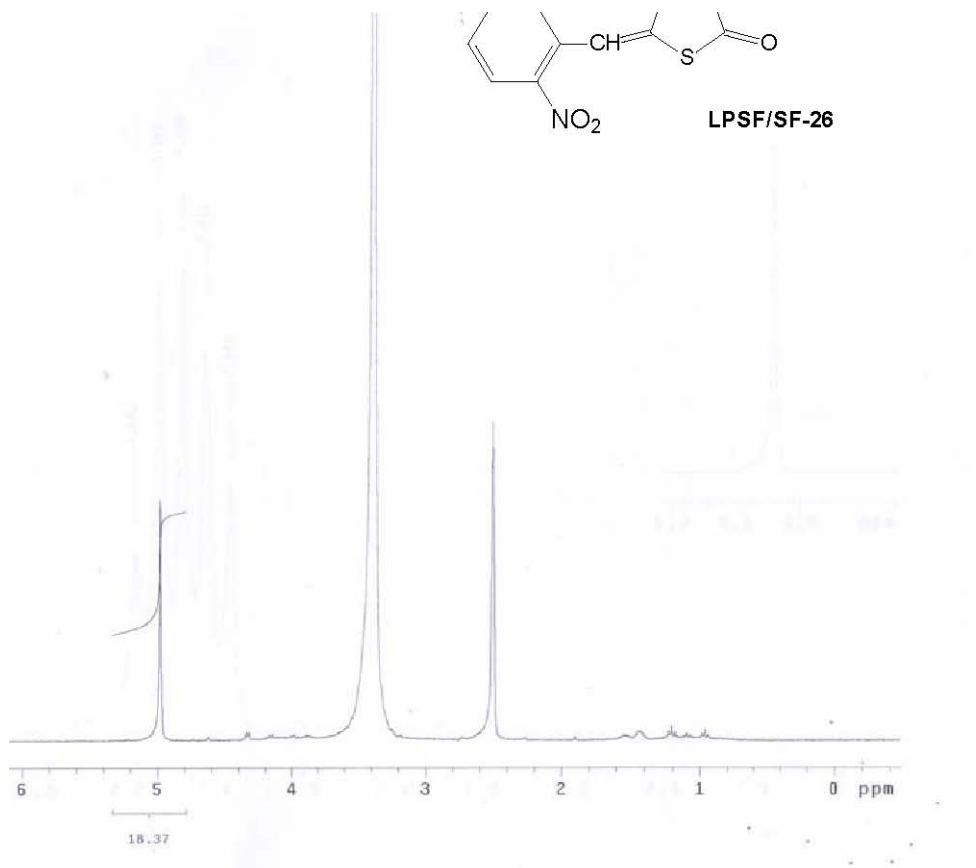


Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-24

Daniel Tarciso Martins Pereira

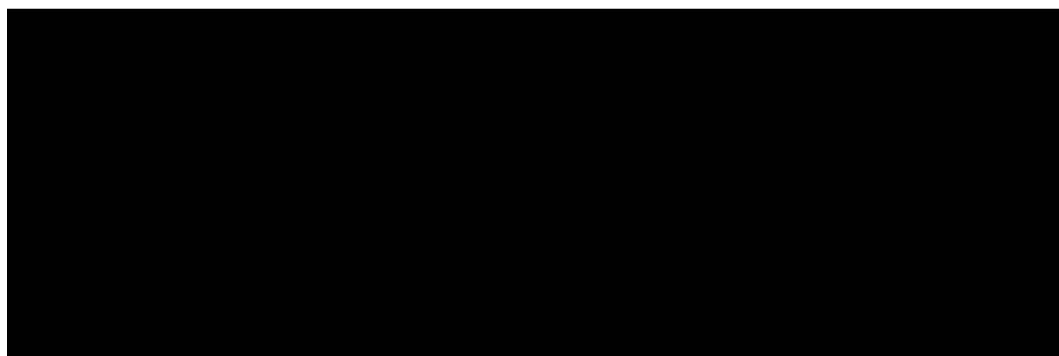


Daniel Tarciso Martins Pereira

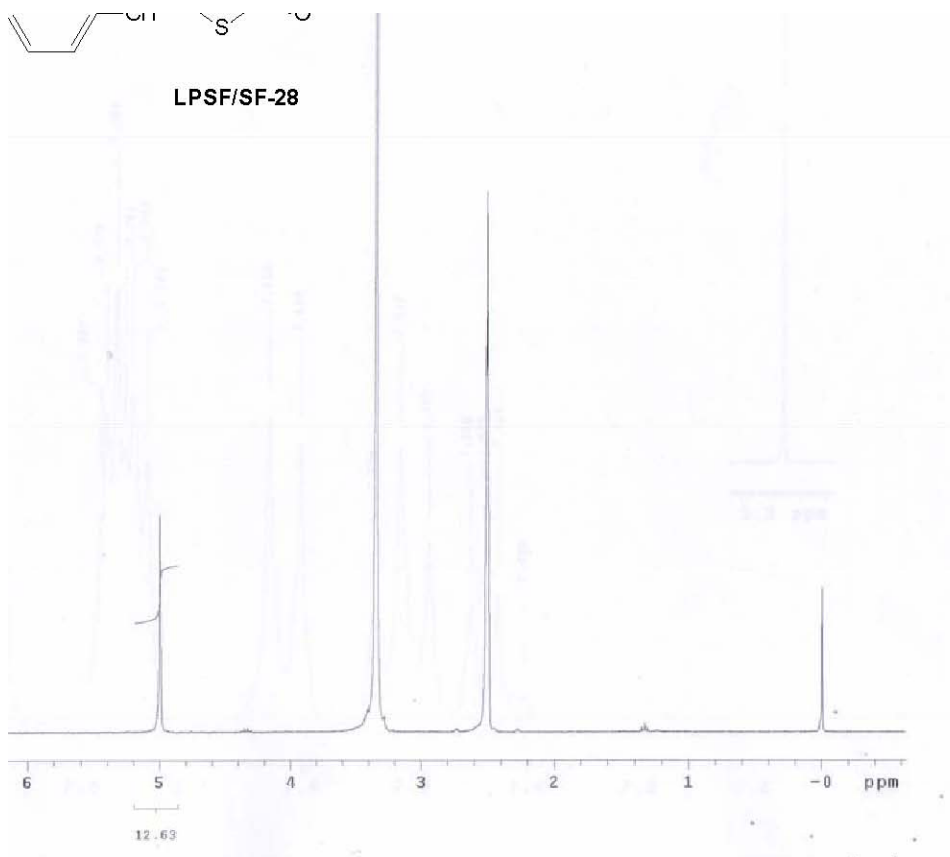


Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-26

Daniel Tarciso Martins Pereira

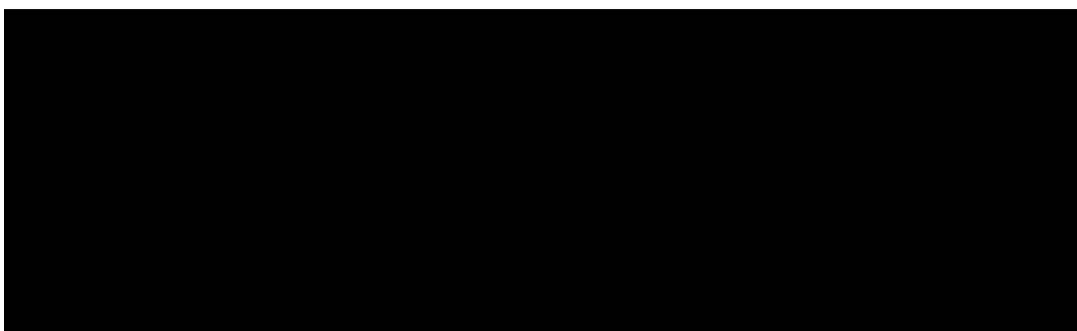


Daniel Tarciso Martins Pereira

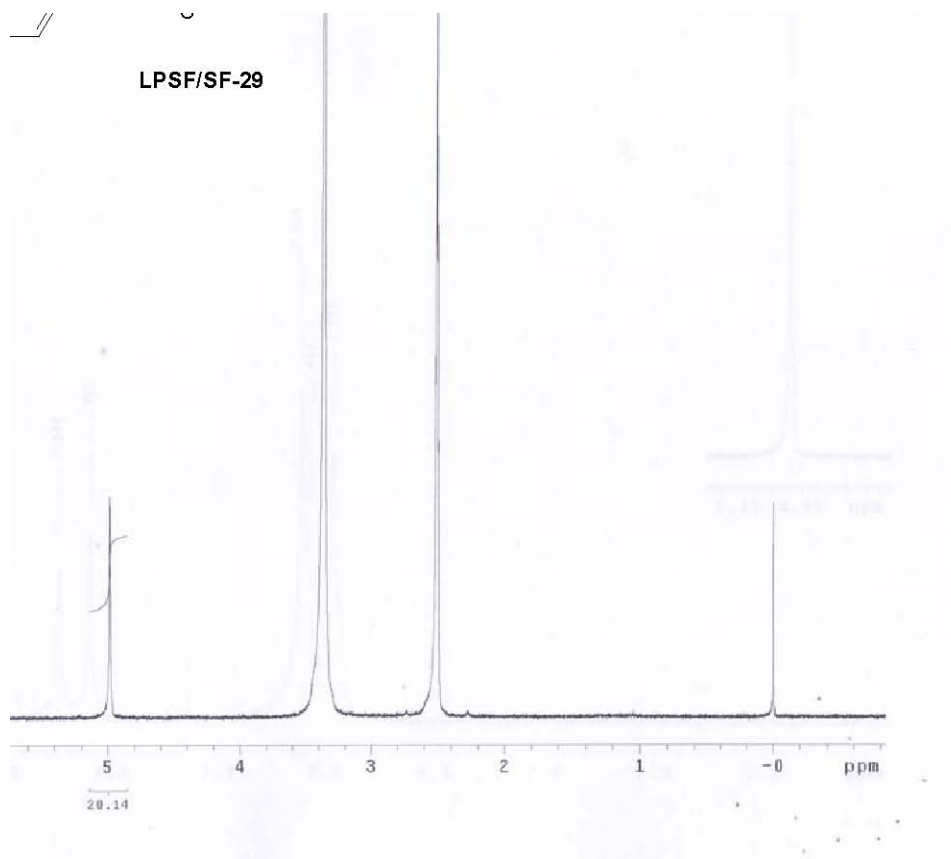


Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-28

Daniel Tarciso Martins Pereira

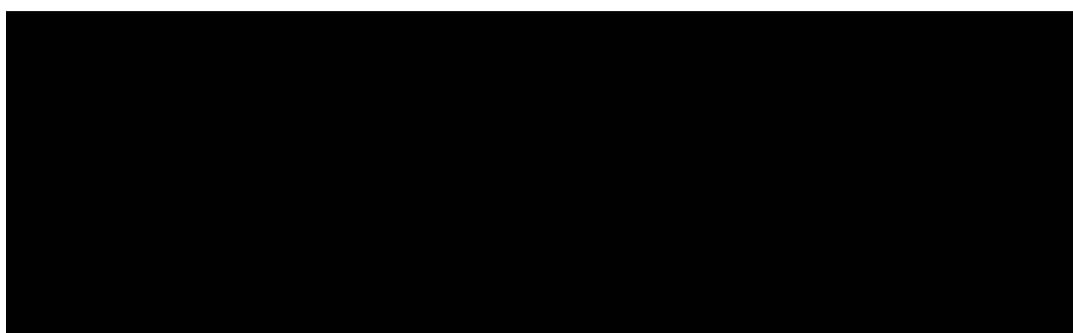


Daniel Tarciso Martins Pereira

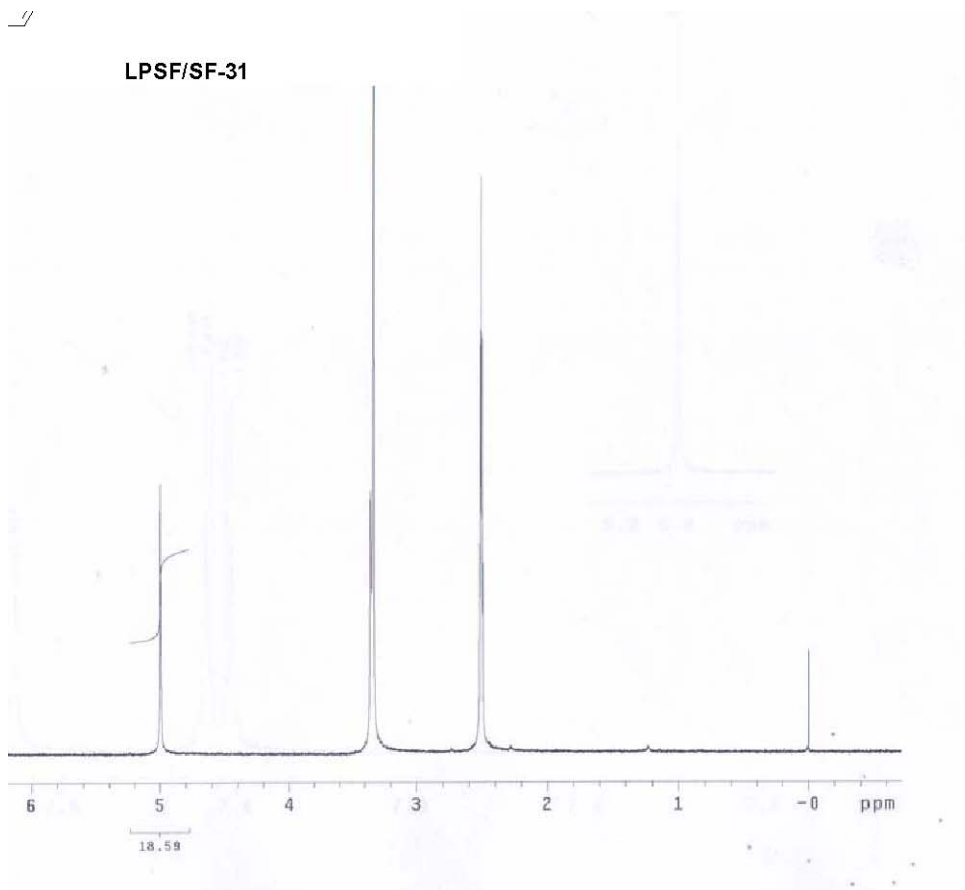


Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-29

Daniel Tarciso Martins Pereira

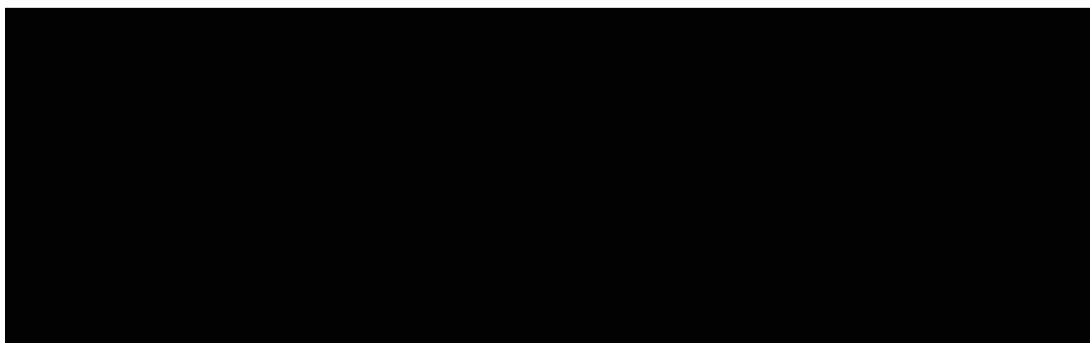


Daniel Tarciso Martins Pereira

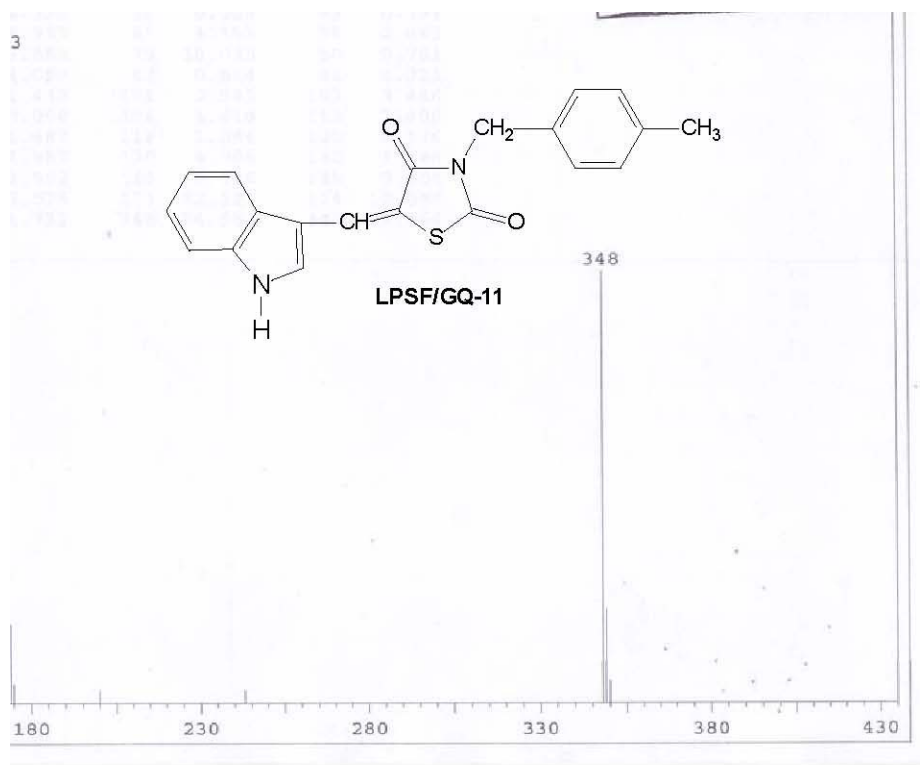


Espectro de RMN¹H do composto LPSF/SF-31

Daniel Tarciso Martins Pereira

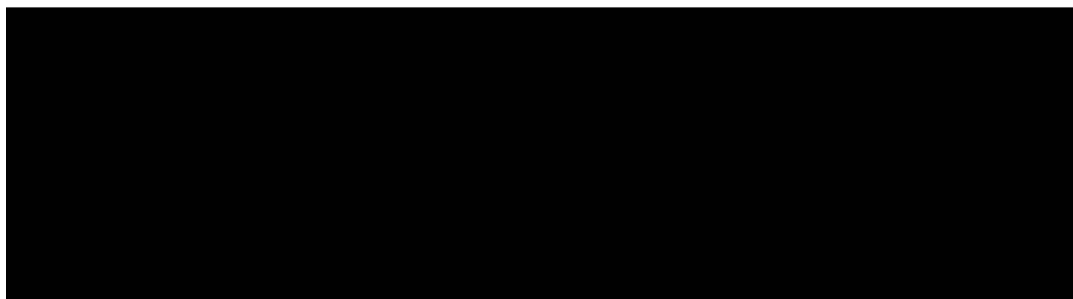


Daniel Tarciso Martins Pereira

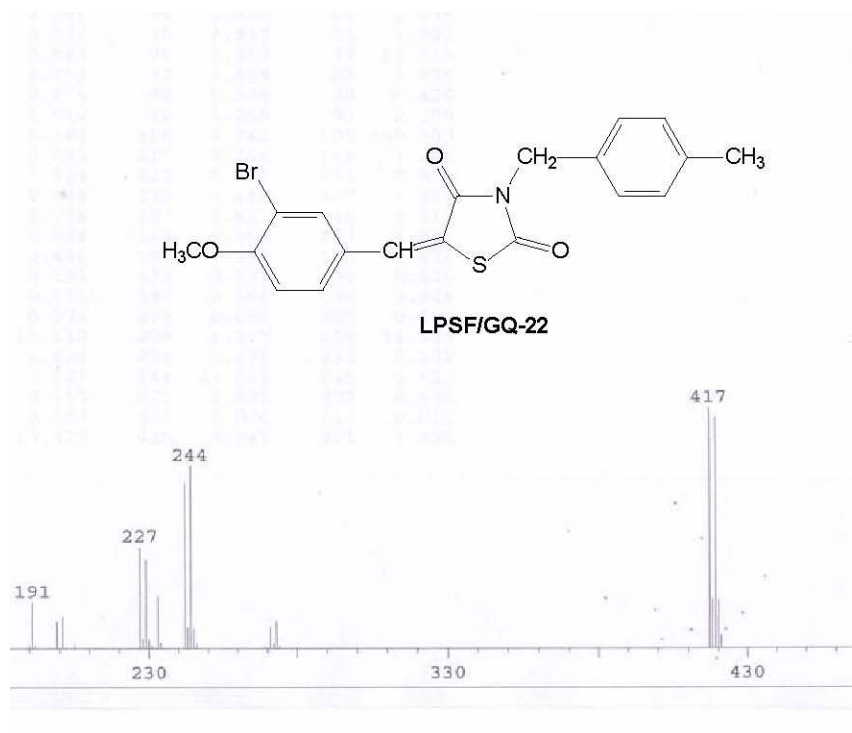


ectro de massas do composto LPSF/QG-11

Daniel Tarciso Martins Pereira

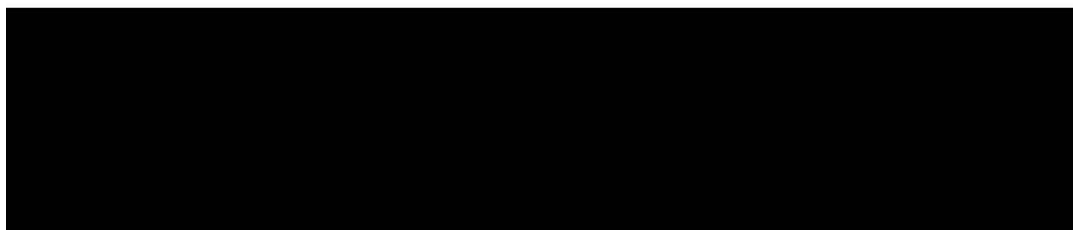


Daniel Tarciso Martins Pereira

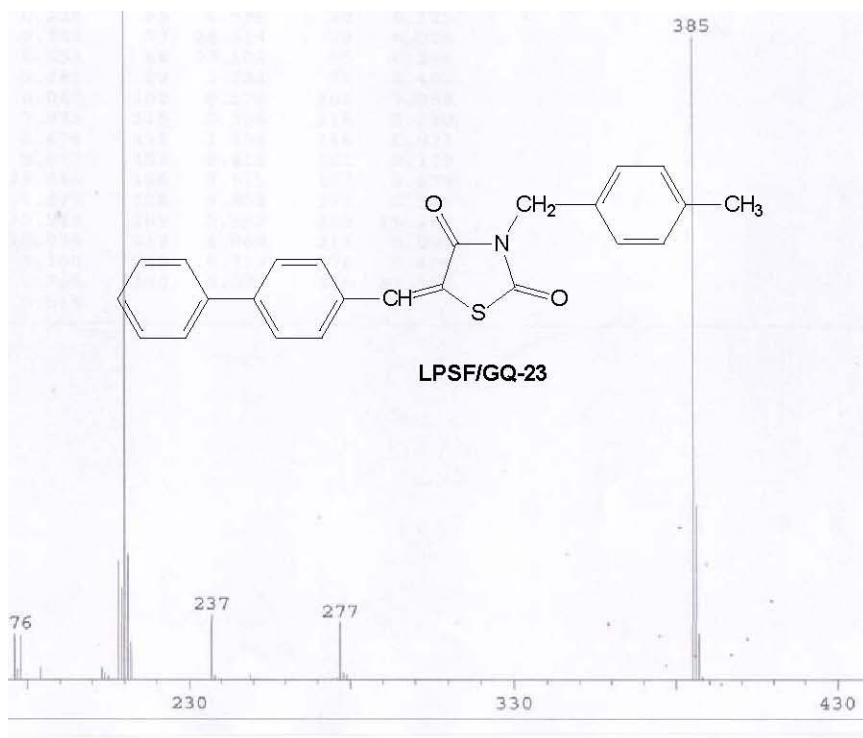


espectro de massas do composto LPSF/QG-22

Daniel Tarciso Martins Pereira

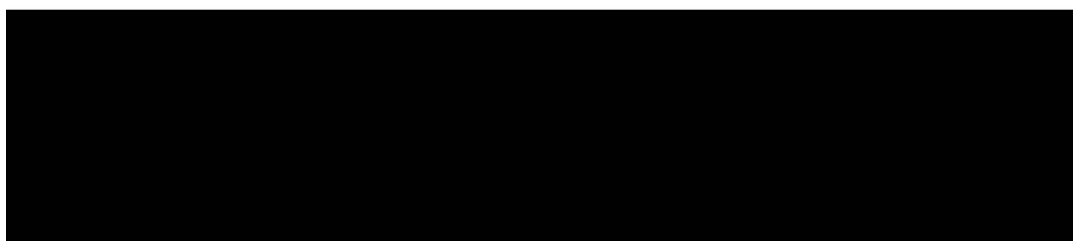


Daniel Tarciso Martins Pereira

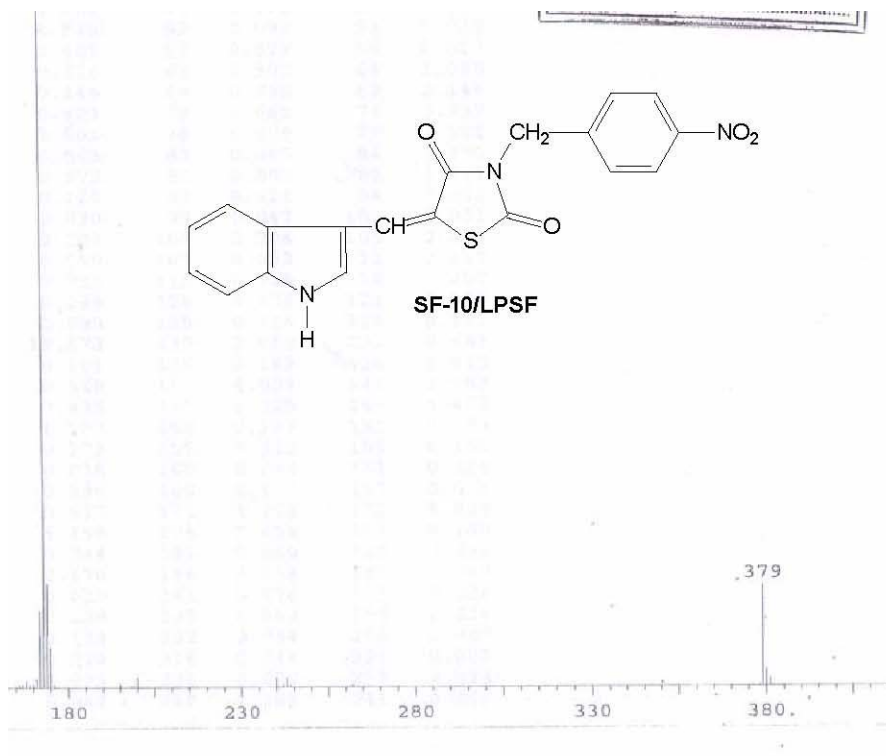


Espectro de massas do composto LPSF/QG-23

Daniel Tarciso Martins Pereira

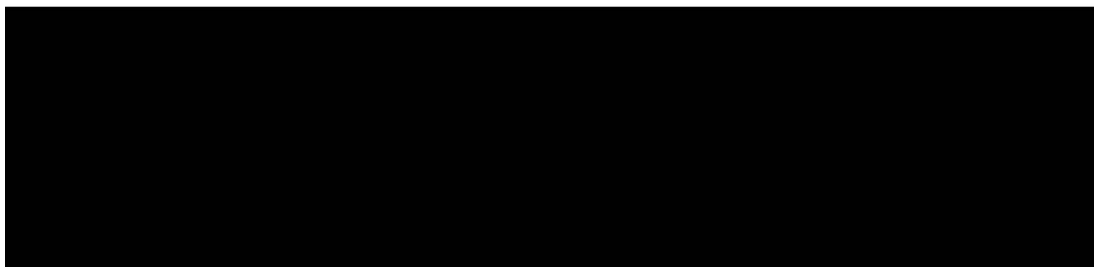


Daniel Tarciso Martins Pereira

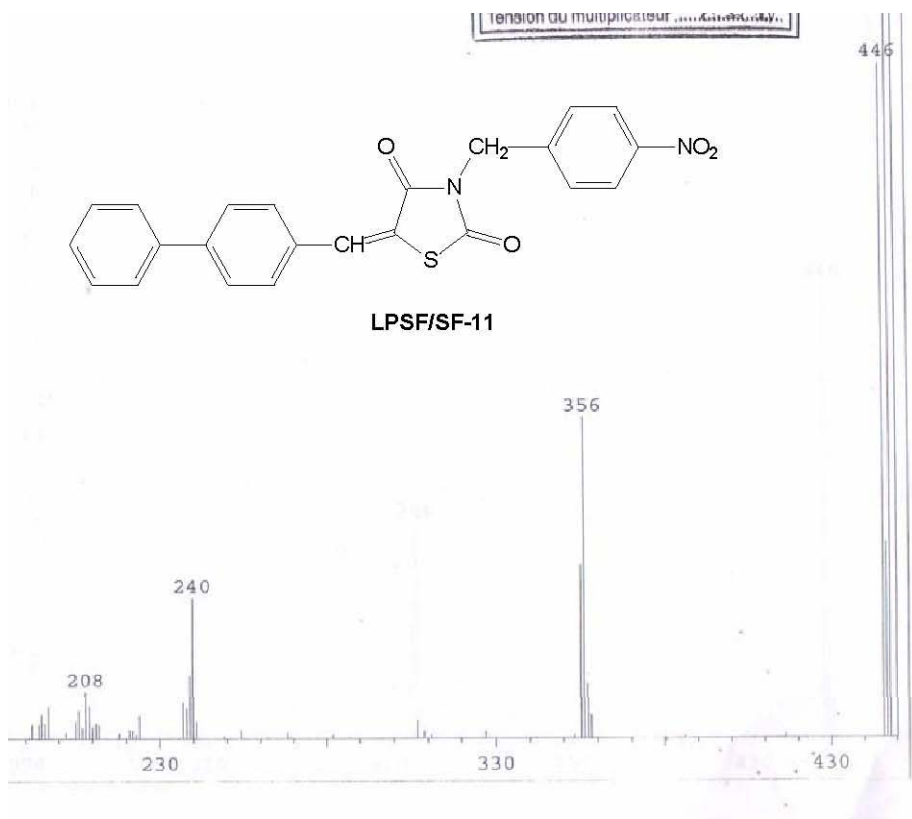


Espectro de massas do composto LPSF/SF-10

Daniel Tarciso Martins Pereira

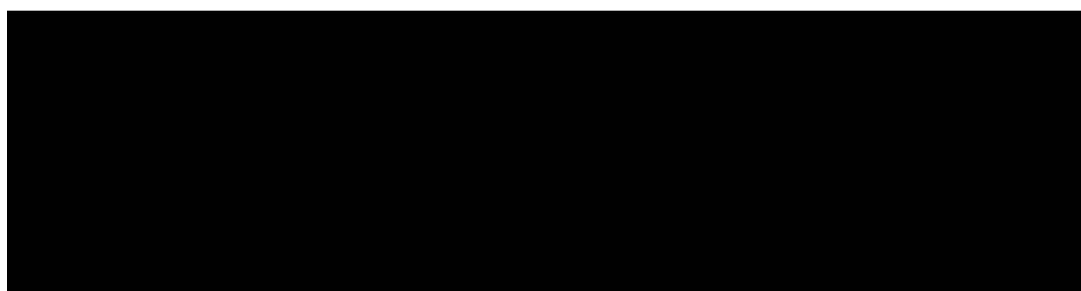


Daniel Tarciso Martins Pereira

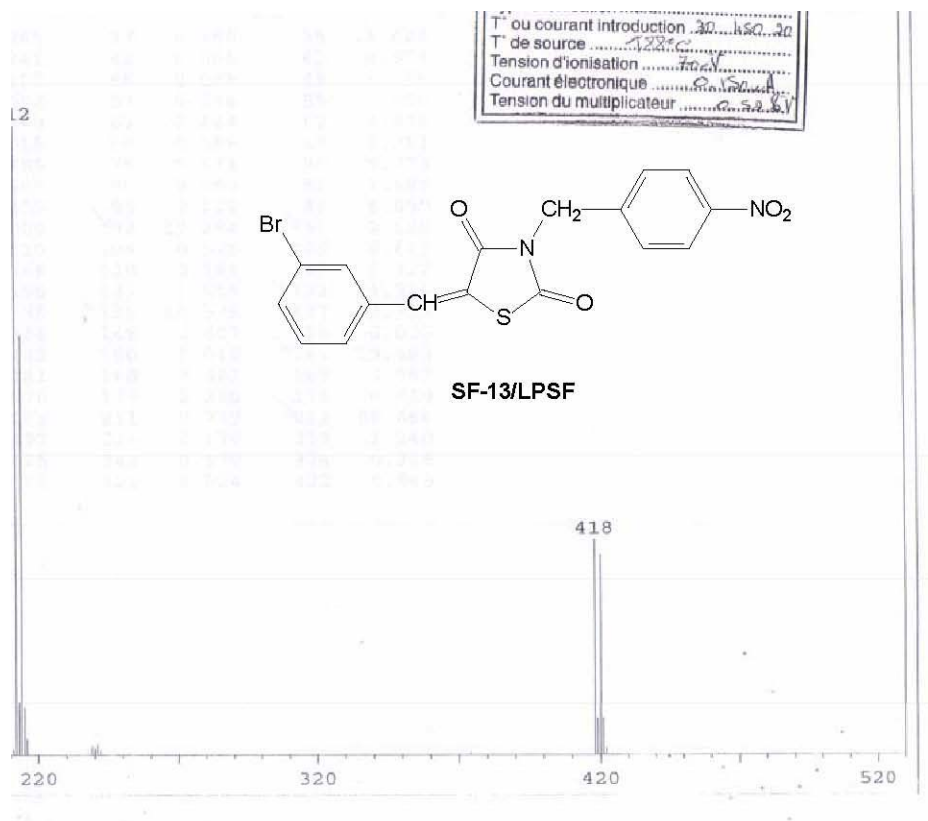


ectro de massas do composto LPSF/SF-11

Daniel Tarciso Martins Pereira

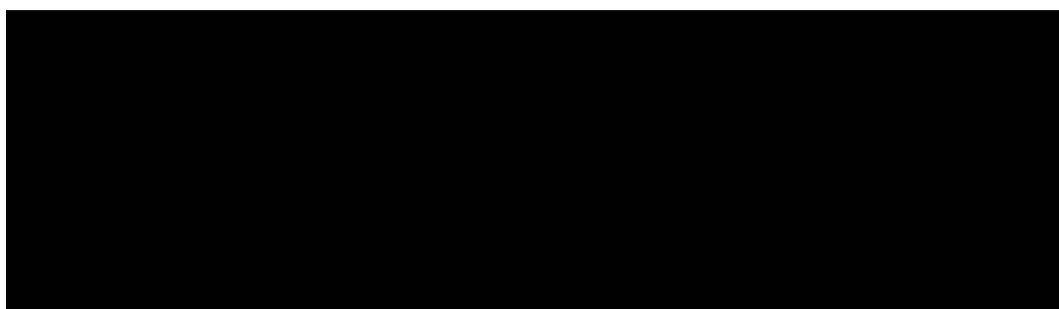


Daniel Tarciso Martins Pereira

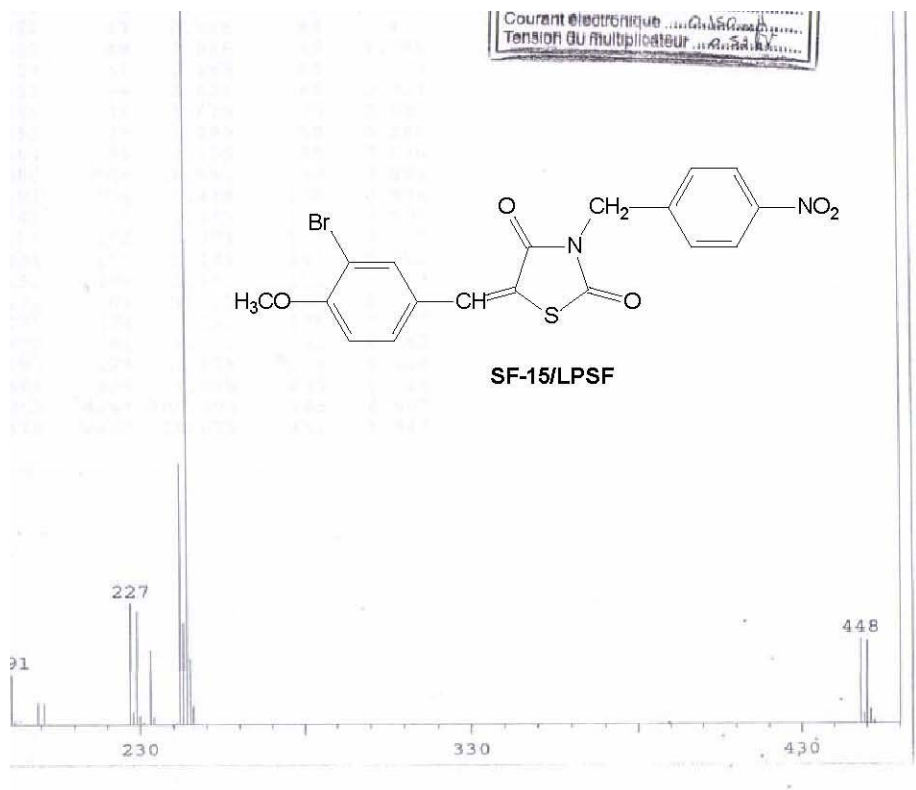


Espectro de massas do composto LPSF/SF-13

Daniel Tarciso Martins Pereira

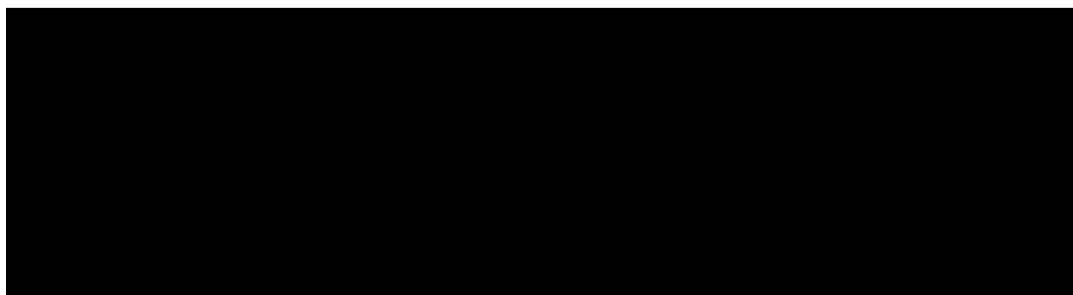


Daniel Tarciso Martins Pereira

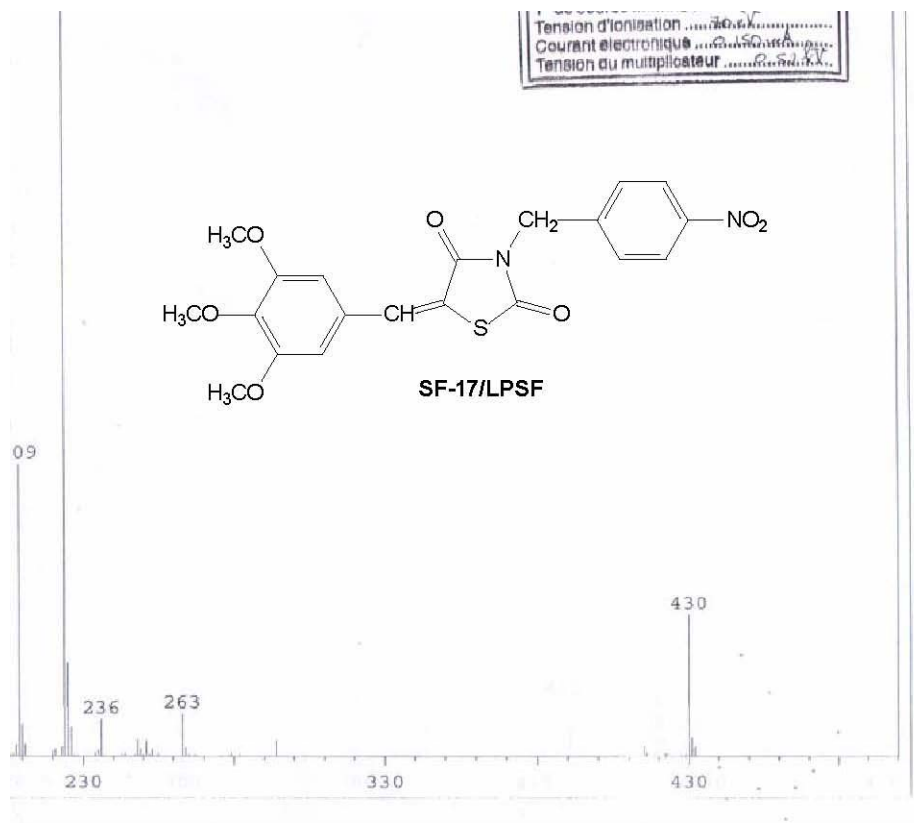


Espectro de massas do composto LPSF/SF-15

Daniel Tarciso Martins Pereira

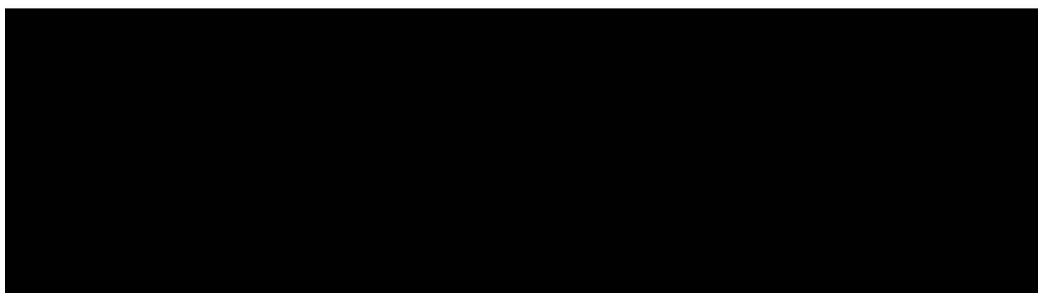


Daniel Tarciso Martins Pereira

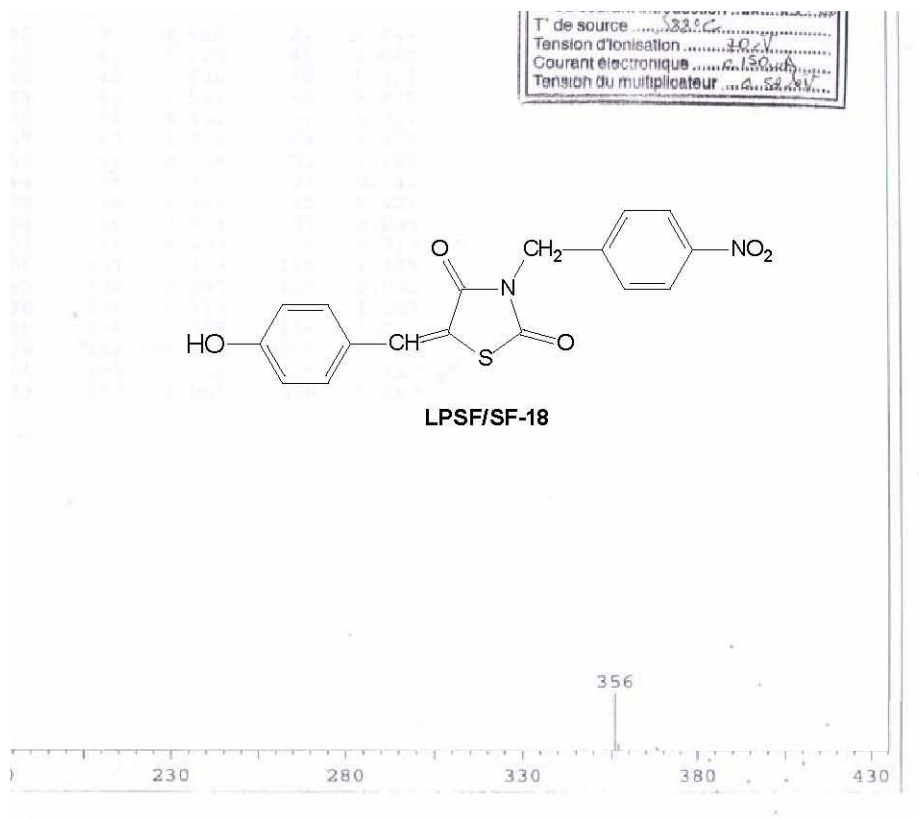


ectro de massas do composto LPSF/SF-17

Daniel Tarciso Martins Pereira

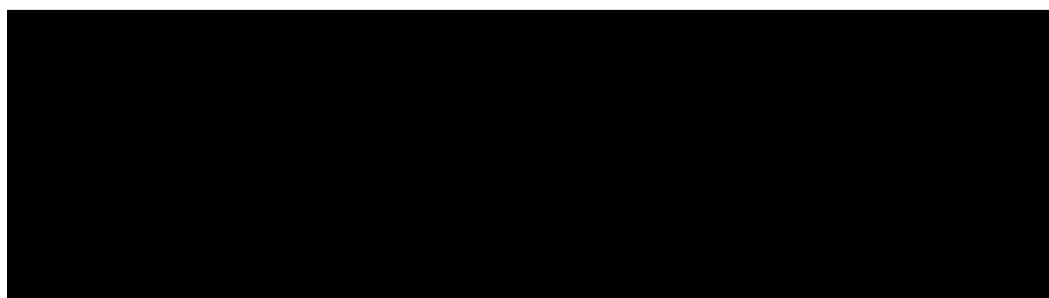


Daniel Tarciso Martins Pereira

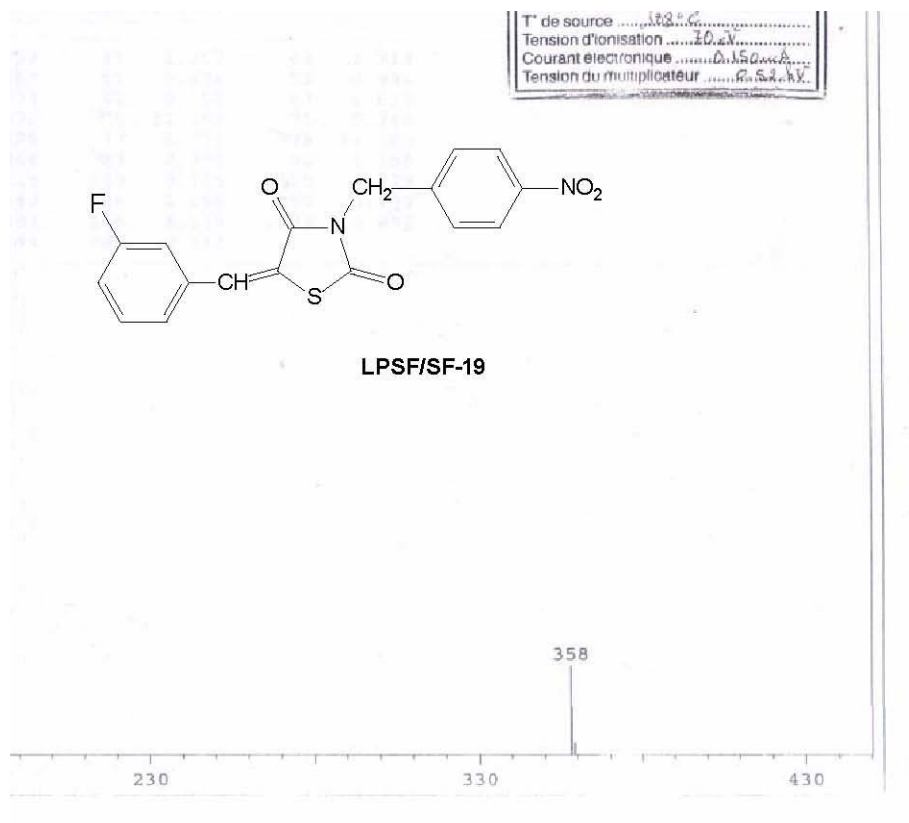


ectro de massas do composto LPSF/SF-18

Daniel Tarciso Martins Pereira

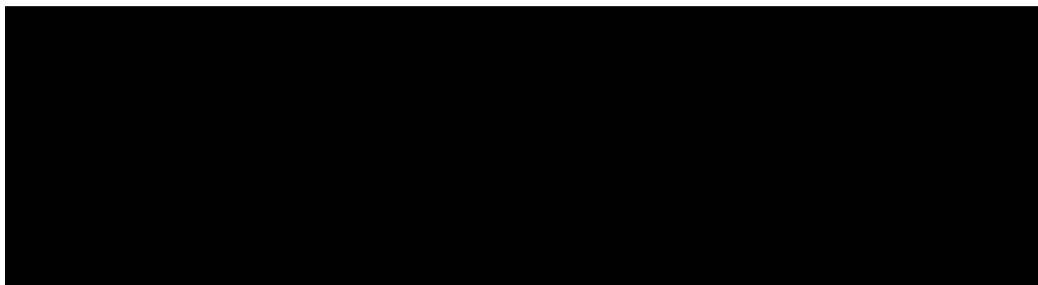


Daniel Tarciso Martins Pereira

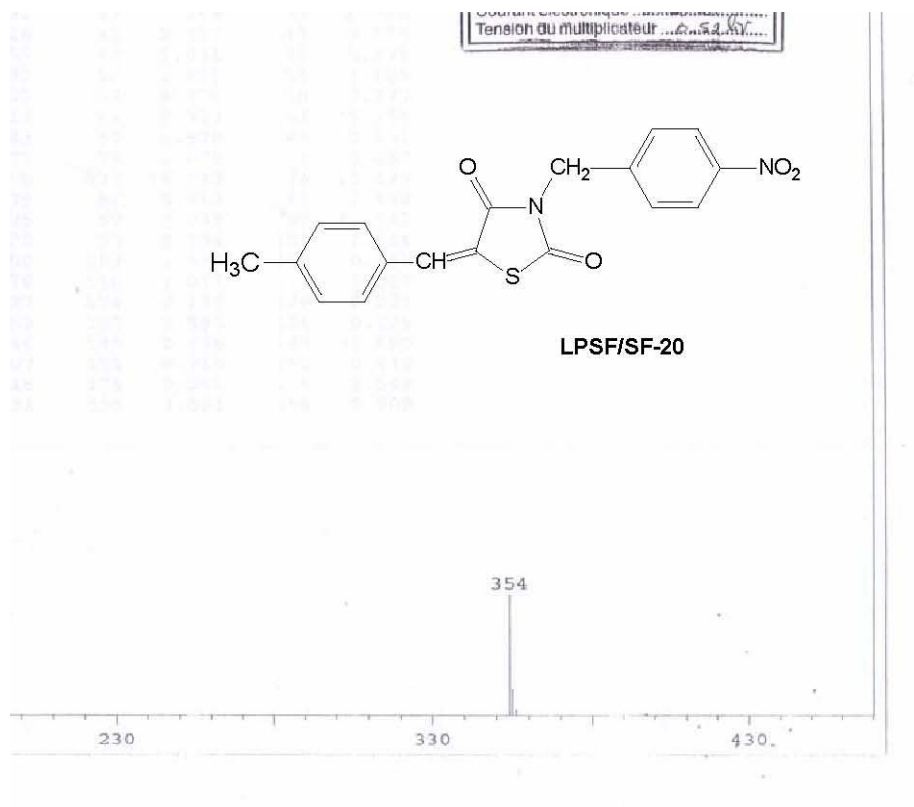


espectro de massas do composto LPSF/SF-19

Daniel Tarciso Martins Pereira

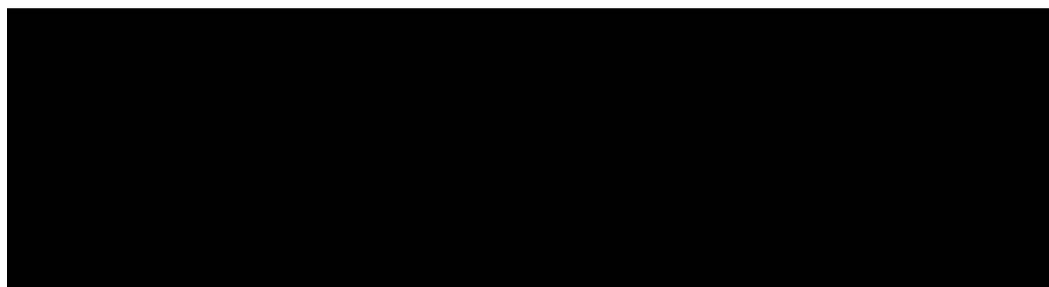


Daniel Tarciso Martins Pereira

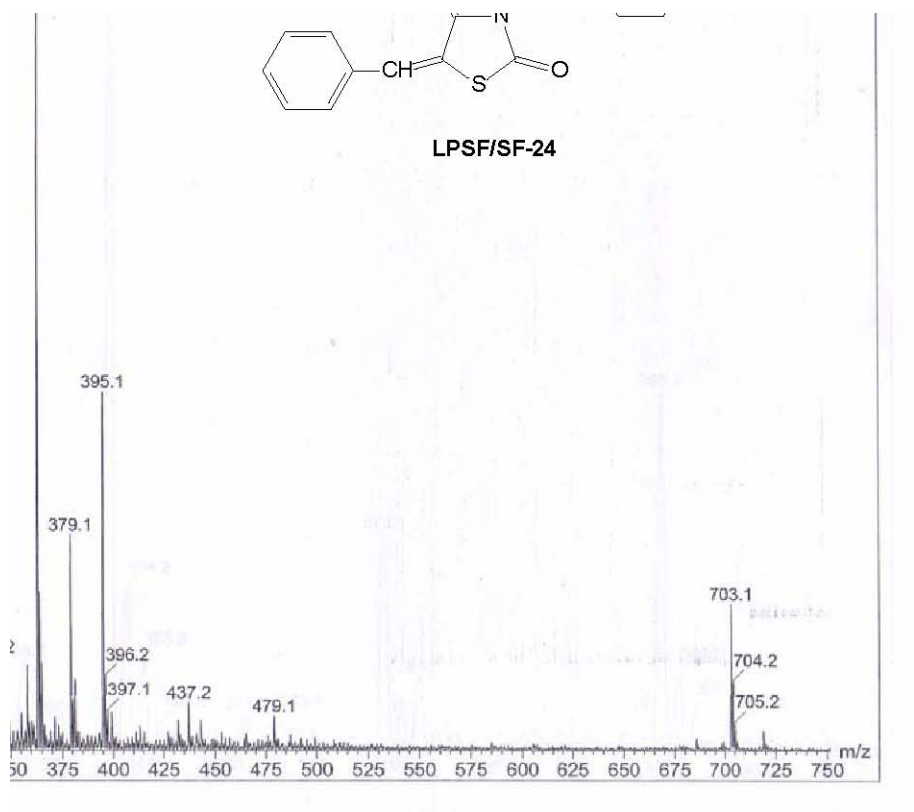


Espectro de massas do composto LPSF/SF-20

Daniel Tarciso Martins Pereira

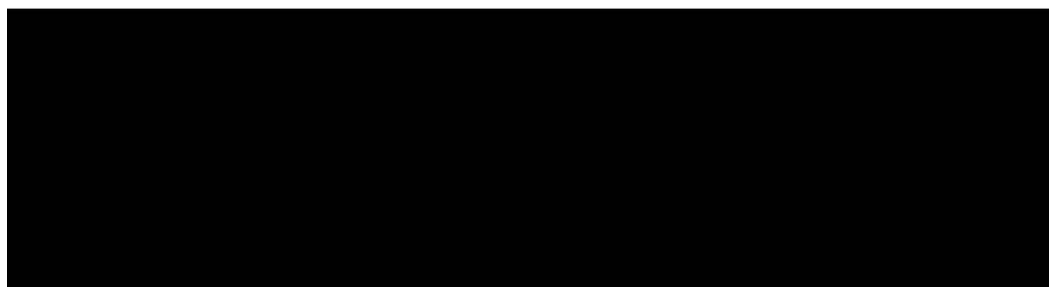


Daniel Tarciso Martins Pereira



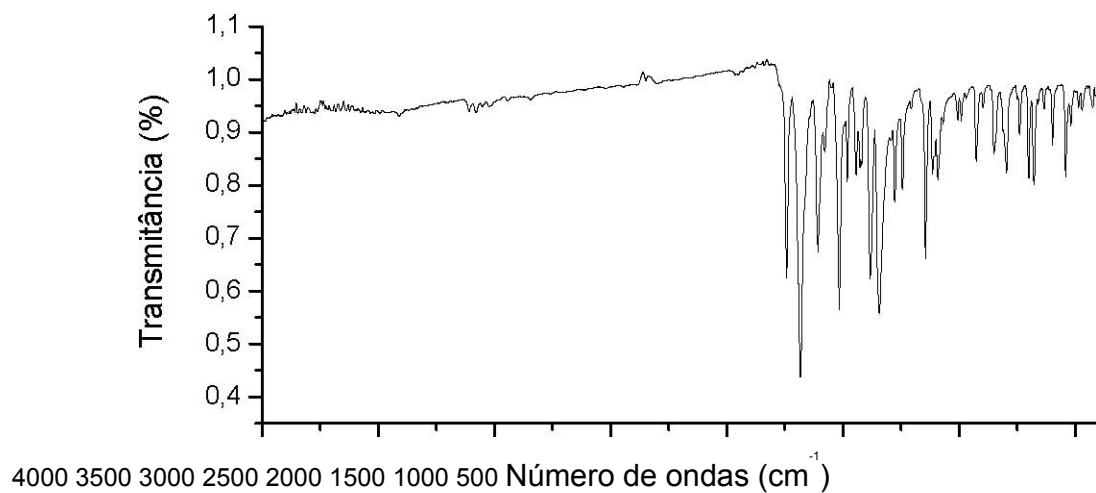
Espectro de massas do composto LPSF/SF-24

Daniel Tarciso Martins Pereira

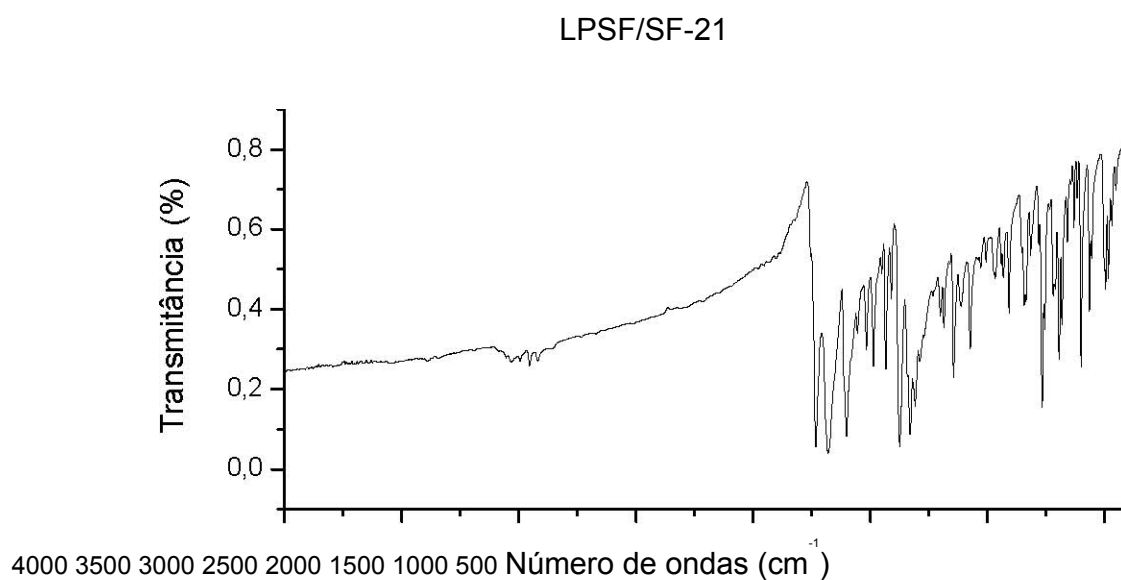


LPSF/SF-19

Daniel Tarciso Martins Pereira

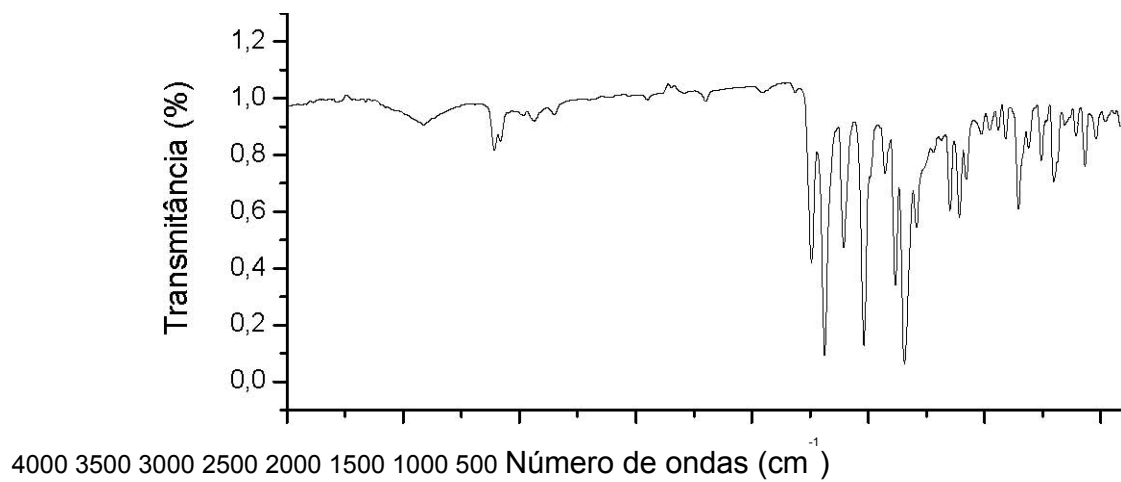


Anexo 31 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-19



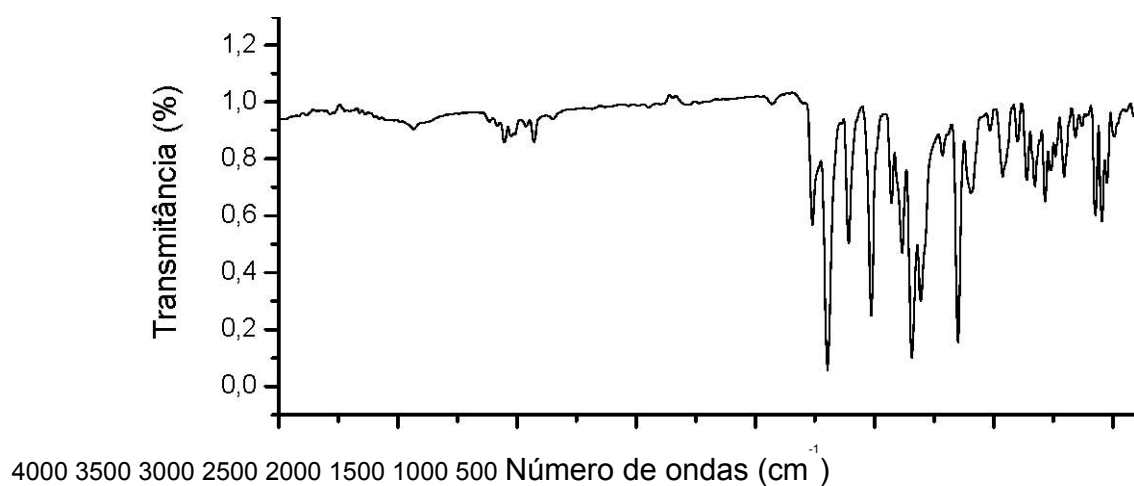
Anexo 32 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-21

Daniel Tarciso Martins Pereira
LPSF/SF-22



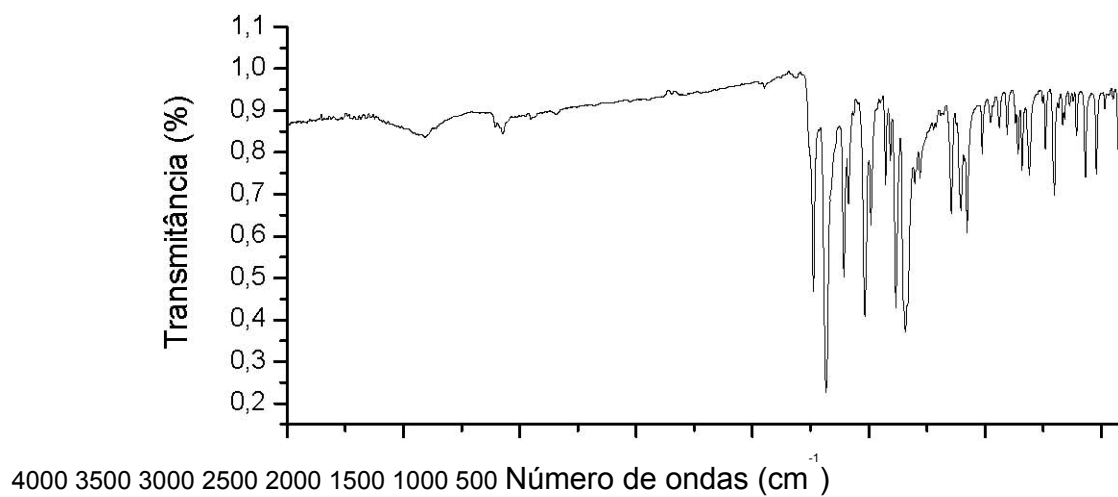
Anexo 33 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-22

LPSF/SF-23

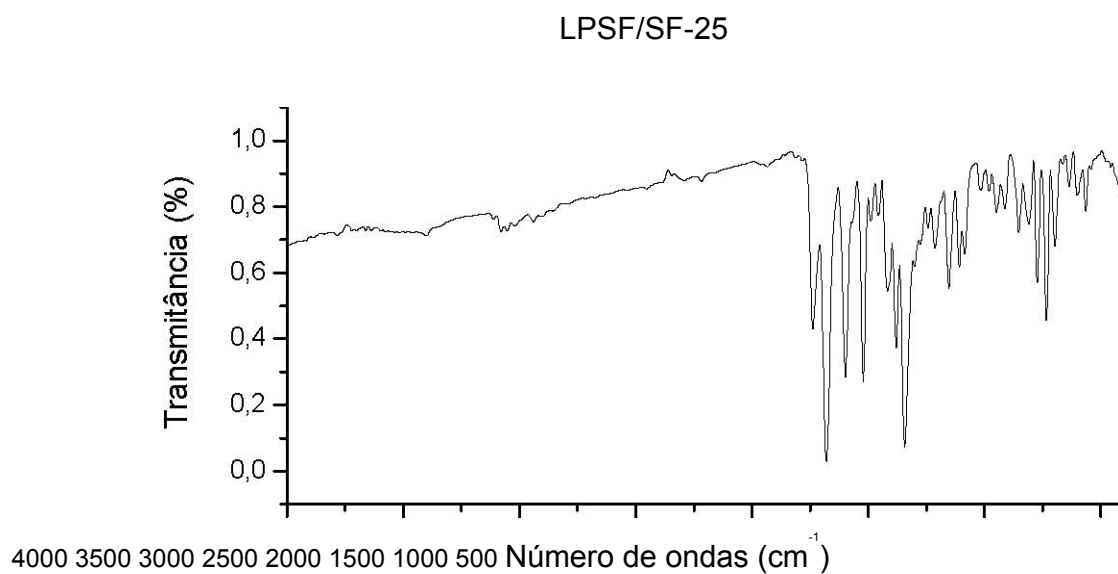


Anexo 34 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-23

Daniel Tarciso Martins Pereira
LPSF/SF-24

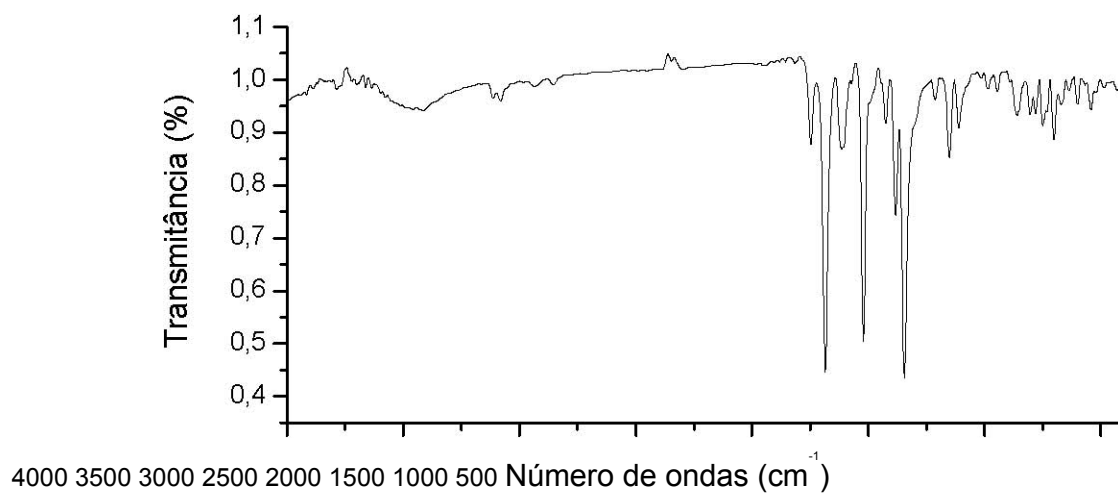


Anexo 35 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-24

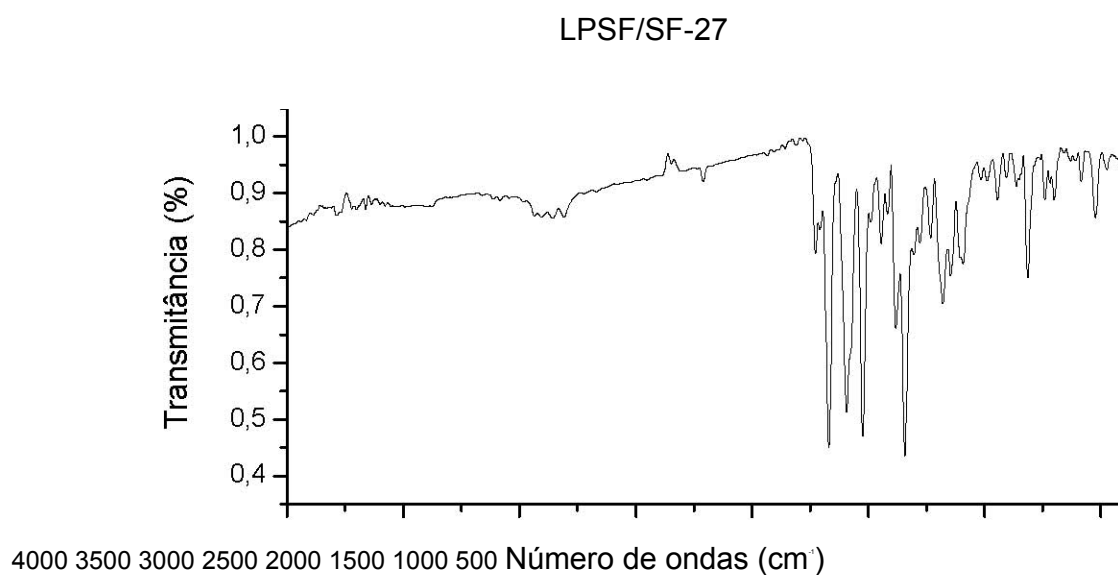


Anexo 36 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-25

Daniel Tarciso Martins Pereira
LPSF/SF-26

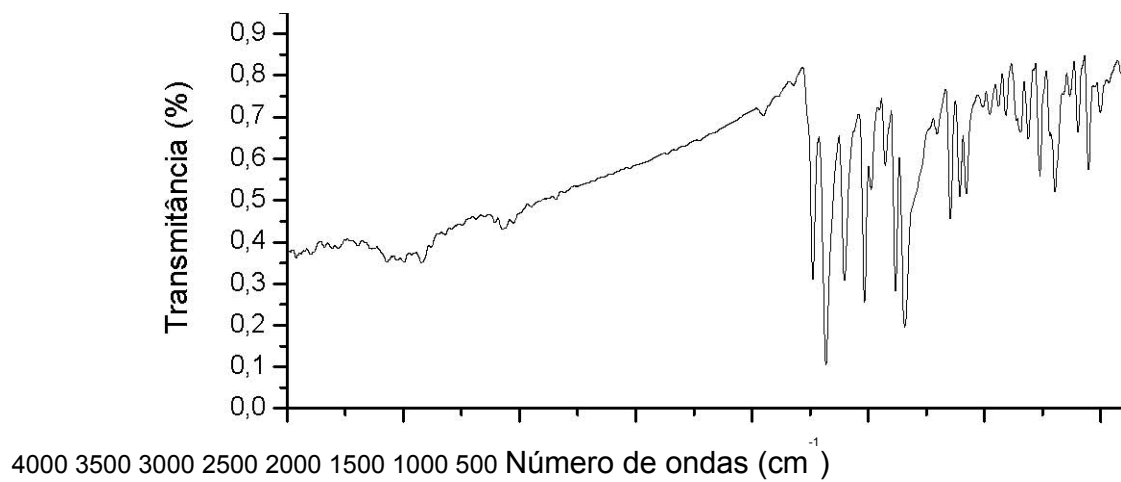


Anexo 37 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-26

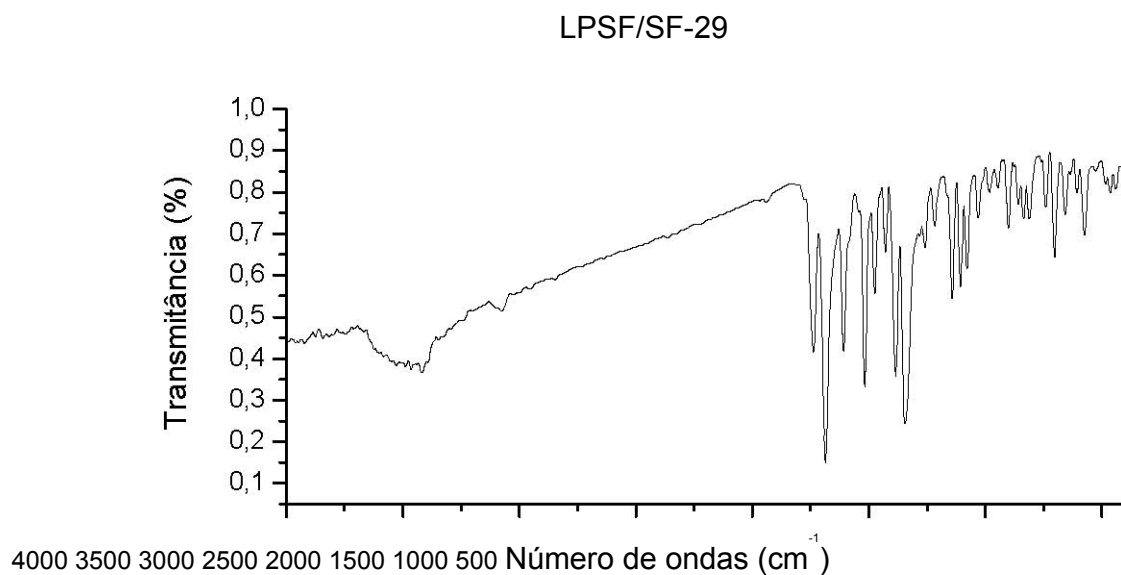


Anexo 38 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-27

Daniel Tarciso Martins Pereira
LPSF/SF-28

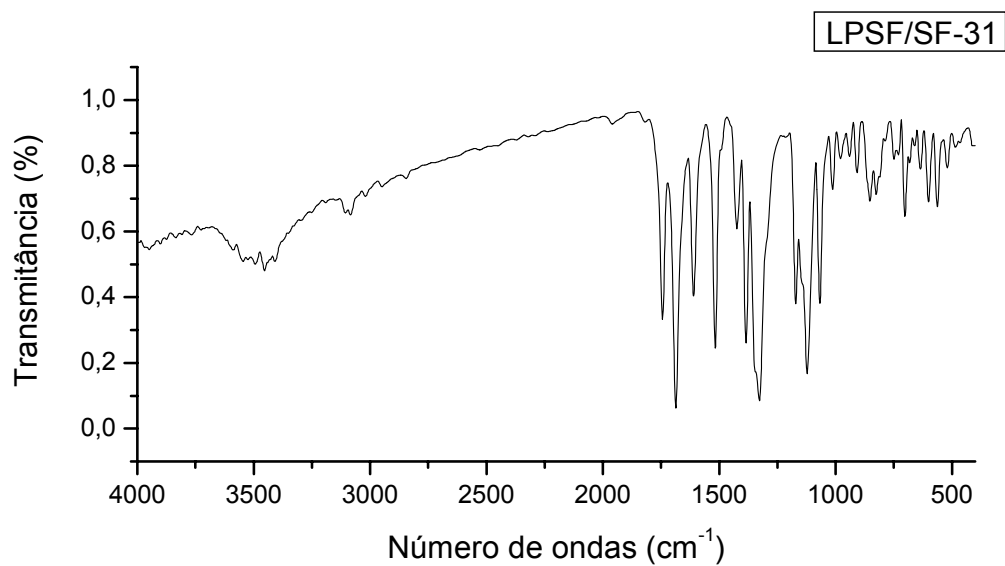


Anexo 39 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-28



Anexo 40 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-29

Daniel Tarciso Martins Pereira
LPSF/SF-31



Anexo 41 – Espectro de infravermelho do composto LPSF/SF-31

Pereira, Daniel Tarciso Martins.

Síntese, comprovação estrutural e atividade antiinflamatória de compostos tiazolidinônicos - 3, 5 - dissustituídos / Daniel Tarciso Martins Pereira. – Recife: O Autor, 2007.

141 folhas. il.,fig., tab.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – área de concentração: Farmacologia, Fisiologia e Química Medicinal.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Derivados Tiazolidinônicos. 2. Química Medicinal. 3. Atividade Antiinflamatória – I. Título.

**547.86
547**

**CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)**

**UFPE
CCB – 2008-61**