

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



**SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-
ÍNFLAMATÓRIA DE NOVAS 2-IMINO-TIAZOLIDIN-4-ONAS**

NAYARA MARIA SIQUEIRA LEITE

RECIFE – PE
2016

NAYARA MARIA SIQUEIRA LEITE

**SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-
ÍNFLAMATÓRIA DE NOVAS 2-IMINO-TIAZOLIDIN-4-ONAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

ORIENTADORA

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

CO-ORIENTADOR

Prof. Dr^a. Jamerson Ferreira de Oliveira

RECIFE – 2016

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

L533s Leite, Nayara Maria Siqueira.
Síntese, elucidação estrutural e avaliação da atividade anti-inflamatória de novas 2-imino-tiazolidin-4-onas / Nayara Maria Siqueira Leite. – 2016.
88 f.: il.; tab.; gráf.; 30 cm.

Orientadora: Maria do Carmo Alves de Lima.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2016.
Inclui referências.

1. Química medicinal. 2. Anti-inflamatório. 3. Carragenina. I. Lima, Maria do Carmo Alves de (Orientadora). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2017-060)

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: LEITE, NAYARA MARIA SIQUEIRA

Título: **SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-ÍNFLAMATÓRIA DE NOVAS 2-IMINO-TIAZOLIDIN-4-ONAS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários ao grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, na área de concentração Planejamento e Síntese de Fármacos.

Aprovada em: 06/12/2016

Banca Examinadora

Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura Instituição:

Departamento de Farmácia - UEPB

Assinatura: _____

Profa. Dra. Edlene Lima Ribeiro

Instituição: FIOCRUZ-PERNAMBUCO - UFPE

Assinatura: _____

Prof. Dr. Maria do Carmo Alves de Lima

Instituição: Departamento de Antibióticos - UFPE

Assinatura: _____

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

REITOR:

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas dourado

VICE-REITOR:

Prof.^a. Dr.^a. Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos
PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO:

Prof. Paulo Savio Angeiras de Goes

DIRETORA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE:

Prof. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-DIRETORA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE:

Prof.^a. Vânia Pinheiro Ramos

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS:

Prof. Antônio Rodolfo de Faria

SUB-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS:

Prof.^a. Elba Lúcia Amorim Cavalcanti

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS:**

Prof. Almir Gonçalves Wanderley

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS:**

Prof. Rafael Matos Ximenes

Ao meu Pai e meu Irmão, por todas as críticas construtivas

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, pelos amigos que me cercam, pelos professores que colocou em minha vida e ainda, pelas inúmeras oportunidades que já tive até aqui.

A minha orientadora Prof.^a Dr.^a Maria do Carmo Alves de Lima, por todo os ensinamentos no decorrer da elaboração deste trabalho, pela convivência com tanta alegria, amizade e incentivo.

Ao Prof. Jamerson Ferreira de Oliveira, por ser um co-orientador incrível, e além disso, ser amigo, parceiro e me ajudar nos momentos de maior angústia, desde o início da graduação em 2008.

Aos alunos/pesquisadores do Laboratório de Bioensaios para Pesquisa de Fármacos – LBPF, do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, pelos ensinamentos, experimentos realizados e colaboração mais que positiva. Em especial a Mirelly e Iris, pelo empenho e dedicação.

Ao Departamento de Química Fundamental – DQF, da Universidade Federal de Pernambuco, pela paciência com todos e pelos belos espectros que apresentamos nas dissertações e teses. Em especial aos operadores do RMN e ainda ao Prof. Tiago Bento de Oliveira e ao Prof. Jamerson Ferreira de Oliveira pela ajuda na interpretação dos espectros.

A todos os alunos do Laboratório de Química e Inovação Terapêutica - LqIT do Departamento de Antibióticos - CCB da Universidade Federal de Pernambuco, principalmente aqueles que estiveram ao meu lado durante a síntese e nos momentos de descontração: Grazielly, Sybelle, Anekecia, Elizabeth, Mirelly, Iris, Paula, Willams, Jamerson, Cezar, Antonio Sergio, Miguel e Tiago.

Aos meu familiares e incentivo de todos os dias. Meu pai, Alberico, sempre meu amigo... meu irmão, Thiago, sempre meu maior crítico e por isso, meu maior estimulante em vencer os desafios... e minha mãe, Josenilda, que já não está mais nesse plano, mas me conforta saber que um anjinho olha todos os meus passos do céu.

Aos meus amigos desde a época de graduação: Talitha, Jamerson, Priscylla, Alice, Gevanio, Danilo, Lucas, Daniel e Tiago por todos os momentos vividos; aos amigos da vida: Milena, Sergio, Silvio, Domingos, Rayana, Amanda, Ravenna, Arianne, Rarissa, Jordanna, Camila, Juliette, Macelly, Rebeca, Livia e Isabella pelo carinho, amizade e momentos incríveis até aqui. Sem vocês eu nada seria.

Aos amigos da Prefeitura de Jaboatão dos Guararapes por me incentivarem a ir em frente, por cuidarem de mim como filha, pelas críticas e elogios, pelos lanches de toda manhã, meu muito obrigada.

E por fim a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a finalização desse trabalho, meu sincero obrigada.

RESUMO

A inflamação é uma resposta complexa envolvendo componentes celulares e moleculares, denominados de mediadores da inflamação. De forma geral os principais componentes para o desenvolvimento da inflamação são: vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, ativação e adesão celular e coagulação. Apresenta-se na clínica por cinco sinais característicos, os sinais cardinais da inflamação: dor, rubor, calor, edema e perda da função do membro atingido. O aumento da expectativa de vida de forma descontrolada e sem os devidos cuidados com a saúde, levou a uma crescente prevalência de doenças artríticas, como a osteoartrite e artrite reumatoide, e com isso nos últimos anos o número de prescrições de anti-inflamatórios não-esteróides (AINEs) aumentou significativamente. No entanto, os efeitos adversos associados aos anti-inflamatórios, são cada vez mais comuns, o que nos leva a cada ano a busca por compostos novos mais eficientes. Os derivados do grupo tiazol, especificamente a tiazolidinona, tem sido relatado na literatura, como potenciais agentes anti-inflamatórias. Neste estudo, avaliou-se a atividade anti-inflamatória de novos derivados tiazolidínicos utilizando uma estratégia de síntese rápida e eficiente. Os cinco derivados foram obtidos com rendimentos que variaram de 63-79% e caracterizados por RMN (^{13}C e ^1H), IV e MS. No teste de toxicidade em dose única as novas tiazolidinonas sintetizadas não apresentaram variação nos parâmetros fisiológicos e comportamentais, bem como nenhum efeito tóxico significativo durante e após a experimentação. Foi realizado o teste de edema de pata induzida por carragenina, afim de verificar a atividade anti-inflamatória dos novos compostos. No teste de edema de pata induzido por carragenina, os derivados JF-38 e JF-43 apresentaram 100% de inibição do edema na sexta hora (30 mg/kg), enquanto o fármaco padrão, indometacina (10mg/kg) apresentou 85,22% de inibição. Desta forma, os resultados indicam que esses dois derivados tiazolidínicos apresentam atividade anti-inflamatória promissora.

Palavras-chaves: Química medicinal. Anti-inflamatório. Carragenina.

ABSTRACT

Inflammation is a complex response involving cellular and molecular components, called inflammation mediators. In general, the main components for the development of inflammation are: vasodilation, increased vascular permeability, activation and cell adhesion, and coagulation. The cardinal signs of inflammation: pain, flushing, heat, edema and loss of limb function are presented in the clinic by five characteristic signs. The increase in life expectancy in an uncontrolled way and without proper health care has led to an increasing prevalence of arthritic diseases such as osteoarthritis and rheumatoid arthritis, and in recent years the number of non-Steroids (NSAIDs) increased significantly. However, the adverse effects associated with anti-inflammatories, are increasingly common, which leads us each year the search for new compounds more efficient. Derivatives of the thiazole group, specifically thiazolidinone, have been reported in the literature as potential anti-inflammatory agents. In this study, the anti-inflammatory activity of new thiazolidine derivatives was evaluated using a fast and efficient synthesis strategy. The five derivatives were obtained in yields ranging from 63-79% and characterized by NMR (^{13}C and ^1H), IR and MS. In the single dose toxicity test the new synthesized thiazolidinones showed no variation in physiological and behavioral parameters, as well as no significant toxic effect during and after experimentation. The carrageenan-induced paw edema test was performed in order to verify the anti-inflammatory activity of the new compounds. In the carrageenan-induced paw edema test, JF-38 and JF-43 derivatives showed 100% inhibition of edema at the sixth hour (30 mg / kg), while the standard drug, indomethacin (10 mg / kg) presented 85, 22% inhibition. Thus, the results indicate that these two thiazolidine derivatives have promising anti-inflammatory activity.

Keywords: Medical chemistry. Anti-inflammatory. Carrageenan.

LISTA DE ESQUEMAS

- Esquema 1.** Vias de síntese dos principais mediadores químicos, derivados do ácido araquidônico (AA), ciclooxigenases (COX) e lipoxigenase (LOX), através da ação da enzima da fosfolipase A2 (PLAa). Fonte: Autor. 24
- Esquema 2.** Métodos de obtenção das tiosemicarbazonas pelas formas indiretas (A) e direta (B). Fonte: Adaptado de BARBOSA, 2014. 38
- Esquema 3.** Mecanismo reacional de formação da 4-tiazolidina. Fonte: Adaptado de AGRAWAL et al., 2013. 40
- Esquema 4.** Síntese do 5-bromoalquil-2-iminotiazolidin-4-ona. Fonte: Adaptado de OKAWARA et al., 1986. 40
- Esquema 5.** Síntese *two-pot* de 4-tiazolidina dissustituídas. Fonte: Adaptado DIURNO et al., 1999. 40
- Esquema 6.** Síntese de 4-tiazolidinas através do modelo multicomponente *one-pot*. Fonte: Adaptado de BARRECA et al., 2001. 41
- Esquema 7.** Síntese de derivados 4-tiazolidínicos 2-dissustituídos. Fonte: Adaptado de SINGH et al., 2002. 41
- Esquema 8.** Síntese de novos derivados 4-tiazolidinas com o N,N-diciclohexilcarbodiimida (DCC). Fonte: Adaptado de KAVITHA et al., 2006 (A) e RAWAL et al., 2004 (B). 42
- Esquema 9.** Síntese com o N,N-diciclohexilcarbodiimida (DCC), variando a fonte carbonilada com o reagente ciclohexano (b) (produto B) e aldeídos substituídos (a) (produto A). Fonte: Adaptado de SRIVASTAVA, HAQ & KATTI, 2002. 42
- Esquema 10.** Síntese de 4-tiazolidina utilizando como fonte de amina o aminoácido valina (1). Fonte: Adaptado de CUNICO et al., 2007. 43
- Esquema 11.** Síntese de novas tiazolidinas empregando como agente catalítico o fungo *Saccharomyces cerevisiae*, Fonte: Adaptado de PRATAP et al., 2011. 43
- Esquema 12.** Síntese indireta de novas 4-tiazolidinas, através de intermediário derivado da tioureia. Fonte: Adaptado de OTTANA et al., 2005. 44
- Esquema 13.** Principais reações do anel tiazolidínico; na posição 1 (enxofre) reações de oxidação; 3 (nitrogênio) reações de N-alkilação e reações de Mannich; 4 (carbonila) reações de tionação via reagente de Lawesson e 5 (carbono metilênico) reações de condensação com aldeídos, cetonas ou com sais de diazônio. Fonte: Autor. 45
- Esquema 14.** Rota sintética empregada na obtenção dos novos derivados

tiossemicarbazônicos e 4-tiazolidínicos 5-substituídos. Fonte: Autor.	51
Esquema 15. Mecanismo reacional de síntese do intermediário hidrazina carbotiamida substituído (LT-03). R ₁ = Br-fenil. Fonte: Autor.	55
Esquema 16. Mecanismo reacional de síntese de derivados tiossemicarbazônicos. Fonte: Autor.	56
Esquema 17. Mecanismo reacional de síntese dos novos derivados ésteres 4-tiazolidina planejados. Fonte: Autor.	62

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

- Figura 1.** Esquema de síntese das prostaglandinas. (I) Reação com a COX; primeiro passo oxidação e após a redução à PGH₂, por sua ação peroxidase. (II) Reações de isomerização que ocorrem em células específicas do organismo, sintetizando as PGs: PD₂, PF₂ α , PE₂, PI₂ e o tromboxano A₂. Fonte: Adaptado de CHANDRASEKHARAN & SIMMONS, 2004. 26
- Figura 2.** Estrutura do ácido acetilsalicílico (AAS). Fonte: Autor. 29
- Figura 3.** Estrutura típica de um anti-inflamatório não esteroidal (AINES). Fonte: Adaptado de ASIRVATHAM, DHOKCHAWLE, & TAURO, 2016. 29
- Figura 4.** Primeiros fármacos seletivos da COX-2. Fonte: CHEN, RAO & KNAUS, 2006. 33
- Figura 5.** A interdisciplinaridade do processo de descoberta racional de fármacos. Fonte: BARREIRO, 2002. 36
- Figura 6.** Etapas hierárquicas do processo de descoberta de um novo fármaco. Fonte: BARREIRO, 2009. 36
- Figura 7.** Representação química do núcleo das tiossemicarbazonas e sua numeração de acordo com a IUPAC. Fonte: Autor. 38
- Figura 8.** Representação dos comprimentos de ligação, em Angstrom, das ligações na molécula de tiossemicarbazona. Fonte: Autor. 39
- Figura 9.** Representação química do núcleo 4-tiazolidina (TZD) e sua numeração de acordo com a IUPAC. Fonte: Autor. 40
- Figura 10.** Produtos diastereoisômeros de síntese metodológica clássica de TZD (Aldeído/Ácido Mercaptoacético/DCC) híbridos com carboidratos em meio metanólico, por 1 hora em temperatura ambiente. Fonte: CHEN et al., 2008. 44
- Figura 11.** Representação da tiazolidin-4-ona com substituição na posição 5 pela função éster (1) e função ácido (2). Fonte: Autor. 45
- Figura 12.** Estruturas do núcleo 4-tiazolidina com substituintes nas várias posições. Fonte: JAIN et al., 2012. 46
- Figura 13.** Núcleo básico dos derivados 2-imino-4-tiazolidinas com atividade antimicrobiana estudados por REDDY et al., (2010) e seus respectivos substituintes arilídenos mais significativos para a atividade. 47
- Figura 14.** Núcleo básico de novos 5-arilídenos 4-tiazolidínicos. Fonte: VICINI et al, 2008. 48
- Figura 15.** Derivados 4-tiazolidínicos com potencial atividade anti-*Toxoplasma gondii*. 48
- Figura 16.** Núcleos básicos de 4-tiazolidinas estudadas nos anos 2000 com potencial

- atividade anti-HIV. 49
- Figura 17.** Regiões de vibrações do IV do composto LqIT/JF-42 indicando os principais estiramentos dos grupos presentes na tiossemicarbazona; referente aos NHs (seta amarela), função azometínica $-C=N$ (seta azul) e o grupamento $C=S$ (seta vermelha). 59
- Figura 18.** Representação das possíveis configurações de obtenção das tiossemicarbazonas ilustrando a posição do hidrogênio azometínico. Fonte: OLIVEIRA, 2015. 59
- Figura 19.** Espectro de RMN¹H do composto LqIT/JF-42 indicando os sinais referentes ao NH do grupo hidrazínico (seta amarela), do NH ligado ao grupo aromático (seta azul) e do hidrogênio da função azometínica $-C=N$ (seta vermelha). 60
- Figura 20.** Espectro de RMN¹³C do composto LqIT/JF-42 indicando os sinais referentes ao carbono da ligação azometínica $-C=N$ (seta azul) e do carbono da função tiocarbonila $C=S$ (seta vermelha). 61
- Figura 21.** Espectro de massas do composto JF-42 e pico do íon molecular (círculo em vermelho). 63
- Figura 22.** Regiões de vibrações do IV do composto LqIT/JF-43 indicando os principais estiramentos dos grupos presentes nas tiazolidinas; referente a lactama (seta vermelha), picos da função éster (setas azuis) e ainda, não há picos na região estiramento de ligação NH (em amarelo). 65
- Figura 23.** Espectro de RMN¹H do composto LqIT/JF-43 indicando os sinais referentes ao grupamento etil na região de carbono *sp*³ (seta dupla em azul), singlete olefínico (seta vermelha), o hidrogênio da função azometínica $-C=N$ (seta amarela) e ausência de picos acima de 9ppm, característico das tiossemicarbazonas (círculo em verde). 66
- Figura 24.** Espectro de RMN¹³C do composto LqIT/JF-43 indicando os sinais referentes aos carbonos das ligações *sp*³ (setas vermelhas) e ausência de pico da tiocarbonila ($C=S$) na faixa de 176ppm (em amarelo). 67
- Figura 25.** Espectro de massas do composto JF-43 (pico do íon molecular círculo em vermelho). 68
- Gráfico 1.** Gráfico em barra com o percentual de inibição do volume da pata (%) comparado com o controle negativo. Fonte: Autor. 70

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Classes de AINES não seletivos da COX, com respectiva estrutura química de um representante da classe. Fonte: Adaptado de SILVA, MENDONÇA & PARTATA, 2014. 30
- Tabela 2.** Classes de AINES seletivos da COX-2, com respectiva estrutura química de um representante da classe. Fonte: Adaptado de SILVA, MENDONÇA & PARTATA, 2014. 31
- Tabela 3.** Resultados da avaliação anti-inflamatória de novos derivados 5-arilidenos-2-(1,3-tiazol-2-ilimino(-1,3—tiazolidin-4-ona através da metodologia de inibição de edema de pata induzido por carragenina e respectivos LogP. Fonte: Adaptado de APOSTOLIDIS et al., 2015. 49
- Tabela 4.** Percentual de inibição do edema de pata induzido por carragenina e LogP de potencias anti-inflamatórios 4-tiazolidínicos. Fonte: Adaptado de ABDELLATIF et al., 2016. 50
- Tabela 5.** Propriedades físico-químicas e rendimentos para tiossemicarbazonas da série N-(4-bromofenil)-hidrazina-carbotiamida. Fonte: Autor. 57
- Tabela 6.** Principais frequências de absorção observadas nos espectros de IV para as tiossemicarbazonas da série N-(4-bromofenil)-hidrazina-carbotiamida. Fonte: Autor. 58
- Tabela 7.** Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN¹H para tiossemicarbazonas da série N-(4-bromofenil)-hidrazina-carbotiamida. Fonte: Autor. 60
- Tabela 8.** Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN¹³C para tiossemicarbazonas da série N-(4-bromofenil)-hidrazina-carbotiamida. Fonte: Autor. 61
- Tabela 9.** Picos calculados e encontrados do íon molecular (m/z) das tiossemicarbazonas da série N-(4-bromofenil)-hidrazina-carbotiamida. Fonte: Autor. 62
- Tabela 10.** Propriedades físico-químicas e rendimentos para os derivados ésteres 4-tiazolidinas da série (E)-etil-2-((Z)-2-(E)-benzilidenohidrazona)-3-(4-bromofenil)-4-oxotiazolidin-5-ilideno) acetato. Fonte: Autor. 64
- Tabela 11.** Principais frequências de absorção observadas nos espectros de IV para os derivados ésteres 4-tiazolidinas da série (E)-etil-2-((Z)-2-(E)-benzilidenohidrazona)-3-(4-bromofenil)-4-oxotiazolidin-5-ilideno) acetato. Fonte: Autor. 64
- Tabela 12.** Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN¹H para os derivados ésteres 4-tiazolidinas da série (E)-etil-2-((Z)-2-(E)-benzilidenohidrazona)-3-(4-bromofenil)-4-oxotiazolidin-5-ilideno) acetato. Fonte: Autor. 66

- Tabela 13.** Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN¹³C para os derivados ésteres 4-tiazolidinas da série (E)-etil-2-((Z)-2-(E)-benzilidenohidrazona)-3-(4-bromofenil)-4-oxotiazolidin-5-ilideno) acetato. Fonte: Autor. 67
- Tabela 14.** Picos calculados e encontrados do íon molecular (m/z) dos derivados ésteres 4-tiazolidinas da série (E)-etil-2-((Z)-2-(E)-benzilidenohidrazona)-3-(4-bromofenil)-4-oxotiazolidin-5-ilideno) acetato. Fonte: Autor. 68
- Tabela 15.** Percentual de crescimento do volume da pata (%) comparado com o controle negativo (média ± erro padrão). Fonte: Autor. 70
- Tabela 16.** Percentual de inibição do processo inflamatório (%) dos novos derivados 4-tiazolidínicos. Fonte: Autor. 71
- Tabela 17.** Percentual de crescimento do volume da pata (%) comparado com o controle positivo (média ± erro padrão) para os compostos JF-38 e JF-43. Fonte: Autor. 72
- Tabela 18.** Percentual de inibição dos compostos tiazolidin-4-onas quinolonas substituídos avaliados por SUTHAR et al., (2013), mostrando a diferença de inibição do edema de pata (%) dos compostos sem (15a e 16a) e com (15b e 16b) substituição bromo. Fonte: Adaptado de SUTHAR et al., 2013. 72
- Tabela 19.** Dados dos LogP dos grupamentos “R” que variam na substituição dos novos derivados 2-amino-4-tiazolidínicos, indicando o tipo de contribuição que trazem para a molécula. Fonte: OSIRIS DataWarrior ® versão 4.4.4.. 73
- Tabela 20.** Estimativa de contribuição do fragmento 2-imino-5-metilideno-4-tiazolidina para a interação com as enzimas COX-1, COX-2 e LOX. Fonte: Fonte: Adaptado de ELEFTHERIOU et al., 2012 74

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

5-HETE	5-Hidroxi-peroxieicosatetraénoico
AA	Ácido araquidônico
AcOH	Ácido acético
AcOEt	Acetato de etila
AINES	Anti-inflamatórios não-esteroidais
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AAS	Ácido acetil salicílico
CCD	Cromatografia em camada delgada
CEUA - UFPE	Comite de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pernambuco
COBEA	Colégio Brasileiro para Experimentação Animal
COX	Ciclooxigenase
d	Dubleto
dd	Duplo dubleto
DEAD	Dietil acetilenocarboxilato
Def.	Deformação
DMAD	Dimetil acetilenocarboxilato
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d₆	Dimetilsulfóxido deuterado
EM	Espectometria de massas
eq.	Equivalente
EtOH	Etanol
h	Hora
HIV	Vírus de Imunodeficiência Humana
Hz	Hertz
ICLAS	Internacional Conselho de Laboratório de Animais Experimentais
IL	Interleucinas
IRA	Insuficiência Renal Aguda
IUPAC	União Internacional de Química Aplicada
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
Kg	Kilograma

KBr	Brometo de Potássio
LBDD	Fármaco baseado na estrutura do ligante
LBPF	Laboratório de Bioensaios para Pesquisas de Fármacos
LOX	Lipoxigenase
LqIT	Laboratório de Química e Inovação Terapêutica
MAPA	Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MeOH	Metanol
mg	Miligrama
MHz	Megahertz
mL	Mililitro
m	Multiplete
m/z	Pico do íon molecular
Na₂SO₄	Sulfato de Sódio
NH₄CO₃	Carbonato de Amônio
<i>n</i>-hex	N-hexano
nm	Nanômetro
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
OMS	Organização Mundial de Saúde
PF	Ponto de Fusão
PG	Prostaglandina
PGG₂	Prostaglandina G ₂
PGI₂	Prostaciclina
pKa	Logaritmo da constante de acidez
PLA₂	Fosfolipase A ₂
ppm	Partes por milhão
REA	Relação Estrutura Atividade
Rf	Razão de frente
RMN ¹³C	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN ¹H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	Singlete
SBDD	Fármaco baseado na estrutura do receptor
t	Triplete
THF	Tetrahidrofurano
TNF	Fator de necrose tumoral

TOF	Time of flight
TSC	Tiossemicarbazona
TXA₂	Tromboxano
TZD	Tiazolidin-4-ona
UV	Ultravioleta
V_f	Volume final
V_i	Volume inicial
v/v	Volume/volume
°C	Graus celsius
μM	Micromolar
μg	Micrograma
δ	Deslocamento químico
λ	Comprimento de onda
δ	Deformação angular
v	Estiramento

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 OBJETIVOS	23
3 REVISÃO DA LITERATURA	24
3.1 A INFLAMAÇÃO	24
3.1.1 Principais mediadores da inflamação	24
3.1.2 COX e suas isoformas	28
3.2 ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTERIOIDAIIS (AINES)	28
3.3 A QUÍMICA MEDICINAL E A INTRODUÇÃO DE NOVOS FARMÁCOS	35
3.4 QUÍMICA DAS TIOSSEMICARBAZONAS	38
3.5 QUÍMICA DAS 4-TIAZOLIDINAS E IMPORTÂNCIA BIOLÓGICA	40
3.5.1 Métodos de obtenção	40
3.5.2 Reatividade do anel tiazolidínico	46
3.5.3 Principais atividades biológicas das 4-tiazolidinas	47
4 MATERIAIS E MÉTODOS	51
4.1. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DOS COMPOSTOS	51
4.1.1 Equipamentos	51
4.1.2 Reagentes e solventes	51
4.1.3 Esquema geral de síntese	52
4.1.4 Metodologias sintéticas	52
4.1.4.1 Síntese do intermediário hidrazina carbotiamida substituído (LqIT/LT-03)	52
4.1.4.2 Síntese dos novos derivados tiosemicarbazônicos N-(4-bromofenil)-hidrazina-carbotiamida substituídos (LqIT/JF)	53
4.1.4.3 Síntese dos derivados (E)-etil-2-((Z)-2-(E)-benzilidenohidrazona)-3-(4-bromofenil)-4-oxotiazolidin-5-ilideno) acetato substituídos (LqIT/JF)	53
4.1.5 Caracterização físico-química e estrutural	53
4.2 ESTUDO BIOLÓGICO <i>IN VIVO</i>	54
4.2.1 Animais	54
4.2.2 Toxicidade aguda em dose única	54
4.2.3 Teste de edema de pata induzido por carragenina	55
4.2.4. Análises estatísticas	55
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	56
5.1 MECANISMOS REACIONAIS E ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL	56

5.1.1 Mecanismo de síntese do intermediário tiossemicarbazida	56
5.1.2 Mecanismo de síntese dos novos derivados tiossemicarbazônicos e elucidação estrutural	56
5.1.3 Mecanismo de síntese dos derivados 4-tiazolidínicos 5-substituídos e elucidação estrutural	63
5.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA	68
5.2.1 Toxicidade aguda em dose única	68
5.2.2 Edema de pata induzido por carragenina	69
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	74
REFERÊNCIAS	75

1 INTRODUÇÃO

A cada ano mais de 650 mil idosos são incorporados na população brasileira, com isso a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que até 2025, o Brasil será o sexto país do mundo com o maior número de pessoas idosas (MOTA et al., 2010). O aumento da expectativa de vida nos países desenvolvidos e em desenvolvimento levou a uma crescente prevalência de doenças artríticas, que tem sido acompanhado pelo aumento das prescrições de anti-inflamatórios não-esteróides (AINEs). Estes são os fármacos mais utilizados para no tratamento do comprometimento músculo-esquelético e doenças artrítica, como a osteoartrite e artrite reumatoide (SCARPIGNATO & HUNT, 2010); também muito utilizado pela sua eficácia no tratamento da dor e febre geral, bem como os seus efeitos antiplaquetário, na profilaxia de eventos cardiovasculares e cerebrovasculares (LEE & CRYER, 2011).

Os AINEs são mais frequentemente administrados por via oral; sendo então absorvidos pelo sistema digestivo e metabolizados pelo fígado ou os rins. Podem também ser administrados por via tópica ou por injeção intramuscular (ZILTENER, LEAL & FOURNIER, 2010). O seu mecanismo de ação é a inibição da síntese de prostaglandinas (PGs), por meio da inibição das ciclooxigenase, enzima responsável pela primeira etapa dessa biossíntese (CLARK et al., 2013). Ciclooxigenase é a denominação geral dessa enzima, visto que, ela existe em duas isoformas, referidas como COX-1 e COX-2.

A COX-1 é expressa constitutivamente na maioria células de mamíferos sendo importante positivamente por suas funções de manutenção, tais como citoproteção epitelial gástrica através da PGI₂. Já a COX-2 é expressa constitutivamente ou após a indução por estímulos inflamatórios, hormonais e fatores de crescimento, estando envolvida tanto na inflamação como na reprodução, fisiologia renal, reabsorção óssea e neurotransmissão (KOWALSKI & STEVENSON, 2013). Durante o processo inflamatório, não há variação na quantidade da COX-1, enquanto a COX-2 sofre um aumento dramático dos seus níveis, elevando as PGs pró-inflamatórias (RAO & KNAUS, 2008).

Com isso, o efeito anti-inflamatório dos AINEs é geralmente o resultado da inibição da COX-2, enquanto que os efeitos colaterais são principalmente devidos à inibição da COX-1 (CASTAGNETTI & MARIELLA, 2015); os efeitos mais comuns são: gastrite, disfunção plaquetária, comprometimento renal e broncoespasmo (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2007).

A busca por anti-inflamatórios seletivos a COX-2 começou na década de 90 e, não tão tarde, em 1999 a Pfizer® lançou o primeiro inibidor seletivo da COX-2, o celecoxib; em seguida

a Merck® lançou o rofecoxib. Em pouco tempo, ambos, atingiram vendas superiores a um bilhão de dólares nos EUA dentro de 15 meses após o lançamento. No entanto, estudos posteriores, demonstraram que os inibidores seletivos da COX-2 desajustam o equilíbrio natural entre os processos protrombóticos e antitrombóticos, potencialmente aumentando a possibilidade de um evento cardiovascular trombótico, resultando na retirada de alguns fármacos dessa classe de medicamentos no início dos anos 2000 do mercado, inclusive no Brasil (RAO & KNAUS, 2008).

Dentro desse contexto, visando à descoberta de novas terapêuticas anti-inflamatórias, a pesquisa de novos derivados 4-tiazolidínicos se aplica devido a sua grande importância na química medicinal e sua diversidade de atividades biológicas, tais como anti-inflamatórias, anti-proliferativas, antiviral, anticonvulsivo, anti-diabético, anti-hiperlipidêmico, cardiovascular, anti-tuberculoso, antifúngico e antibacteriano (TRIPATHI et al., 2014).

Vários métodos para a síntese de 4-tiazolidinonas são amplamente relatados na literatura. As principais vias sintéticas envolvem três componentes: uma amina, um composto carbonilado e um mercapto-ácido. A síntese clássica se dá pela condensação de três componentes, em duas etapas. As reações começam pela formação de uma imina (o azoto da amina ataca a carbonila do aldeído ou cetona), que sofre ataque nucleofílico do enxofre, seguida por ciclização intramolecular e eliminação de água (MARKOVIĆ et al., 2005).

Assim, o presente trabalho tem como objetivo sintetizar novos derivados 4-tiazolidínicos e avaliar sua potencial atividade anti-inflamatória pelo método de edema de pata induzido por carragenina.

2 OBJETIVOS

Geral

Sintetizar e avaliar a atividade anti-inflamatória de novos derivados (E)-etil-2-((Z)-2-(E)-benzilidenohidrazona)-3-(4-bromofenil)-4-oxotiazolidin-5-ilideno) acetato substituídos (LqIT/JF).

Específicos

Sintetizar e determinar as características físico-químicas de novo derivados das séries N-(4-bromofenil)-hidrazina-carbotiamida substituídos.

Sintetizar e determinar as características físico-químicas de novos derivados das séries (E)-etil-2-((Z)-2-(E)-benzilidenohidrazona)-3-(4-bromofenil)-4-oxotiazolidin-5-ilideno) acetato substituídos;

Caracterizar estruturalmente os compostos através de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN¹H), Ressonância Magnética Nuclear de carbono treze (RMN¹³C), espectroscopia de absorção vibracional na região do infravermelho (IV) e Espectrometria de Massas (EM);

Realizar ensaio de toxicidade aguda dose única;

Avaliar atividade anti-inflamatória através da metodologia de edema de pata induzido por carragenina em camundongos;

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 A INFLAMAÇÃO

Lesão tecidual, traumas mecânicos ou invasão por agentes infecciosos podem ser mecanismos causais de uma inflamação. Esses, seguidos dos quatro sinais cardinais da inflamação: dor, rubor, calor e edema, caracterizam o seu processo inicial; muitas vezes ocorrendo alterações funcionais na área atingida (GALLIN et al., 1982).

Estes sinais são provenientes da dilatação de arteríolas e aumento da permeabilidade vascular por ação de mediadores inflamatórios. O aumento do fluxo sanguíneo na área lesada produz eritema e calor, assim o aumento da temperatura ativa as reações metabólicas e liberam calor adicional. O edema surge com aumento da permeabilidade (VERGNOLLE, 2008). Sem inflamação, a reparação tecidual seria impossível e os órgãos danificados se tornariam comprometidos permanentemente (ROBBINS et al., 2005)

A instalação do processo inflamatório pode ser dividida em três fases. A inflamação aguda refere-se à resposta inicial à lesão tecidual; é mediada pela liberação de substâncias como histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas e leucotrienos, e, em geral, precede o desenvolvimento da resposta imune. A resposta imune aparece, quando as células imunologicamente competentes são ativadas em resposta a organismos estranhos ou substâncias antigênicas, liberadas durante a resposta inflamatória aguda ou crônica. A inflamação crônica envolve a liberação de diversos mediadores que não são proeminentes na resposta imune. Entre eles, estão o interferon e interleucinas (SILVA et al., 2002).

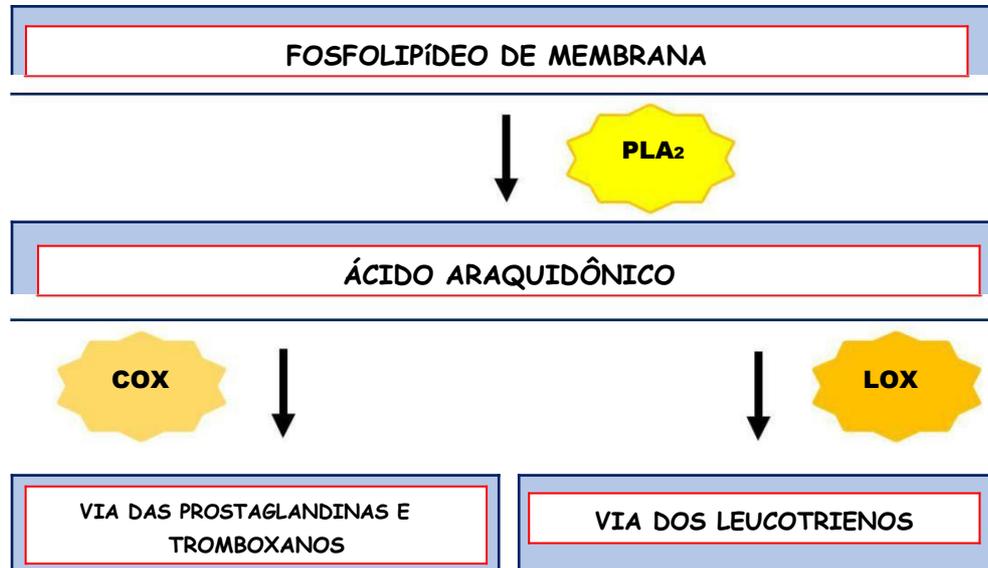
Sendo de forma geral os principais componentes para o desenvolvimento da inflamação os seguintes eventos: (a) vasodilatação; (b) aumento da permeabilidade vascular; (c) ativação e adesão celular; (d) e coagulação (SAYERS, 2002).

A inflamação é uma resposta complexa envolvendo componentes celulares e moleculares, denominados de mediadores da inflamação. Estes estão envolvidos na gênese e manutenção dos eventos característicos do processo, ligando-se a receptores específicos nas células-alvo, estimulando ou não a liberação de outros mediadores (ZHOU et al., 2007).

3.1.1 Principais mediadores da inflamação

Os mediadores da inflamação podem ser originados do plasma, de células e de tecidos necróticos. Os de origem celular, normalmente, estão armazenados em grânulos intracelulares, sendo secretados após o primeiro estímulo de inflamação. Como exemplo, temos a histamina, que se encontram armazenadas em grânulos nos mastócitos (ROBBINS et al., 2005). Outros mediadores pré-formados são a bradicinina e serotonina (SERPELL, MAKIN & HARVEY, 1998). Sendo as primeiras aminas vasoativas a serem liberadas pelos macrófagos, mastócitos e plaquetas, a histamina e serotonina (BESSON, 1999).

Outros mediadores são sintetizados na sua origem, a exemplo temos as prostaglandinas, tromboxanos e citocinas. Esses são chamados de derivados do ácido araquidônico (AA) ou eicosanoides (BOYCE, 2005). Os fosfolípidios de membrana, principalmente, fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina são hidrolisados pela enzima fosfolipase A₂ (PLA₂) originando o AA (CARVALHO, CARVALHO & RIOS-SANTOS, 2004) e assim, após ação de duas enzimas diferentes, as ciclooxigenases (COX) e a lipoxigenase (LOX) os principais mediadores são sintetizados, entre eles as prostaglandinas (PG) (MEOTTI, 2006) (Esquema 1).



Esquema 1. Vias de síntese dos principais mediadores químicos, derivados do ácido araquidônico (AA), ciclooxigenases (COX) e lipoxigenase (LOX), através da ação da enzima da fosfolipase A₂ (PLA_a). Fonte: Autor.

Citocinas são proteínas solúveis, de baixo peso molecular, secretadas pelos leucócitos e outras células do organismo, principalmente em resposta a estímulos antigênicos, que atuam como mensageiros do sistema imune. Citocinas que agem em outros leucócitos são denominadas interleucinas (IL). As IL estão envolvidas na resposta e na apresentação de

antígenos, principalmente pelos linfócitos T auxiliares; algumas tem função de controlar o tráfego basal e anti-inflamatório de leucócitos (VIANNA et al., 2011)

A transformação do AA à prostaglandinas ocorre por catalisação da reação pela COX. Nessa primeira etapa, insere-se duas moléculas de oxigênio no AA, dando origem a prostaglandina G₂ (PGG₂) (MOREIRA, 2003). A mesma enzima, por sua atividade peroxidase, catalisa a redução desta prostaglandina para formar a PGH₂. As PGG₂ e PGH₂ apresentam pouca atividade e servem como substrato para a formação de diferentes prostaglandinas e tromboxanos ativos, incluindo PGD₂, PGE₂, PGF_{2α}, prostaciclina (PGI₂) e tromboxanos (CHANDRASEKHARAN & SIMMONS, 2004). Os esquemas de síntese das PG podem ser visualizados na figura 1, a seguir.

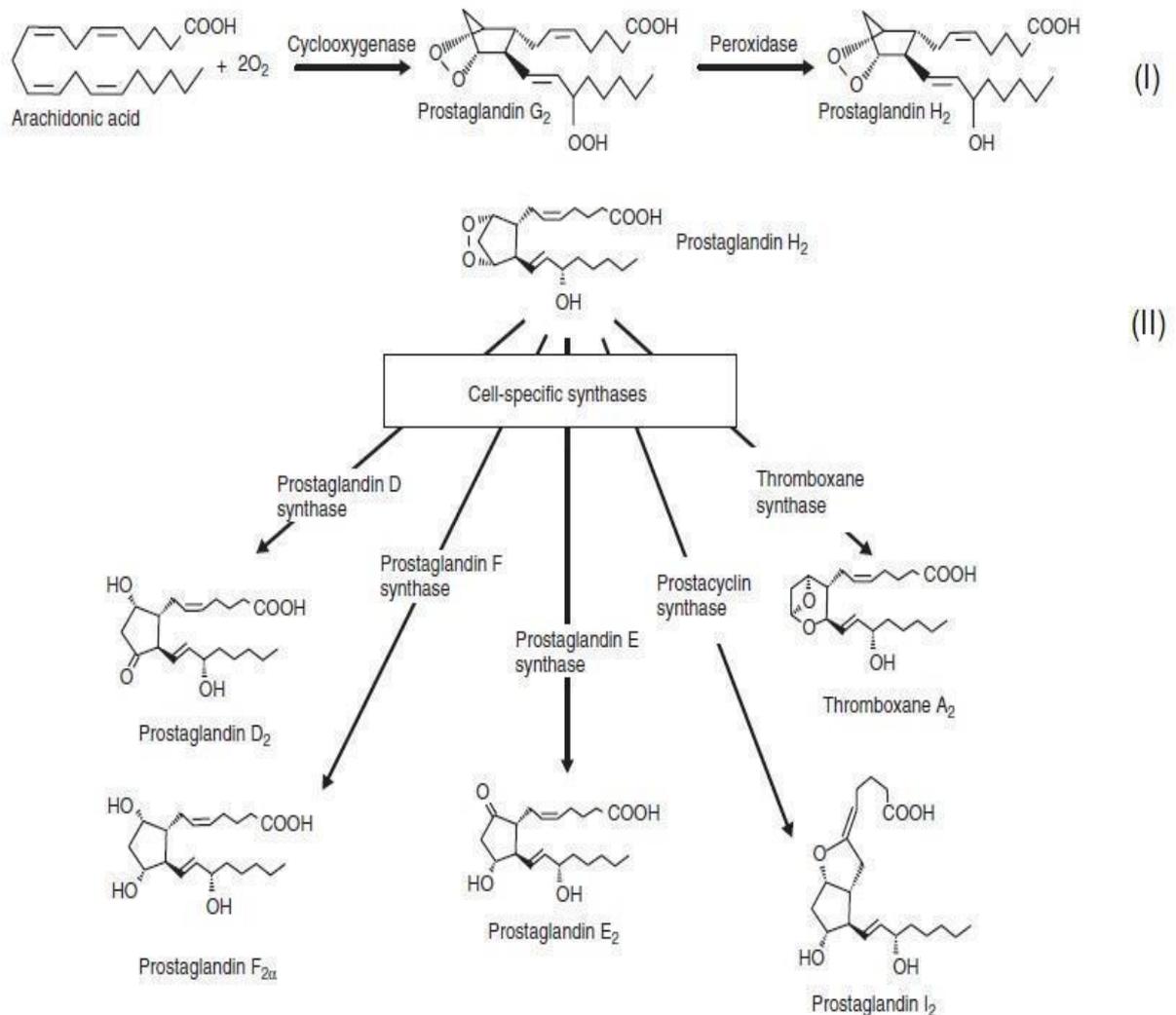


Figura 1. Esquema de síntese das prostaglandinas. (I) Reação com a COX; primeiro passo oxidação e após a redução à PGH₂ por sua ação peroxidase. (II) Reações de isomerização que ocorrem em células específicas do organismo, sintetizando as PGs: PD₂, PF_{2α}, PE₂, PI₂ e o tromboxano A₂. Fonte: Adaptado de CHANDRASEKHARAN & SIMMONS, 2004.

A maioria das PG estão envolvidas em processos fisiológicos como vasodilatação ou vasoconstrição, contração e relaxamento da musculatura brônquica e uterina, ovulação, metabolismo ósseo, aumento do fluxo sanguíneo renal (resultando em diurese, natriurese e estimulação da renina), supressão da secreção ácido gástrica, regulação de atividade quimiotática celular, resposta endócrina e angiogênese. Já seus efeitos patológicos, como eritema e aumentos do fluxo sanguíneo local, hiperalgesia, ocorre provavelmente devido à sensibilização de nociceptores; no aumento da temperatura corporal, há estimulação de citocinas sobre o hipotálamo. Quando sua produção é aumentada, há aumento da sensibilidade à dor e febre, além da resposta inflamatória. As PGs são capazes da ação anti-inflamatória devido a supressão da síntese de IL-1 e síntese de Fator de Necrose Tumoral (TNF) (HILÁRIO et al., 2006).

O principal produto da segunda via, o 5-hidroperoxieicosatetraenóico (5-HETE), um quimiotático para neutrófilos, é convertido na grande família chamada de leucotrienos. Essa classe de enzimas são uma família de substâncias farmacologicamente ativas, solúveis, localizadas no citosol e encontradas predominantemente nos pulmões, plaquetas, células endoteliais, monócitos, mastócitos, eosinófilos e linfócitos B (MONTUSCHI, 2007).

Outro mediador envolvido no processo inflamatório é o óxido nítrico (NO). Ele é biosintetizado pela conversão da L-arginina pela enzima óxido-nítrico sintase (NOS). São conhecidas três isoformas da NOS: a óxido-nítrico sintase neuronal (nNOS), a forma endotelial (eNOS) e a forma induzida (iNOS) (WONG & MARDSEN, 1996). A iNOS é produzida por macrófagos, neutrófilos, plaquetas e outras células ativadas por citocinas, causando danos oxidativos letais as células (BARRETO, CORREIA & MUSCARÁ, 2005).

Os níveis de NO produzidos durante a inflamação aguda ou crônica podem lesionar os tecidos de forma direta, através de danos a proteínas, lípidos e DNA ou indiretamente, modulando a atividade dos leucócitos. Os níveis elevados derivado metabólitos do NO têm sido encontrados no sangue, urina ou fluido sinovial de doentes afetados por doenças inflamatórias (por exemplo, artrite reumatóide ou sepse) e muitos agentes diferentes conhecido para causar uma resposta inflamatória também causar rápida acumulação do NO em vários modelos experimentais. Com isso, o seu papel em vários modelos de doenças inflamatórias tem sido bem abordado nos últimos anos (FARO et al., 2014).

3.1.2 COX e suas isoformas

Existem três isoformas da COX: COX-1, COX-2 e COX-3. A COX-1 é amplamente distribuída e expressa a forma constitutiva. As prostaglandinas PGE e PGI₂ são sintetizadas pela COX-1, que é chamada de constitutiva devido a sua presença no organismo ocorrer de forma fisiológica. Algumas de suas funções são: manter a integridade da mucosa gástrica proporcionando proteção às células epiteliais através da inibição da secreção gástrica estimulada pela alimentação, histamina ou gastrina e reduzem o volume de secreção, a acidez e o conteúdo de pepsina. Além disso a COX-1 também é encontrada no prosencéfalo, onde as prostaglandinas podem estar envolvidas em função de integração, como a modulação do sistema nervoso central (CARVALHO, CARVALHO & RIOS-SANTOS, 2004).

A COX-2 é expressa em situações em que está ocorrendo o fenômeno da inflamação, principalmente por células envolvidas no processo, como macrófagos e monócitos. A presença de citocinas (interleucinas) estimulam sua produção. Mas, em alguns tecidos ela é expressa de forma constitutiva, como nos pulmões, rins, endotélio vascular, cérebro e aparelho reprodutor feminino (JOUZEAU et al., 1997; CHAHADE, GIORGI & SZAJUBOK, 2008)

Além das duas isoformas primeiramente identificadas, mais recente, uma terceira forma, a COX-3 foi identificada, ela é codificada pelo mesmo gene que a COX-1, com a diferença de que a COX-3 mantém um intron que não é o mesmo que na COX-1. A sua expressão foi determinada em cérebros de ratos, principalmente em hipotálamo e hipófise (OKSUZ et al., 2015; CHANDRASEKHARAN et al., 2002).

As ciclooxigenases são alvos biológicos dos medicamentos AINES. A inibição da COX afeta diretamente o metabolismo do AA, inibindo assim a formação de eicosanoides, dentre eles os principais responsáveis pelos efeitos pró-inflamatórios, as PG (FLOWER, 2003).

3.2 ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS (AINES)

O primeiro AINE de que se tem conhecimento foi o ácido acetilsalicílico. Da casca do salgueiro (*Salixal bavulgaris*), Leroux em 1829, cristalizou a salicilina. Mais tarde, Pina em 1836, isolou o ácido salicílico. Kolbe e Leutemann, em 1859, conseguiram obter o ácido salicílico através de síntese e volta de 1874 estava sendo produzido industrialmente.

E finalmente em 1899, foi introduzido na prática clínica o ácido acetilsalicílico (AAS) (Figura 2), após estudos feitos por Hoffmann. Ele químico da Bayer, descobriu estudos prévios feitos por Gerhardt que acetilava o ácido salicílico, minimizando seus efeitos adversos (GROSSER, SMYTH & FITZGERALD, 2012).

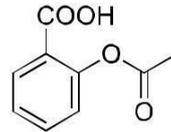


Figura2. Estrutura do ácido acetilsalicílico (AAS). Fonte: Autor.

Estruturalmente eles são constituídos de uma porção acídica (ácido carboxílico ou enóis) ligado a um grupo planar aromático (Figura 3), logo a maioria são ácidos orgânicos fortes com o pKa entre 3-5. O grupo ácido é essencial para atividade inibitória COX, além de servir como um grupo de ligação importante (Ligação iônica) com proteínas plasmáticas. O grupo ácido, também é o local principal de metabolismo por conjugação, sendo a principal via de eliminação para muitos AINES a glicuronidação (ASIRVATHAM, DHOKCHAWLE, & TAURO, 2016).

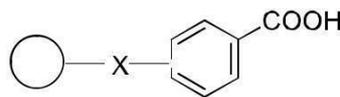
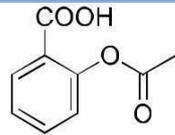
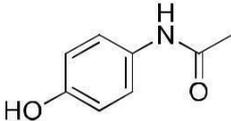
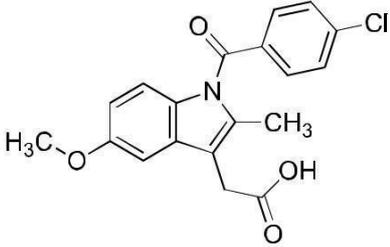
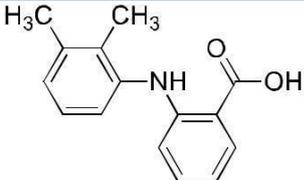
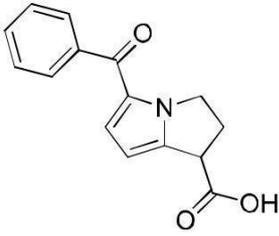
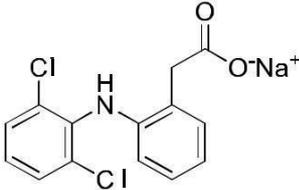


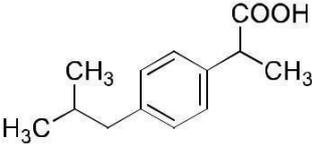
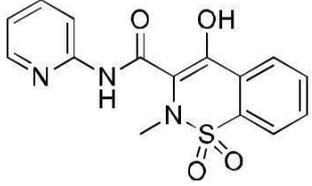
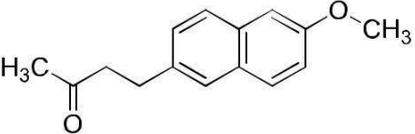
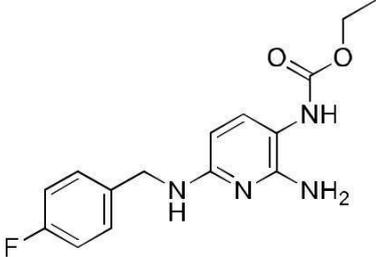
Figura 3. Estrutura típica de um anti-inflamatório não esteroideal (AINES). Fonte: Adaptado de ASIRVATHAM, DHOKCHAWLE & TAURO, 2016.

Os vários tipos de AINES inibem de forma diferente as isoformas das ciclooxygenases (COX-1 e COX-2), com isso são classificados em: inibidores não seletivos da COX e inibidores seletivos da COX-2 (FITZGERALD, 2003). O mecanismo de ação desses fármacos só foi elucidado em 1971, por John Vane, que recebeu o prêmio Nobel propondo que os anti-inflamatórios semelhantes ao ácido acetilsalicílico tinham ação devido a inibição das isoformas da COX (VANE & BOTTING, 2003; FLOWER, 2003; VANE & BOTTING, 1998).

Além da classificação dos AINES de acordo com a sua seletividade, eles são formados por uma extensa classe de compostos heterogêneos com estruturas químicas variantes, podendo ser distribuídos em classes, de acordo com seu grupo químico (SILVA, MENDONÇA & PARTATA, 2014). Assim, abaixo, segue tabela 1 e tabela 2 com a classificação da maioria dos AINES disponíveis na terapêutica.

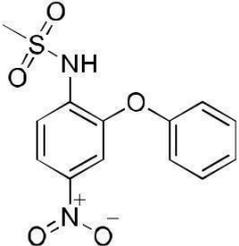
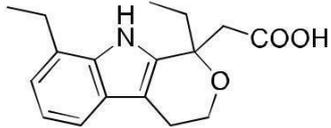
Tabela 1. Classes de anti-inflamatórios não esteroidais não seletivos da COX, com respectiva estrutura química de um representante da classe.

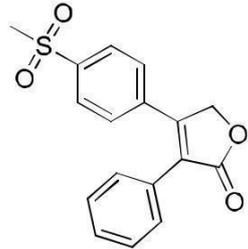
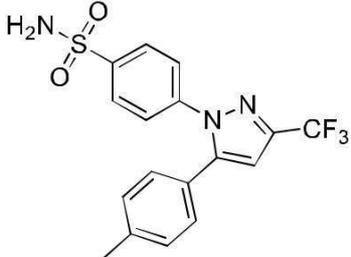
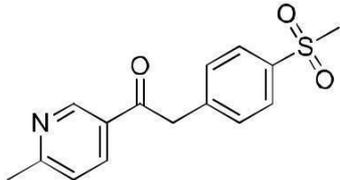
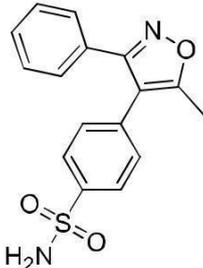
Classe	Fármaco	Representante de Cada Grupo*
Farmacocinética		
Derivados do Ácido Salicílico (Salicatos)	Ácido Acetil Salicílico*, Salicilato de Sódio, Salicilato de Metila, Diflunisal, Flunfenisal, Sulfassalazina, Olsalazina	
Derivados Pirazolônicos	Dipirona*, Fenilbutazona, Apazona, Sulfumpirazona	
Derivados do Para-aminofenol	Paracetamol* (Acetaminofeno)	
Derivados do Ácido indolacético e Ácido Indenoacético	Indometacina*, Sulindaco, etodolaco	
Derivados do Ácido n-fenilantranílico (fenamatos)	Ácido mefenâmico*, Ácido meclofenâmico, Ácido flufenâmico, Ácido tolfenâmico, Ácido etofenâmico	
Derivados do Ácido pirrolalcanoico	Tolmetino, Cetorolaco*	
Derivados do Ácido Fenilacético	Diclofenaco de sódio*, Aceclofenaco	

Derivados do Ácido propiônico	Ibuprofeno*, Naproxeno, Flurbiprofeno, Cetoprofeno, Fenoprofeno, Oxaprozino, Indoprofeno, Ácido tiaprofênico	
Derivados do Ácido enólico (Oxicam)	Piroxicam*, Meloxicam, Tenoxicam, Sudoxicam, Isoxicam, Ampiroxicam, Droxicam, Lornoxicam, Cinoxicam, Ampiroxicam, Pivoxicam	
Derivados do Ácido Naftilacético	Nabumetona*, Proquazona	
Derivados do Ácidos Carbâmico	Flupirtina*	

Fonte: Adaptado de SILVA, MENDONÇA & PARTATA, 2014.

Tabela 2. Classes de anti-inflamatórios não esteroidais seletivos da COX-2, com respectiva estrutura química de um representante da classe.

Classe Farmacoquímica	Fármaco	Seletividade
Derivado da sulfonanilida	Nimesulida	
Derivado do Ácido indolacético	Etodolaco	

Derivado Furanonadiarilsusbtituído	Rofecoxib	
Derivado Pirazoldiazrilsusbtituído	Celecoxib	
Derivado Birpiridínicodiarilsusbtituído	Etoricoxib	
Derivado Isoxazoldiarilsusbtituído	Valdecoxib	

Fonte: Adaptado de SILVA, MENDONÇA & PARTATA, 2014.

Eles se apresentam de forma heterogênea em relação a seus vários tipos de estruturas químicas, possuindo em comum três ações farmacológicas: ação anti-inflamatória, antipirética e analgésica. Já são mais de 50 AINES diferentes no mercado, mas nenhum deles é considerado fármaco ideal no controle dos sinais e sintomas da inflamação (RANG et al., 2007).

Prescrições de agentes anti-inflamatórios é comum nos Estados Unidos da América (EUA), o que reflete o envelhecimento da população e o aumento concomitante em doenças musculoesqueléticas, particularmente osteoartrite e artrite reumatoide. De outubro de 2011 a setembro de 2012, os cinco principais AINES foram responsáveis por quase 86 milhões de prescrições dispensadas para 44 milhões de pacientes. Este nível de utilização e aceitação reflete as propriedades anti-inflamatórias e analgésicas bem reconhecidos desta classe e fármacos (BELLO & HOLT, 2014).

Já no Brasil, estudos específicos sobre a utilização dos AINES, bem como sobre os fatores relacionados ao seu uso, são raros ou mesmo inexistentes, embora o conhecimento

destas questões seja imprescindível para o emprego terapêutico adequado desta classe (COELHO-DE-SOUZA et al., 2013). São amplamente vendidos em farmácia, desconsiderando restrições de uso, indicações, toxicidade e interações medicamentosas contraindicadas. Muitas vezes são prescritos sem objetivo terapêutico definido e geram custos desnecessários. Além de serem agentes com potenciais efeitos adversos (FERREIRA & LOPES, 2016).

Os inibidores não seletivos da COX induzem vários tipos de efeitos adversos, sendo o principal os efeitos gastrointestinais. Dispepsia, náuseas, vômitos e lesão gástrica, com risco de hemorragia ocorrem devido a supressão das prostaglandinas gastroprotetoras na mucosa. Além de danos renais, distúrbios hepáticos, reações cutâneas e riscos gestacionais e fetais (RANG et al., 2007; PINHEIRO & WANNMACHER, 2010). A toxicidade induzida por AINE é geralmente atribuída ao bloqueio da atividade da COX-1, enquanto que a ação anti-inflamatória resulta do bloqueio da COX-2, por se apresentarem de forma constitutiva e indutiva, respectivamente (SILVA, MENDONÇA & PARTATA, 2014). Estes surgiram com a finalidade de reduzir os efeitos gastrintestinais dos inibidores tradicionais. Todavia, essa seletividade acarreta um desequilíbrio entre os fatores anti- e pró-trombóticos, com predomínio de tromboxano (TXA2) em detrimento de prostaciclina (PGI2), o que desencadeia uma série de complicações cardiovasculares (MENDES et al., 2012).

Os primeiros fármacos inibidores seletivos da COX-2 surgiram na clínica na década de 90, dentre eles temos o celecoxib e o rofecoxib (Figura 4). O grupamento sulfonil é a porção da molécula responsável pelo reconhecimento seletivo dos resíduos de aminoácidos da COX-2 (AL-TURKI, 2015). Esses novos medicamentos foram uma saída para os efeitos adversos causados pelos inibidores não seletivos da COX, comprovadamente evidenciado por estudos clínicos, tanto sua eficácia como a redução dos efeitos gastrointestinais (CANNON & BREEDVELD, 2001; CHEN, RAO & KNAUS, 2006).

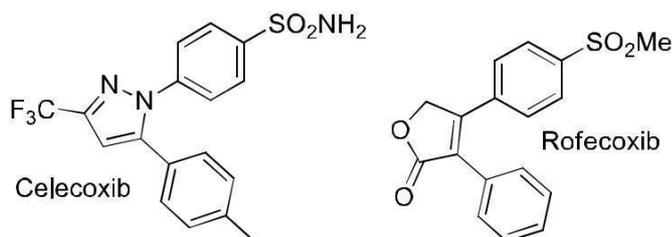


Figura 4. Primeiros fármacos seletivos da COX-2 Fonte: CHEN, RAO & KNAUS, 2006.

No entanto a busca pelo fármaco anti-inflamatório ideal não acabou nesse momento. Mais recentemente, nos anos 2000, estudos demonstraram os efeitos adversos e riscos do uso

de inibidores seletivos da COX-2, no que diz respeito a sua ação no sistema cardiovascular e renal (BOERS, 2001; PARENTE, 2001; ARAÚJO et al., 2005).

No sistema cardiovascular, observam-se altas concentrações de COX-1 em plaquetas e células endoteliais vasculares, essa, responsável pelo efeito pró-trombótico, promovido pelo aumento na agregação e adesão plaquetária, estando ainda associada à vasoconstrição e ao remodelamento vascular. A COX-2 resulta na formação de PGI₂, promovendo efeito antitrombótico, vasodilatação e redução da agregação e adesão de plaquetas, identificada em amostras obtidas de placas ateromatosas coronarianas e carotídeas, reforçando a participação dessa enzima no processo inflamatório aterosclerótico. Assim, esses sistemas enzimáticos mantêm um equilíbrio entre os processos hemorrágicos e a trombose. Os inibidores da COX-2, reduzem a produção de PG vascular, dessa forma afetam o equilíbrio entre TXA₂ e PGI₂, o que leva ao aumento de eventos trombóticos e cardiovasculares. Essas alterações da fisiologia da cascata do AA, teoricamente, explicam o aumento na ocorrência de eventos cardiovasculares associados ao uso de inibidores seletivos da COX (ABRAHAM, et al., 2007; RODRIGUEZ, TACCONELLI & PATRIGNANI, 2008).

Vários questionamentos sobre o papel dos inibidores seletivos da COX-2 na terapia anti-inflamatória e analgésica foram levantados, já que a eficácia é similar a dos AINEs não seletivos, a custo consideravelmente mais alto e menor segurança cardiovascular (CHAHADE, GIORGI & SZAJUBOK, 2008).

A liberação de PGs, principalmente a PGI₂ e a PGE₂, estão aumentadas em doenças glomerulares subjacentes, insuficiência renal, hipercalcemia e por substâncias vasoconstrictoras (angiotensina II e norepinefrina). A secreção desses últimos é aumentada em estados depleção de volume (como insuficiência cardíaca congestiva, cirrose e perda de água e sal pelo trato gastrointestinal ou renal). Nesses contextos, as PGs vasodilatadoras agem preservando o fluxo renal sanguíneo e a filtração glomerular por diminuição da resistência pré-glomerular. Isso é particularmente importante quando ocorre hipovolemia, situação em que as PGs antagonizam o efeito vasoconstrictor da angiotensina II e da norepinefrina. Na doença glomerular, entretanto, o aumento na produção de PGs parece manter a taxa de filtração glomerular na presença de importante redução na permeabilidade do capilar glomerular (CHAHADE, GIORGI & SZAJUBOK, 2008).

É devido, em grande parte, à atenuação desses mecanismos contra-regulatórios mediados pelas prostaglandinas que os AINEs comprometem a função renal, especialmente em pacientes de alto risco, que já apresentam redução da perfusão renal. Com isso, a inibição da síntese de PGs por AINEs, pode levar a uma isquemia renal reversível, um declínio da pressão

hidrostática glomerular e insuficiência renal aguda (IRA) (BRADEN et al, 2004; ATLOUNI, 2010).

Diante desses estudos, no Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA em 2008 divulgou nota técnica cancelando o registro de alguns inibidores seletivos de COX-2 no país, como informações à cerca de outros que ainda estariam em circulação no mercado, desde que alterações nas bulas fossem tomadas (ANVISA, 2008). Atualmente, no Brasil, apenas o celecoxibe e o etoricoxibe são comercializados, ambos com retenção de receita médica e com clara indicação dos riscos de complicações cardiovasculares (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Com isso, a busca por novos fármacos anti-inflamatórios com os novos conhecimentos e tecnologias das últimas décadas resultou em um processo mais proativo e dedutivo no desenvolvimento de fármacos. Neste contexto, o desenho de candidatos a fármacos passou a ser orientado pela compreensão do sítio de reconhecimento molecular da enzima central ou alvo envolvido na fisiopatologia. Caso a estrutura do alvo não seja conhecida, o planejamento teria como base um ligante eficiente (BARREIRO & FRAGA, 2015).

3.3 A QUÍMICA MEDICINAL E A INTRODUÇÃO DE NOVOS FARMÁCOS

De acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada – IUPAC, a Química Medicinal envolve a invenção, a descoberta, o desenho, a identificação e a preparação de fármacos; Segundo Wermuth (2009) é uma disciplina baseada na química, além de envolver aspectos das ciências biológicas, médicas e farmacêuticas (Figura 5) e tem como principal objetivo estudar e interpretar o modelo de ação ao nível molecular, seu metabolismo e a determinação da relação entre estrutura química e atividade biológica.

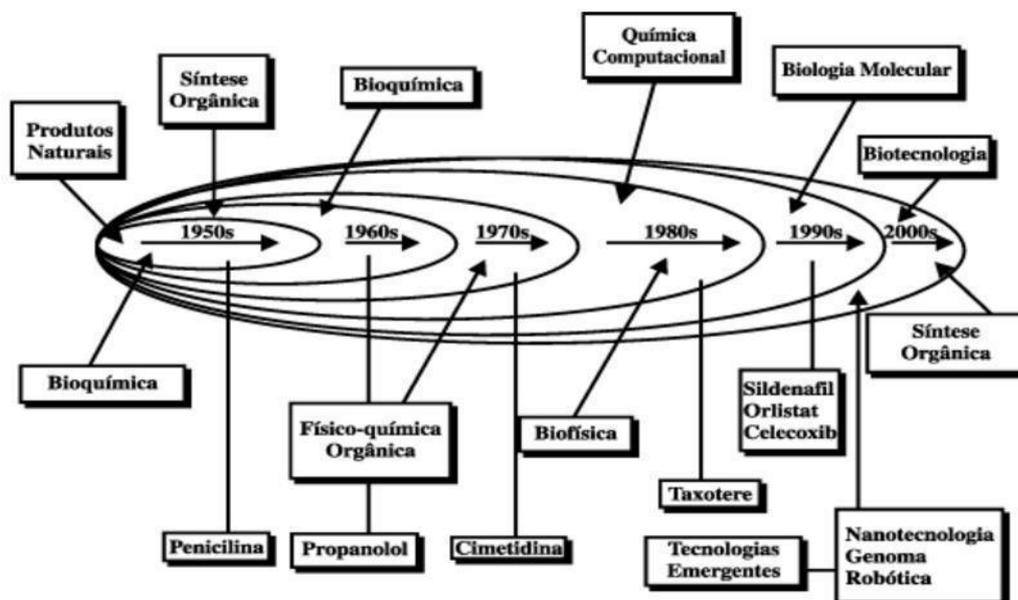


Figura 5. A interdisciplinaridade do processo de descoberta racional de fármacos. Fonte: BARREIRO, 2002.

Segundo Barreiro (2009), os novos fármacos, capazes de atuar em qualquer alvo terapêutico são descobertos por planejamento racional a partir da identificação e otimização do composto protótipo. Na figura 6 está descrito os principais passos para obtenção de um novo fármaco.

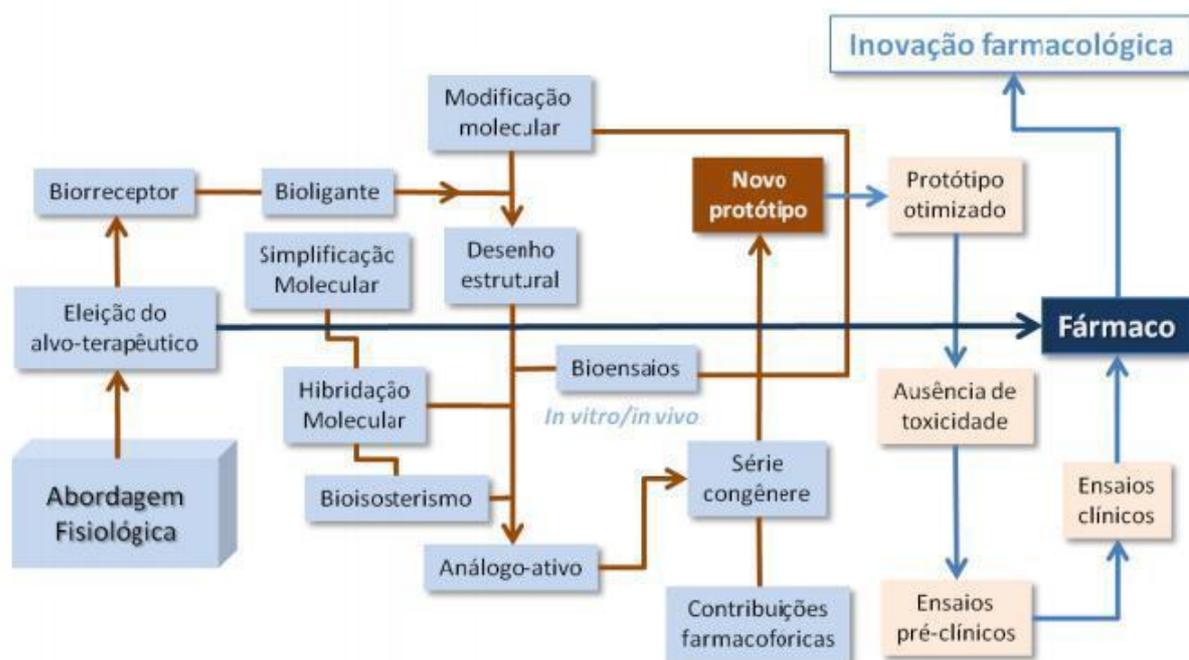


Figura 6. Etapas hierárquicas do processo de descoberta de um novo fármaco. Fonte: BARREIRO, 2009.

Assim, o planejamento de fármacos é considerado como uma etapa crucial na descoberta de novos fármacos, uma vez que é nessa fase onde será desenhada uma nova entidade química,

baseada em estudos preliminares, as quais poderão originar um fármaco com menor toxicidade, menores efeitos colaterais e maior potência (LIMA, 2007).

O conhecimento das estruturas de alvos macromoleculares ou de complexos do tipo ligante-receptor permite a aplicação de estratégias de planejamento de Fármacos Baseado na Estrutura do Receptor (SBDD, do inglês structure-based drug design). Em contraste, quando a estrutura do alvo eleito não é conhecida, métodos de planejamento de Fármacos Baseado na Estrutura do Ligante (LBDD, do inglês ligand-based drug design) podem ser utilizados, explorando propriedades e características de séries de ligantes bioativos (GUIDO, ANDRICOPULO & OLIVA, 2010).

Na aplicação de estratégias de planejamento molecular para desenho de ligantes do alvo selecionado utiliza-se de técnicas de modificação molecular clássicas da Química Medicinal, tais como bioisosterismo, homologação, simplificação e hibridação molecular (LIMA, 2007).

Bioisostéros são compostos resultantes da substituição de átomos ou grupo de átomos por outros semelhantes quimicamente. Essa substituição bioisostérica produz um novo composto, estruturalmente similar ao original, mas que irá produzir efeitos biológicos diferentes, sendo possível prever esses efeitos a partir de propriedades físico-químicas adquiridas com a substituição (BARREIRO & FRAGA, 2005). O termo surgiu da aplicação do princípio do isosterismo, em moléculas bioativas, que defendia que átomos ou grupos de átomos com estrutura eletrônica e propriedades físico-química semelhantes apresentavam o mesmo comportamento no sistema biológico (KOROLKOVAS & BURCKHALTER, 1988), se destacando como ferramenta da química medicinal por permitir a identificação de novos derivados terapêuticamente úteis (BORTOLOZZO, 2013).

Além disso, com as mudanças das propriedades físico-químicas do composto-protótipo a técnica tem por objetivo melhorar a afinidade, a eficácia e seletividade para um determinado alvo biológico; otimizar as qualidades farmacocinéticas e diminuir os efeitos adversos (PATANI & LAVOIE, 1996; LIMA & BARREIRO, 2005).

Na hibridação molecular temos como objetivo a concepção de novos compostos a partir da união de dois grupos farmacofóricos de dois derivados bioativos, no qual originará um novo híbrido com as propriedades dos compostos que o originaram (VIEGAS-JUNIOR et al., 2007).

Outra técnica bastante aplicada seria o Desenho de Análogos, uma vez que envolve menos riscos de insucessos, pois parte de um fármaco com perfil farmacológico conhecido. O grande potencial dessa abordagem em Química Medicinal pode ser ilustrado pela frase de James Whyte Black, laureado com o prêmio Nobel em 1988: “a mais frutífera base para o descobrimento de novos protótipos a fármacos é partir de fármacos conhecidos”. Essa estratégia

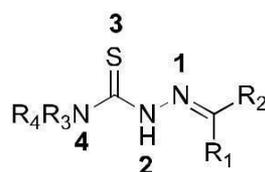
pode produzir avanços terapêuticos quando são obtidos melhores perfis de ação farmacológica e/ou de toxicidade (SILVA, 2013).

A introdução de novos compostos no mercado farmacêutico é necessária para aperfeiçoar o tratamento de doenças recém identificadas ou já conhecidas, nesse caso, atuando no desenvolvimento de fármacos mais seguros e eficazes. Desde o final do século XIX a busca por medicamentos resultou na inclusão de substâncias sintéticas na terapêutica e seu uso foi amplamente disseminado no século XX. Assim, diversas substâncias podem ser obtidas através da síntese de novos compostos ou por modificações estruturais em moléculas já conhecidas, baseando-se na relação entre a estrutura química e a ação biológica (MIOLO, 2013).

3.4 QUÍMICA DAS TIOSSEMICARBAZONAS

As tiossemicarbazonas constituem uma classe importante de moléculas que têm sido estudadas nos últimos 50 anos pela sua versatilidade farmacológica (CAPUTTO et al., 2011). Por possuírem várias aplicações farmacológicas como agentes antitumorais, antibacterianos, antivirais, antiprotozoários, citotóxicos, dentre outras e importantes propriedades químicas, esse grupo é alvo de muitas pesquisas, principalmente em Química Medicinal (BERALDO, 2004).

Podem ser definidas como compostos orgânicos nitrogenados pertencentes à família das iminas, também denominadas bases de Schiff, ocupam lugar especial entre os ligantes orgânicos, uma vez que apresentam vários átomos doadores de elétrons e diferentes modos de coordenação, dependendo dos reagentes de partida e das condições de reação para sua obtenção (SILVA, 2013). A estrutura química e a numeração dos seus átomos segundo a IUPAC (FAVRE & POWELL, 2013) é mostrada na figura 7.



R₁;R₂;R₃;R₄ = H, Alquil, Aril

Figura 7. Representação química do núcleo das tiossemicarbazonas e sua numeração de acordo com a IUPAC.
Fonte: Autor.

Do ponto de vista sintético, apresentam como característica principal sua versatilidade de obtenção, assim como sua vasta aplicação como intermediários de muitos núcleos

importantes. Geralmente, apresentam baixo custo de síntese, além de grande economia de átomos, já que, com exceção da água que é liberada na sua obtenção, todos os outros átomos dos compostos reagentes estarão presentes na molécula final (TENÓRIO et al., 2005).

As tiossemicarbazonas apresentam-se como sistemas com extrema deslocalização eletrônica, principalmente quando há grupos aromáticos ligados ao carbono da imina (PALENIK, RENDLE & CARTER, 1974). A figura 8 mostra a influência nos comprimentos de ligação devido à deslocalização dos elétrons π nas tiossemicarbazonas (TENÓRIO et al., 2005).

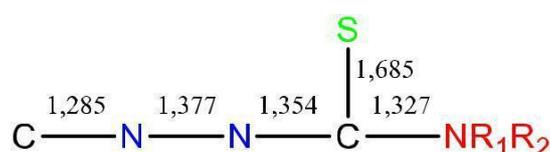
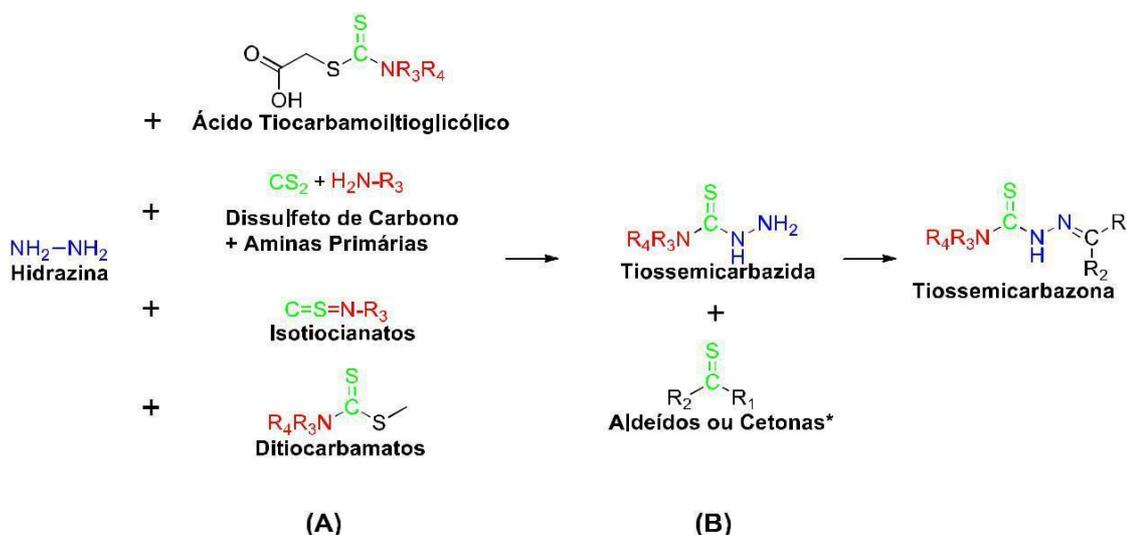


Figura 8. Representação dos comprimentos de ligação, em Angstrom, das ligações na molécula de tiossemicarbazona. Fonte: TENÓRIO et al, 2005.

A obtenção das tiossemicarbazonas (esquema 2) pode ser realizada de maneira direta, onde há a condensação da tiossemicarbazida, obtida comercialmente, com aldeídos ou cetonas; ou também de maneira indireta, onde inicialmente há a prévia preparação da tiossemicarbazida, fazendo-se reagir hidrazina ($\text{NH}_2\text{-NH}_2$) com reagentes como isotiocianatos, ácidos tiocarbamoiltioglicólicos, ditiocarbamatos, seguida de reação com o composto carbonilado de interesse (aldeído ou cetona) (TENÓRIO et al., 2005).



Esquema 2. Métodos de obtenção das tiossemicarbazonas pelas formas indiretas (A) e direta (B). Fonte: adaptado de BARBOSA, 2014.

Devido as tiossemicarbazonas serem compostos bastante versáteis quimicamente, possuindo diversas formas de síntese com bons rendimentos e boa estabilidade, além de fácil manuseio e armazenamento, proporciona a utilização desta classe como intermediários na síntese de vários núcleos importantes. Juntamente a sua fraca capacidade em modular um alvo, por existirem poucos pontos de ligações com os alvos biológicos, vários derivados são descritos na literatura, entre eles as 4-tiazolidinas, bioisósteros não-clássicos das tiossemicarbazonas (HERNANDES et al., 2010; OLIVEIRA FILHO et al., 2015).

3.5 QUÍMICA DAS 4-TIAZOLIDINONAS E IMPORTÂNCIA BIOLÓGICA

A 4-tiazolidinona (TZD) é um sistema de anel heterocíclico com múltiplas aplicações; são uma forma saturada de tiazol, contendo três átomos de carbono, nas posições 2,4 e 5, um átomo de nitrogênio (posição 3) e um átomo de enxofre (posição 1) (Figura 9), sendo de grande interesse nas diferentes áreas química medicinal (SINGH et al., 1981; THOMPSON & ELLMAN, 1996). O anel tiazolidínico geralmente é sólido, possuindo ponto de fusão com decomposição, no entanto a ligação de um grupo alquila ao nitrogênio baixa o ponto de fusão. Os substituintes arila ou alquila volumosos tornam o anel um pouco solúvel em água (BROWN, 1961).

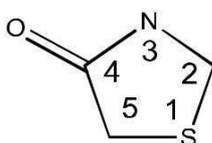
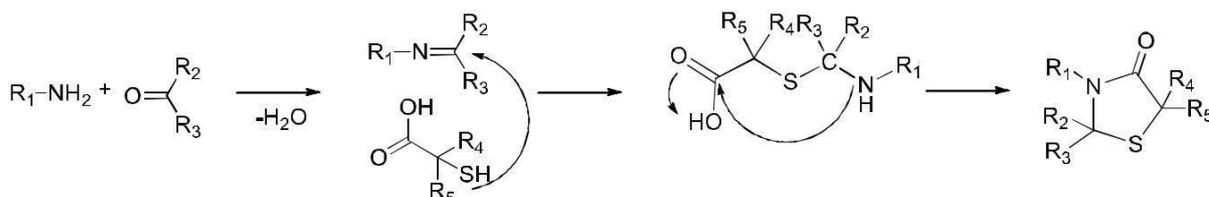


Figura 9. Representação química do núcleo 4-tiazolidina (TZD) e sua numeração de acordo com a IUPAC.
Fonte: Autor.

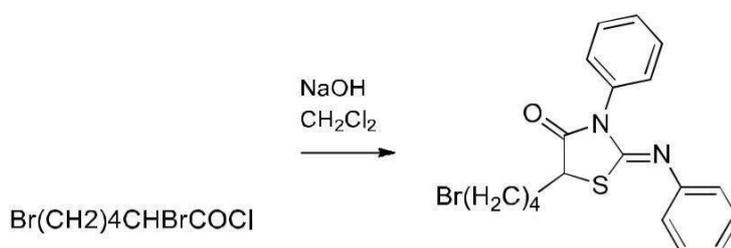
3.5.1 Métodos de obtenção

Vários métodos para a síntese de 4-tiazolidinonas são amplamente relatados na literatura. As principais rotas sintéticas envolvem três componentes: uma amina, um composto de carbonila, e um grupamento tiol ou mercapto (JAIN et al., 2012). A reação ocorre com formação inicial de uma imina, a mesma sofre um ataque nucleofílico do enxofre, seguido de uma ciclização intramolecular com eliminação de água (Esquema 3) (AGRAWAL et al., 2013).



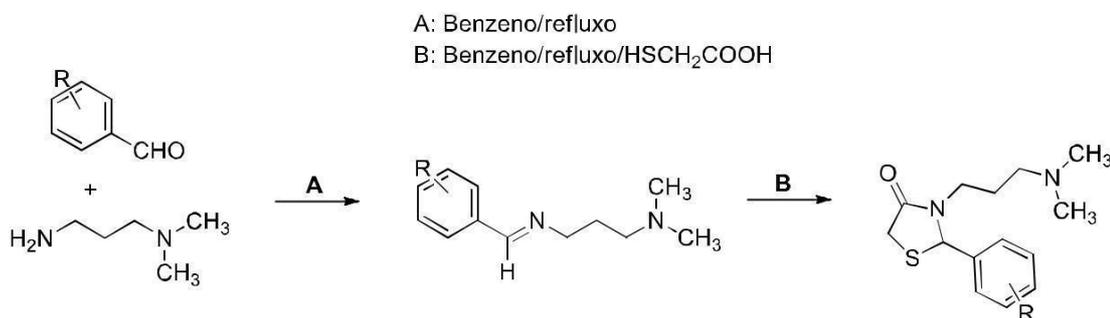
Esquema 3. Proposta de mecanismo reacional de formação da 4-tiazolidina. Fonte: Adaptado de AGRAWAL et al., 2013.

Em 1982 Okawara, Nakayama & Furukawa, (*apud* OKAWARA et al., 1986) relatam a síntese de 5-bromoalquil-2-iminotiazolidin-4-onas obtidas a partir de tioúreas N,N-dissubstituídas e cloretos de 1,4-dibromoacil (Esquema 4).



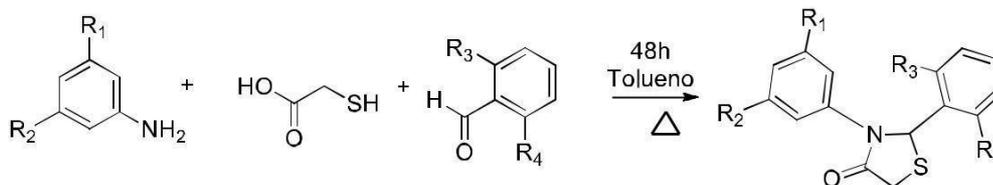
Esquema 4. Síntese do 5-bromoalquil-2-iminotiazolidin-4-ona. Fonte: Adaptado de OKAWARA et al., 1986.

Em 1999, Diurno e colaboradores relatam a síntese *two-pot* da TZD, através de uma mistura equimolar de benzaldeídos substituídos e 3-(N, N-dimetil amino)-1-propilamina em benzeno seco sob refluxo e destilação azeotrópica com recolhimento da água no Dean-Stark. Após, o ácido mercaptoacético foi adicionado, gota a gota. O tratamento foi feito com etanol anidro, éter dietílico e saturado com ácido clorídrico (HCl), obtendo-se então cloridratos de tiazolidin-4-ona. (Esquema 5).



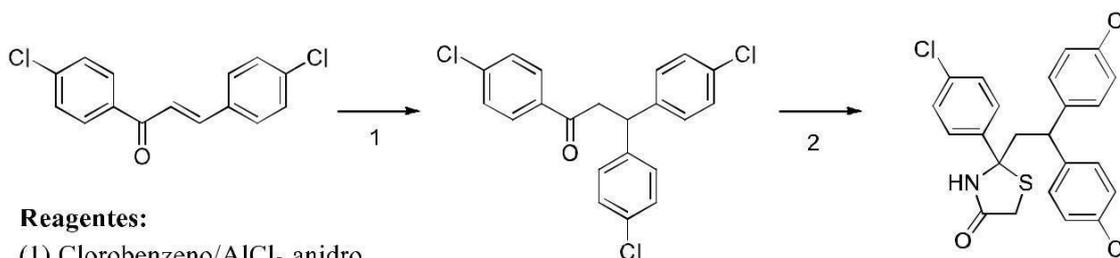
Esquema 5: Síntese *two-pot* de 4-tiazolidinas dissubstituídas. Fonte: Adaptado de DIURNO et al., 1999.

Tratamento semelhante foi relatada por Barreca et al., 2001 e Rao et al., 2003. Neste, foram utilizados como reagentes anilina, 2-ácido mercaptoacético e aldeídos aromáticos substituídos em tolueno seco, mantidos sobre agitação por 48h. Após houve neutralização da solução adicionando-se bicarbonato de sódio (Esquema 6).



Esquema 6. Síntese de 4-tiazolidinas através do modelo multicomponente *one-pot*. Fonte: Adaptado de BARRECA et al., 2001.

Em 2002 Singh et al., relatam mais uma rota de síntese onde o grupamento com a porção azo é do carbonato de amônio ((NH₄)₂CO₃), os demais reagentes são os comuns as rotas descritas anteriormente, 2-ácido mercaptoacético e grupo cetona (Esquema 7), o produto possui uma dupla substituição da posição 2 do anel.



Reagentes:

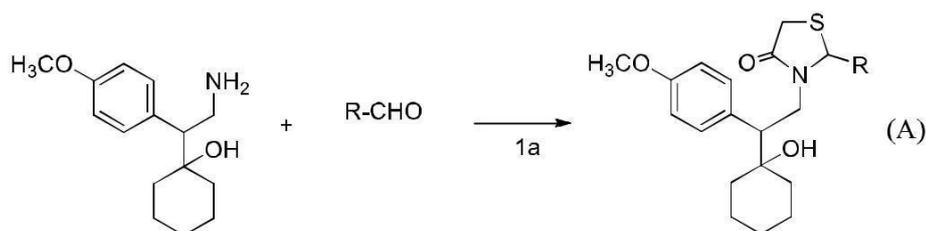
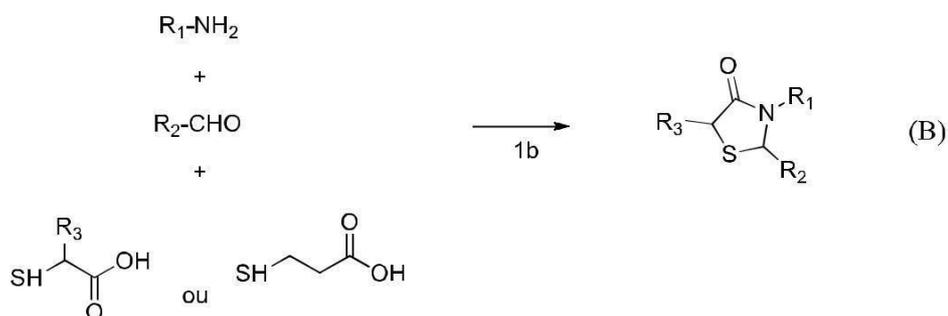
- (1) Clorobenzeno/ AlCl_3 anidro
- (2) $\text{HSCH}_2\text{COOH}/(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$

Esquema 7. Síntese de derivados 4-tiazolidinico 2-dissubstituído. Fonte: Adaptado de SINGH et al., 2002.

A ciclização das TZD pode ser obtida empregando-se o reagente N,N-diciclohexilcarbodiimida (DCC). Os outros, são os comuns a rota, aldeídos substituídos e 2-ácido mercaptoacético (Esquema 8).

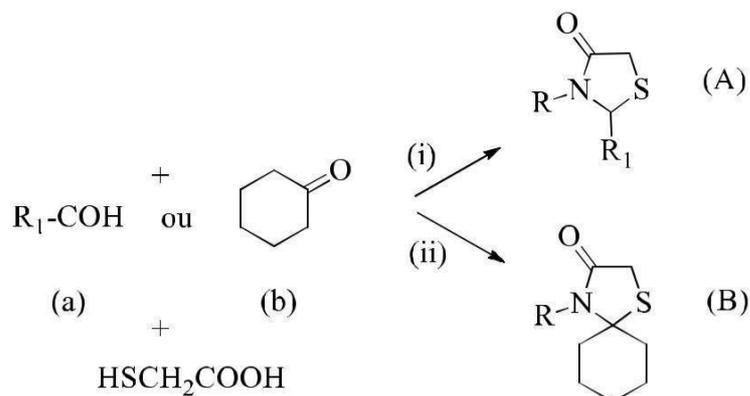
Descrevem rota semelhante a anteriormente descrita Srivastava, Haq e Katti, (2002), no entanto, utilizam de uma cetona como composto carbonilado e uma variedade de aldeídos, com substituintes doadores e retiradores de elétrons (Esquema 9). Os rendimentos variaram de 51 a 95%, assim foram considerados excelentes, visto os reagentes empregados nessa rota e com pouca descrição na literatura até então.

Síntese em uma só etapa (*one-pot*) foi descrita por Cunico et al, (2007). Utilizaram-se de reagentes os compostos valina (1), benzaldeídos substituídos (2) e 2-ácido mercaptoacético (3) na proporção de 1:1:3, por 16h refluxo, agitação e remoção de água de forma azeotrópica. O solvente utilizado foi tolueno seco, como descrito no esquema 10.

**Reagentes (1a):**HSCH₂COOH/ DCC/THF**Reagentes (1b):**

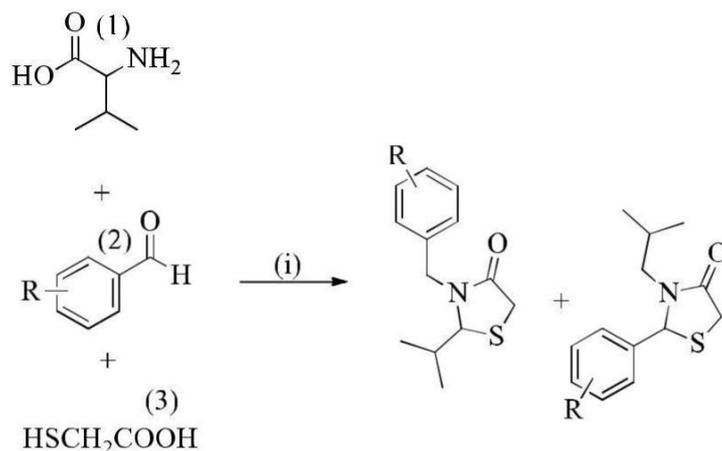
DCC/THF

Esquema 8. Síntese de novos derivados 4-tiazolidinas com o N,N-diciclo-hexilcarbodiimida (DCC). Fonte: Adaptado de KAVITHA et al., 2006 (A) e RAWAL et al., 2004 (B).

**Reagentes comum as duas rotas (i) e (ii):**

DCC/THF

Esquema 9. Síntese com o N,N-diciclo-hexilcarbodiimida (DCC), variando a fonte carbonilada com o reagente ciclohexanona (b) (produto B) e aldeídos substituídos (a) (produto A). Fonte: Adaptado de SRIVASTAVA, HAQ & KATTI, 2002.



(i): tolueno/110°C/16h

Esquema 10. Síntese de 4-tiazolidina utilizando como fonte de amina o aminoácido valina (1). Fonte: Adaptado de CUNICO et al., 2007.

Em 2008, Chen et al., relatam a síntese de TZD híbridos com carboidratos, tendo como produtos dois diastereoisômeros (1) e (2) numa proporção média de 1:1, sendo separados por coluna cromatográfica de sílica em gel (Figura 10).

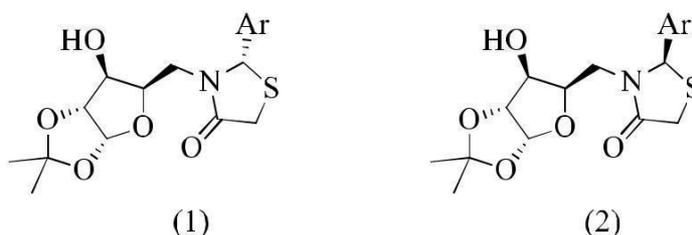
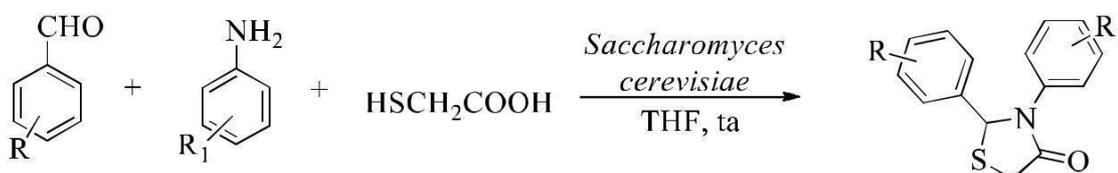


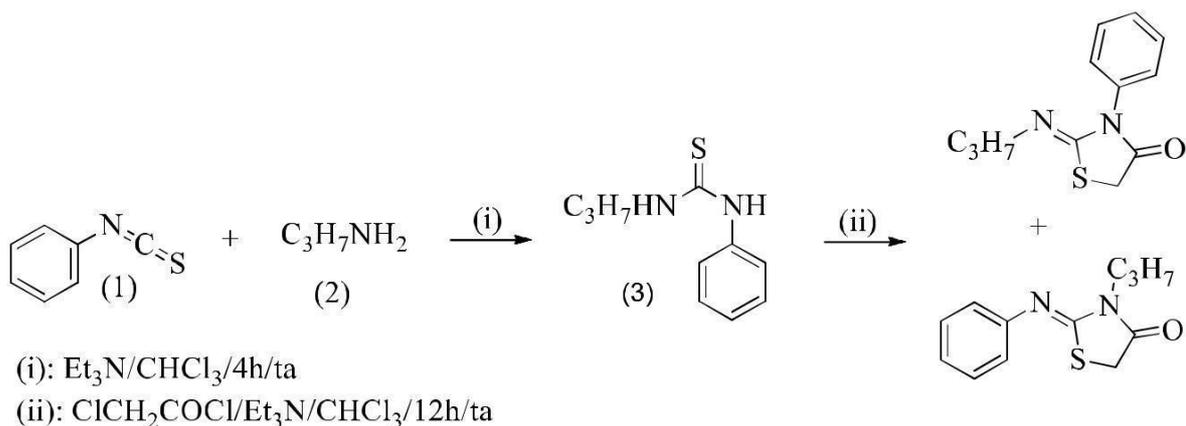
Figura 10. Produtos diastereoisômeros de síntese metodológica clássica de TZD (Aldeído/Ácido Mercaptoácético/DCC) híbridos com carboidratos em meio metanólico por 1 hora em temperatura ambiente Fonte: CHEN et al., 2008.

Mais recente, em 2011, Pratap et al., propuseram a síntese de novos 2,3-diaril-4-tiazolidina catalisada pelo fungo, *Saccharomyces cerevisiae*, porpulamente conhecido no Brasil como fermento biológico. A presença da enzima lipase é a responsável pela catalise, acelerando a formação de iminas. Concluíram que a ciclocondensação foi barata e facilmente disponível (rendimento entre 51-71%), tornando o protocolo rentável e amigável ecologicamente (Esquema 11).



Esquema 11. Síntese de novas TZDs empregado como agente catalítico o fungo *Saccharomyces cerevisiae* Adaptado de PRATAP et al., 2011.

Ottana et al., (2005), relatam a síntese de arilideno-2-imino-4-thiazolidinonas de forma indireta. Primeiramente, aril isotiocianato (1) reage com uma amina primária (2) fornecendo o correspondente derivado de tioúreia (3) e após, na presença de cloreto de cloroacetila e trietilamina à temperatura ambiente, fornecem os correspondentes isoméricos do 2-imino-tiazolidin-4-onas (Esquema 12).



Esquema 12. Síntese indireta de novas 4-tiazolidinas, através de intermediário derivado da tioúreia. Fonte: Adaptado de OTTANA et al., 2005.

Outro método de preparação TZDs, relatado em 1998 por Berseneva, é através da reação envolvendo compostos que apresentam a função tioamida, como as tiossemicarbazonas, com compostos carbonilados α,β -insaturados, com o diacetilenocarboxilato de dimetila (DMAD) ou anidrido maléico. Neste caso, a posição 5 do anel tiazolidínico é substituído por duas funções, respectivamente, éster ou ácido carboxílico, como demonstrado na figura 11 (TENÓRIO et al., 2005; AQUINO et al., 2008).



Figura 11. Representação de tiazolidin-4-ona com substituição na posição 5 pela função éster (1) e função ácido (2). Fonte: Autor.

3.5.2 Reatividade do anel tiazolidínico

Por possuir vários sítios reativos, o anel heterocíclico tiazolidínico é passível de sofrer vários tipos de reações, o que implica no grande número de novos derivados. As modificações podem ocorrer de várias maneiras, como descrito abaixo (JAIN et al., 2012):

1. Os substituintes nos 2, 3 e 5 posições podem variar, mas a maior diferença na estrutura e propriedades é exercida pelo grupo ligado ao átomo de carbono na posição 2 (R e R₁ (2)) ou na posição 3 (X (3)), da figura 12);
2. As variações nos substituintes ligados ao átomo de azoto e o átomo de carbono de metileno são possíveis para as estruturas representado por 2 e 3,
3. O grupo carbonila da 4-tiazolidinona é altamente não reativo. No entanto, em alguns casos, a tionação na posição 4 é possível com o reagente de Lawesson (GOUVEIA et al., 2009).

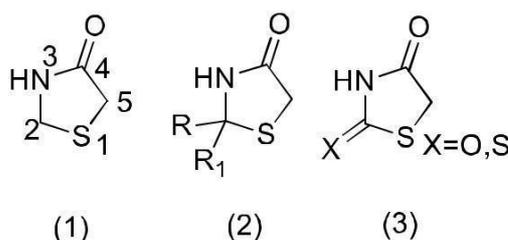
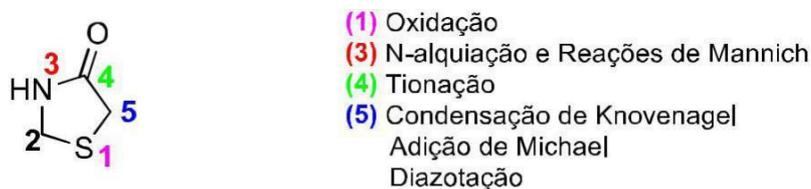


Figura 12. Estrutura do núcleo 4-tiazolidina com substituintes nas várias posições. Fonte: JAIN et al., 2012.

Segue esquema 13 com os principais processos quimiosseletivos passíveis de ocorrer com o núcleo 4-tiazolidina. (LIESEN et al., 2008).



Esquema 13. Principais reações do anel tiazolidínico; na posição 1 (enxofre) reações de oxidação; 3 (nitrogênio) reações de N-alkilação e reações de Mannich; 4 (carbonila) reações de tionação via reagente de Lawesson e 5 (carbono metilênico) reações de condensação com aldeídos, cetonas ou com sais de diazônio. Fonte: Autor.

As diferentes atividades biológicas das TZDs podem ser atribuídas ao grande número de análogos estruturais, possuindo então um grande interesse científico. Diversos trabalhos relatam um amplo espectro de atividades biológicas de acordo com os vários tipos de substituintes nas posições 2, 3 e 5 do anel, promovendo também modificações nos parâmetros

físico-químicos e estruturais (lipofílicos, eletrônicos, polares e estéricos) das moléculas (LIESEN et al., 2008; JAIN, VORA & RAMAA, 2013). Serão descritas, a seguir, as principais atividades biológicas apresentadas por esses compostos.

3.5.3 Principais atividades biológicas das 4-tiazolidinas.

Tiazolidinonas com substituições nas posições C-2 e N-3, possuem diversos graus de inibição contra bactérias e fungos. Cerca de todas as posições de 4-tiazolidinona foram exploradas para melhorar a atividade antibacteriana e antifúngica. Os estudos de Relação Estrutura Atividade (REA) de derivados tiazolidinônicos mostraram que eles são mais eficazes em bactérias gram-negativas em relação a bactérias gram-positiva (JAIN et al., 2012).

Vários estudos com ou sem substituintes na posição 5 foram explorados, como também associados a outros grupos farmacofóricos (DEEP et al., 2014; DESAI et al., 2012; PANSARE et al., 2014). A substituição na posição 5 do anel tiazolidínico aumenta a ação antimicrobiana, Omar et al., (2010), avaliou a atividade antibacteriana e antifúngica de derivados tiazolico 5-substituídos e a mesma molécula não substituída, concluindo que todos os compostos 5-arilídenos possuem forte atividade antibacteriana e forte atividade frente ao fungo *F. fulvum*, sendo a não substituída com menores valores de inibição.

Novos derivados 4-tiazolidinas com potencial atividade antibacteriana foram estudados por Reddy et al., 2010, concluindo que os compostos, 2-imino-5 - [(Z) -1 (arilo/heteril)-metilideno] -3- [5- (2-oxo-2H-3-cromenilo) -1,3 oxazol-2-il] -1,3-thiazolan-4-onas (Figura 13) sintetizados tinham em sua grande maioria atividade antibacteriana significativa. Os grupamentos que merecem destaque foram o metilfenil (a) e dimetiaminofenil(b).

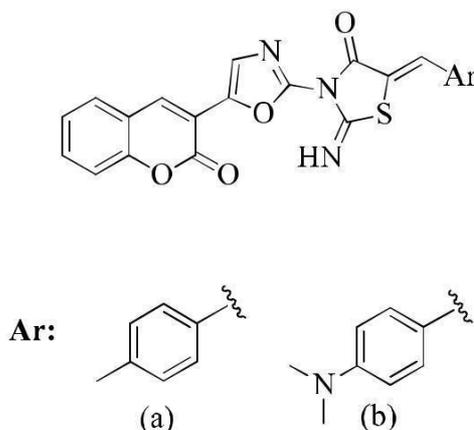


Figura 13. Núcleo básico dos derivados 2-imino-4-tiazolidinas com atividade antimicrobiana estudados por REDDY et al., (2010) e seus respectivos substituintes arilídenos mais significativos para a atividade.

Em 2008, estudo de QSAR de novos derivados 5-arilidenos 4-tiazolidínicos, sugerem que a atividade depende do substituinte na porção aril. Dentre os compostos estudados as moléculas pequenas são mais ativas e a variação da polaridade determina atividades diferentes, sugerindo que as apolares são as mais ativas (VICINI et al., 2008). Abaixo segue figura 14 com o protótipo da molécula estudada.

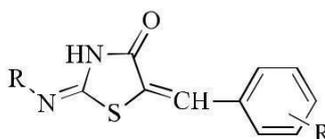


Figura 14. Núcleo básico de novos 5-arilidenos 4-tiazolidínicos. Fonte: VICINI et al, 2008

Derivados 2-hidrazona-4-tiazolidina foram sintetizados e avaliados biologicamente frente ao *Toxoplasma gondii*. D'ascenzio et al., 2014, investigaram 74 novos derivados dos quais 14 tiveram atividade similar ou melhor do que a droga utilizada como referência (trimeropima) e ainda menores valores de citotoxicidade (Figura 15 (1A)). Anos antes, em 2010, LIESEN et al., avaliaram derivados 4-tiazolidinas com substituição ácido acético na posição 5 para esta mesma patologia, em comparação com tiossemicarbazonas e 1,3,4-tiadiazoles, evidenciando que essa substituição não foi significativa para tal atividade (Figura 15 (1B)).

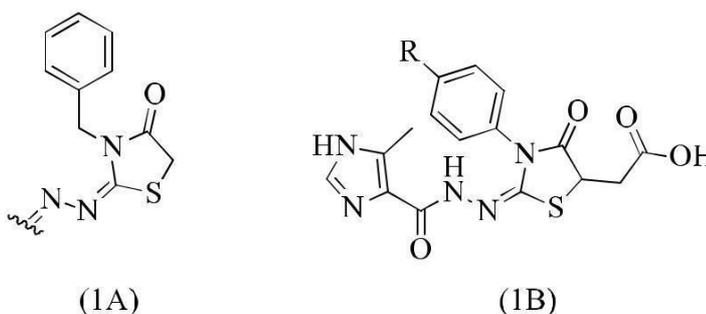
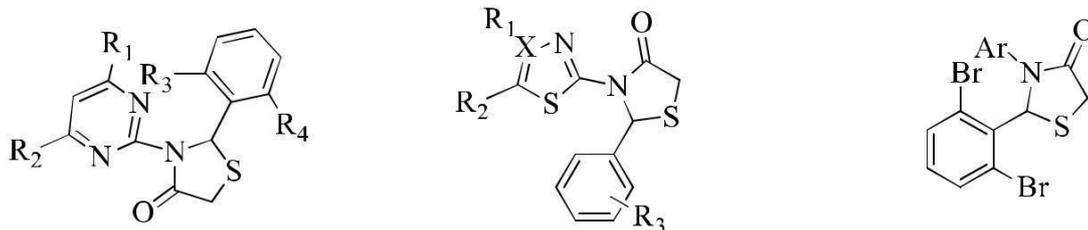


Figura 15. Derivados 4-tiazolidínicos estudados com potencial atividade anti-*Toxoplasma gondii*.

Nos anos 2000, alguns estudos avaliaram o potencial anti-retroviral das TZDs. Estudo de SAR realizado por Rao et al., 2004, conclui que a atividade anti-HIV é fortemente dependente da natureza dos substituintes em C-2 e N-3 do anel tiazolidinona. Assim nos anos seguintes avalisou-se o potencial dessa classe de compostos (Figura 16), variando os substituintes do grupamento fenil nas posições de interesse (RAO et al., 2004; RAWAL et al., 2007; RAWAL et al., 2008). Estudo publicado por Balzarini et al., 2007, sintetizou 2-

adamantil-tiazolidin-4-onas, no qual o grupamento adamantil não teve qualquer influência na atividade anti-HIV.



RAO *et al*, 2004

RAWAL *et al*, 2007

RAWAL *et al*, 2008

Figura 16. Núcleos básicos de 4-tiazolidinas estudadas nos anos 2000 com potencial atividade anti-HIV.

Nos últimos anos alguns estudos foram publicados avaliando-se a atividade anti-inflamatória de novos derivados 4-tiazolidinas substituídas. Por possuir um núcleo farmacofórico e substituintes que se ligam de diversas formas ao sistema biológico, essa atividade merece destaque atualmente, sendo a TZDs descritas como potentes anti-inflamatórios (TRIPATHI, 2014).

Em 2005, Ottana *et al.*, já evidenciava possível mecanismo de ação dos agentes anti-inflamatórios derivados das tiazolidinas, onde demonstrou através de técnicas computacionais que a série de novos 5-arilideno-2-imino-4-tiazolidinonas tinham maior afinidade pelos diferentes tipos de COX (COX-1 e COX-2), a depender de seus substituintes.

Novos derivados 5-arilideno-2-(1,3-tiazol-2-ilimino)-1,3-tiazolidin-4-ona (1) foram estudados frente a sua ação anti-inflamatória; os compostos mais lipofílicos (ClogP maiores), se mostraram mais potentes na inibição do edema de pata induzido por carragenina, modelo *in vivo* para avaliação de atividade anti-inflamatória (Tabela 3) (APOSTOLIDIS *et al.*, 2013).

Tabela 3. Resultados da avaliação anti-inflamatória de novos derivados 5-arilideno-2-(1,3-tiazol-2-ilimino)-1,3-tiazolidin-4-ona através da metodologia de inibição de edema de pata induzido por carragenina e respectivos logP.

Compostos	R	R ₁	%	ClogP
4a	H	3-OH	33,7	-
4b	H	3,5-di-OCH ₃ , 4-OH	39,0	0,393
4c	H	2-OCH ₃	50,0 ±2,2	1,530
4d	H	2,5-di-OCH ₃	26,0±1,1	2,490
4e	H	4-CH ₃	47,0	1,927
4f	H	3-F	56,57	1,571
4g	H	4-F	65,6	1,571
4h	H	3-Br	42,7	2,291
4i	H	4-Br	42,2±1,3	2,291
4j	H	N(CH ₃) ₂	67,3±4,5	2,260
4k	H	2,6-di-Cl	58,5	2,854
4l	H	2,4-di-Cl	9,9	2,854
4m	H	2,3-di-Cl	45,0	2,734

4n	4-CH ₃	2-Cl	43,0±3,4	2,820
4o	4-CH ₃	4-Cl	42,0±3,2	2,820
4p	5-CH ₃	4-NO ₂	55,4±3,1	-
4q	4-fenil	H	59,3±2,1	3,700
4r	4-fenil	2-Cl	-	-
4s	4-fenil	3-Cl	51,0±1,8	4,420
4t	4-fenil	4-Cl	27,3±1,0	4,420
4u	H	2-OH, 5-Br	54,4	-
Indometacina	-	-	47,0±1,1	-



(1)

Legenda:

% - percentual de inibição do edema de pata induzido por carragenina Fonte: Adaptado de APOSTOLIDIS et al., 2013

Em 2016, estudo realizado por Abdellatif et al., avaliou novos derivados TZDs frente a atividade anti-inflamatória, além de avaliar de acordo com a regra do cinco de Lipinsk os melhores compostos. Com isso, o mesmo encontrou valores de ClogP entre 2,55 e 4,05, evidenciando o caráter lipofílico dos compostos (Tabela 4).

Tabela 4. Percentual de inibição do edema de pata induzido por carragenina e logP de potenciais anti-inflamatórios 4-tiazolidinícos.

Compostos	%	ClogP	NÚCLEO BÁSICO	R
4a	42,3	2,76		NO ₂
4b	43,1	4,05		Isobutil
8c	48,3	3,07		Cl
8d	50,7	2,55		F

Fonte: Adaptado de ABDELLATIF et al., 2016.

Sendo o principal modelo usado para avaliar a atividade anti-inflamatória, o edema de pata induzido por carragenina. Vários estudos desde a década de 60 utilizam desse método (NEWBOULD, 1965; PATE1 et al., 1976; RAMAN, 1977 *apud* SINGH et al., 1981).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

4.1.1 Equipamentos

Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN¹H): Espectrômetro Varian Modelo Unit Plus 400-300 MHz como solvente o DMSO-d₆. As multiplicidades dos sinais são indicadas pelas seguintes abreviações: singlete (s), dubleto (d), duplo dubleto (dd), tripleto (dt), quadrupletto (q), multipletto (m). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm e os acoplamentos (J) em Hz;

Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN¹³C): Espectrômetro Varian Modelo Unit Plus 400-300 MHz como solvente o DMSO-d₆; Espectroscopia de absorção no infravermelho (IV): Espectrofotômetro FTIR Bruker Modelo IFS 66, em pastilhas de KBr, onde as ondas de absorção foram expressas em cm⁻¹;

Espectrometria de Massas (EM): Foram realizados no aparelho MALDI-TOF Autoflex III (Bruker Daltonics, Billerica, MA, USA).

Calculo dos Pesos Moleculares Teóricos através do software ChemBioDraw Ultra 12.0. Pontos de fusão: Os pontos de fusão foram medidos no equipamento FISATOM, Modelo 431D Série 1511035;

Cromatografia em Camada Delgada (CCD): placas de sílica gel 60 F254 da MERCK de 0,25 mm de espessura. A leitura das mesmas foi realizada através de radiação de ultravioleta (UV) no comprimento de onda (λ) de 254 ou 366 nm.

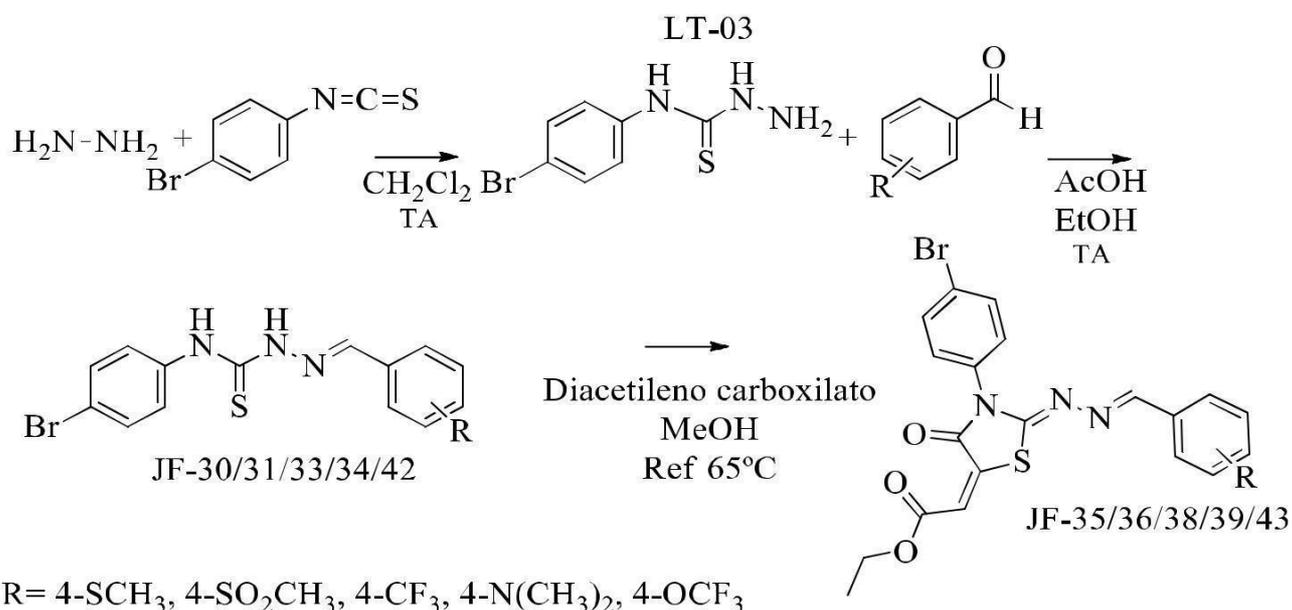
4.1.2 Reagentes e solventes

Os reagentes utilizados foram: etanol absoluto, ácido acético glacial, tolueno, metanol, dimetilformamida (DMF), acetato de etila, *n*-hexano, diclorometano anidrido maléico, água destilada, tiossemicarbazidas substituídas, 4-bromo fenil isotiocianato, benzaldéidos substituídos, dietilacetileno carboxilato, sulfato de sódio anidro, hidrazina, dimetilsulfóxido

deuterado. Os reagentes e solventes utilizados na síntese dos compostos e suas análises pertencem às marcas Sigma, Aldrich, Acros, Merck, Vetec ou Quimis.

4.1.3 Esquema geral de síntese

O esquema abaixo apresenta a rota de síntese empregada na obtenção dos compostos intermediários, as tiosemicarbazonas, e o produto final, os ésteres 4-tiazolidínicos planejados 5-substituídos (Esquema 14).



Esquema 14. Rota sintética empregada na obtenção dos novos derivados tiosemicarbazônicos e 4-tiazolidínicos 5-substituídos. Fonte: Autor.

Seguindo metodologia sintética já consolidada pelo grupo, através de síntese de adição clássica entre bromo-isotiocianato e hidrazina obteve-se a tiosemicarbazida comum para todas as novas tiosemicarbazonas sintetizadas. A partir das mesmas, seguiu-se com metodologia de ciclização, afim da obtenção de derivados 4-tiazolidínicos substituídos com a função éster na posição 5, obtendo-se cinco novos derivados, candidatos a fármacos anti-inflamatórios.

4.1.4 Metodologias sintéticas

4.1.4.1 Síntese do intermediário hidrazina carbotiamida substituído (LqIT/LT-03)

Pesou-se 1,5g do 4-bromo fenil isotiocianato adicionando-o ao balão de 250mL e 30mL do solvente diclorometano para sua solubilização completa. Após, adicionou-se 0,4367mL

(2eq.) da hidrazina com uma seringa. Logo vê-se a formação de um precipitado. A reação foi mantida à temperatura ambiente e agitação por 1h. Seguiu-se com a filtração e lavagens sucessivas com *n*-hexano para purificação (SETH et al., 1996).

4.1.4.2 Síntese dos novos derivados tiosemicarbazônicos N-(4-bromofenil)-hidrazina-carbotiamida substituídos (LqIT/JF)

Em um balão de 100mL adicionou-se 1 eq. do benzaldéido para 250mg do N-(4-bromofenil)-hidrazina-carbotiamida (LqIT/LT-03), 15mL de etanol e 20-25 gotas de ácido acético glacial como catalisador da reação, mantendo-a em agitação por 1h e temperatura ambiente. Após o término da reação confirmada por CDD, seguiu-se a filtração, no caso de formação de precipitado, e purificação com lavagens sucessivas com água destilada ou recristalização à quente com etanol, obtendo-se o produto puro. Não havendo formação de precipitado, colocou-se o balão em freezer com temperatura à -4°C e após formação do precipitado, seguiu-se a metodologia normalmente (CUNHA & SILVA, 2009).

4.1.4.3 Síntese dos derivados (E)-etil-2-((Z)-2-(E)-benzilidenohidrazona)-3-(4-bromofenil)-4-oxotiazolidin-5-ilideno) acetato substituídos (LqIT/JF)

Em um balão de 100mL adicionou-se 100mg da tiosemicarbazona substituída juntamente com 15mL de metanol até solubilização da mesma, após adicionou-se 1eq. do diacetileno carboxilato, mantendo a reação sob refluxo à temperatura de 65°C por 1h. Decorrido o tempo, houve formação de precipitado, fez-se placa de CCD confirmando o término da reação. Seguiu-se então a filtração, lavagens sucessivas com água destilada. Não havendo formação de precipitado, colocou-se o balão em freezer com temperatura à -4°C e após formação do precipitado, seguiu-se a metodologia normalmente (DAREHKORDIA, SAIDIB & ISLAMIB, 2007).

4.1.5 Caracterização Físico-química e Estrutural

A caracterização físico-química foi realizada através da determinação dos seguintes parâmetros: Ponto de Fusão (PF) e Razão de Frente (Rf). Já para a análise estrutural utilizou-se de técnicas de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN¹H), Ressonância

Magnética Nuclear de carbono treze (RMN¹³C), espectroscopia de absorção vibracional na região do infravermelho (IV) e Espectrometria de Massas (EM);

4.2 ESTUDO BIOLÓGICO *in vivo*

Os testes foram realizados no Laboratório de Bioensaios para Pesquisa de Fármacos – LBPF, coordenado pela professora Dr^a Terezinha, localizado no Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos de acordo com as normas internacionais do Conselho de Laboratório de Animais Experimentais (ICLAS). Todos os experimentos foram realizados de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal (COBEA) e com as normas estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE), sob protocolo 23076.019618/2016-31.

4.2.1 Animais

Utilizou-se camundongos machos adultos albinos swiss (*Mus musculus*), pesando entre 30 e 35g provenientes do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram acondicionados em gaiolas de polietileno com grades de aço inoxidável e maravalha como cobertura, tendo acesso livre à água e ração balanceada, mantidos num ambiente com temperatura de 22°C ± 2°C e luminosidade controlada, proporcionando um ciclo claro-escuro de 12 horas. Todos foram submetidos a jejum, com a retirada da ração cerca de 4 horas antes do início do experimento.

4.2.2 Toxicidade aguda em dose única

Avaliou-se, quanto a toxicidade aguda, dos novos derivados de acordo com metodologia recomendada pela Organization for Economic Cooperation and Development (OECD, 2001). Foi administrado por gavagem a dose de 2000mg/kg do derivado, baseado em experimentos anteriores. Utilizando-se de 2 grupos contendo 3 animais (fêmeas), totalizando 6 animais, sendo o mesmo realizado em dose única. Os compostos da série tiazolidinica foram solubilizados em uma mistura de solução salina e DMSO a 1% e o outro grupo recebeu apenas o veículo (salina

0,9%). Após a administração os animais foram observados continuamente nas primeiras duas horas e depois a cada 24hs durante 14 dias para verificação de qualquer alteração comportamental, nas atividades fisiológicas ou mortalidade. Os parâmetros comportamentais observados foram: agitação, atividade motora, locomoção, resposta ao toque, piloereção, ptose, cianose, movimentos estereotipados, sonolência, frêmito vocal, ataxia, contorções, agressividade, convulsões, micção, defecação, diarreia. Também foi observado o consumo de água e ração. No 15º dia os animais foram anestesiados com tiopental (5 mg/kg) para coleta de sangue por punção cardíaca para avaliação hematológica através de testes bioquímicos, e em seguida eutanasiados para coleta dos órgãos (fígado, rins, baço e estômago) para avaliação para observação macroscópica de lesões, como hiperemia, úlceras e necroses.

4.2.3 Teste de Edema de pata induzido por carragenina

Foram utilizados camundongos albinos swiss machos (n=5) os quais foram tratados por via oral com a série de cinco derivados ésteres na dose de 30 mg/kg, indometacina (10 mg/kg) ou veículo (salina 0,9%); administrados 1h depois da injeção da carragenina. O edema foi induzido pela injeção de 0,05 mL de carragenina a 1% (v/v) na região subplantar da pata posterior direita (WINTER, RISLEY & NUSS, 1962). O volume da pata foi medido antes e nos intervalos de 1, 2, 3, 4, 5 e 6 horas após a injeção de carragenina pelo pletismômetro (Ugo Basile). Os resultados foram expressos como a diferença entre o volume final da pata a cada tempo (V_f) e o volume inicial (V_i).

4.2.4 Análises estatísticas

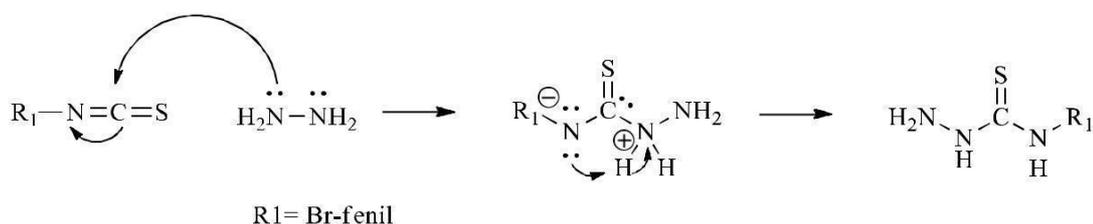
Os resultados experimentais foram expressos como a média \pm erro padrão (E.P.) sendo pela análise de variância (ANOVA) one-way e two-way, seguida do teste de comparação de média, Turkey e Bonferroni. Valores de p menores do que 0,05 ($p < 0,05$) foram considerados como indicativos de significância e representados por: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$. Os cálculos foram realizados utilizando o Software estatístico GraphPad Prism versão 5.0, San Diego Califórnia, EUA.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 MECANISMOS REACIONAIS E ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL

5.1.1 Mecanismo de síntese do intermediário tiossemicarbazida

A síntese do novo derivado N-(4-bromofenil)-hidrazina-carbotiamida (LT-03) se deu por mecanismos reacional clássico de adição, como encontrasse descrito a seguir (Esquema 15):

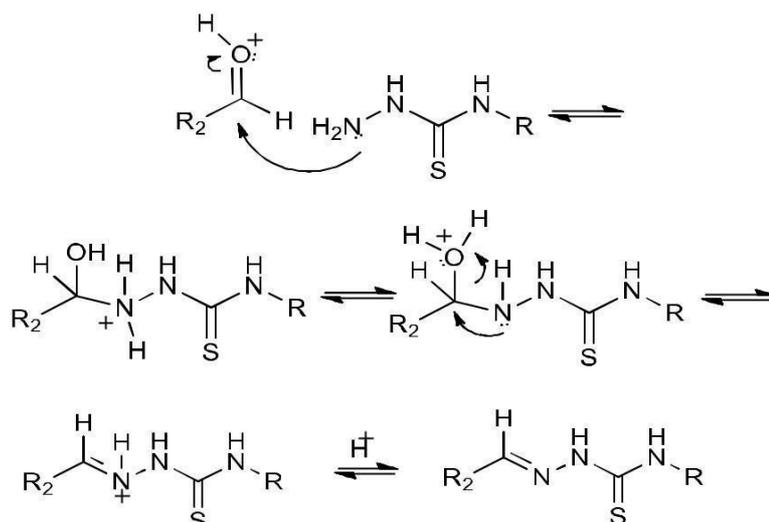


Esquema 15. Mecanismo reacional de síntese do intermediário hidrazina carbotiamida substituído (LT-03). R₁= Br-fenil. Fonte: Autor

A hidrazina se comporta como um nucleófilo, por isso o par de elétrons do nitrogênio ataca o carbono parcialmente positivo do isotiocianato, formando uma estrutura intermediária que se rearranja intramolecularmente, resultando na tiossemicarbazida proposta. Os rendimentos variam entre 70 e 90% (TENÓRIO et al., 2005). Como as tiossemicarbazidas tem um potencial tóxico, devido a presença do grupamento NH₂, elas são empregadas na química medicinal como produtos intermediários para a síntese das tiossemicarbazonas (AQUINO, 2007).

5.1.2 Mecanismo de síntese dos novos derivados tiossemicarbazônicos e elucidação estrutural

O mecanismo de síntese das tiossemicarbazonas se dá por condensação entre o núcleo tiossemicarbazida e aldeídos substituídos, método indireto de obtenção (CUNHA & SILVA, 2009). O esquema 16 descreve esse mecanismo.



Esquema 16. Mecanismo reacional de síntese de derivados tiossemicarbazônicos. Fonte: Autor.

A reação ocorre em meio ácido, o que favorece a protonação do aldeído, desencadeando o ataque nucleofílico do grupamento NH_2 - da tiossemicarbazida ao íon oxônio. Após, ocorre uma desidratação, formando a ligação azometina ($\text{C}=\text{NH}$), característica das tiossemicarbazonas. A metodologia de síntese aplicada foi de fácil realização, obtendo-se rendimentos entre 61-92% (CUNHA & SILVA, 2009; OLIVEIRA et al., 2015). Todos os rendimentos estão descritos na tabela 5, assim como as características físico-químicas de cada um dos cinco derivados obtidos.

Tabela 5. Propriedades físico-químicas e rendimentos para tiossemicarbazonas da série N-(4-bromofenil)-hidrazina-carbotiamida.

Compostos	Rend. (%)	PF °C	Rf / eluente
LqIT/JF-30	92	196-197	<i>n</i> -hex.:AcEtO (7:3) / 0,44
LqIT/JF-31	90	220-222	<i>n</i> -hex.:AcEtO (4,5:5,5) / 0,52
LqIT/JF-33	77	199-200	<i>n</i> -hex.:AcEtO (8:2) / 0,42
LqIT/JF-34	75	200-201	<i>n</i> -hex.:AcEtO (7:3) / 0,44
LqIT/JF-42	80	192-193	<i>n</i> -hex.:AcEtO (8:2) / 0,36

Fonte: Autor

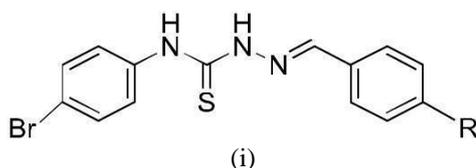
Para a caracterização estrutural das moléculas foram utilizadas técnicas espectroscópicas e espectrométricas, como Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C além de Infravermelho (IV) e Espectroscopia de Massas (MS).

Para a determinação de grupos característicos das tiossemicarbazonas, recorreu-se ao IV, onde foi possível identificar a presença da porção tiocarbonila (C=S) com estiramentos variando entre 1504 até 1510 cm^{-1} , como também a ligação azometina formada (C=N) variando entre 1539 até 1584. O grupamento NH pode ser observado com bandas de absorção acima de 3000 cm^{-1} . Os dados da espectroscopia do infra-vermelho (IV) estão resumidos na tabela 6 e em seguida temos a figura 17 com um exemplo de espectro de IV com os principais sinais de estiramentos característicos das tiossemicarbazonas.

Na técnica de RMN^1H podemos determinar os deslocamentos químicos dos hidrogênios presentes na molécula. De acordo com Karabatsos et al., (1964), as tiossemicarbazonas sintetizadas a partir de uma amina primária podem ser obtidas nas configurações Z ou E (Figura 18), variando as suas frequências de ressonância no espectro de RMN^1H . Costa et al., (2003), verificaram que de modo geral as TSC derivadas de aldeídos ficaram preferencialmente na forma E (mais estável), enquanto as derivadas de cetonas assimétricas a proporção das formas isoméricas depende das estruturas dos substituintes ligados a carbonila.

Tabela 6. Principais frequências de absorção observadas nos espectros de IV para as tiossemicarbazonas da série N-(4-bromofenil)-hidrazina-carbotiamida (i).

Compostos	C=S	C=N	N-H	R
LqIT/JF-30	1510	1543	3134	SCH ₃
LqIT/JF-31	1506	1539	3332	SO ₂ CH ₃
LqIT/JF-33	1504	1543	3125	CF ₃
LqIT/JF-34	1504	1584	3142	NH(CH ₃) ₂
LqIT/JF-42	1505	1544	3130	OCF ₃



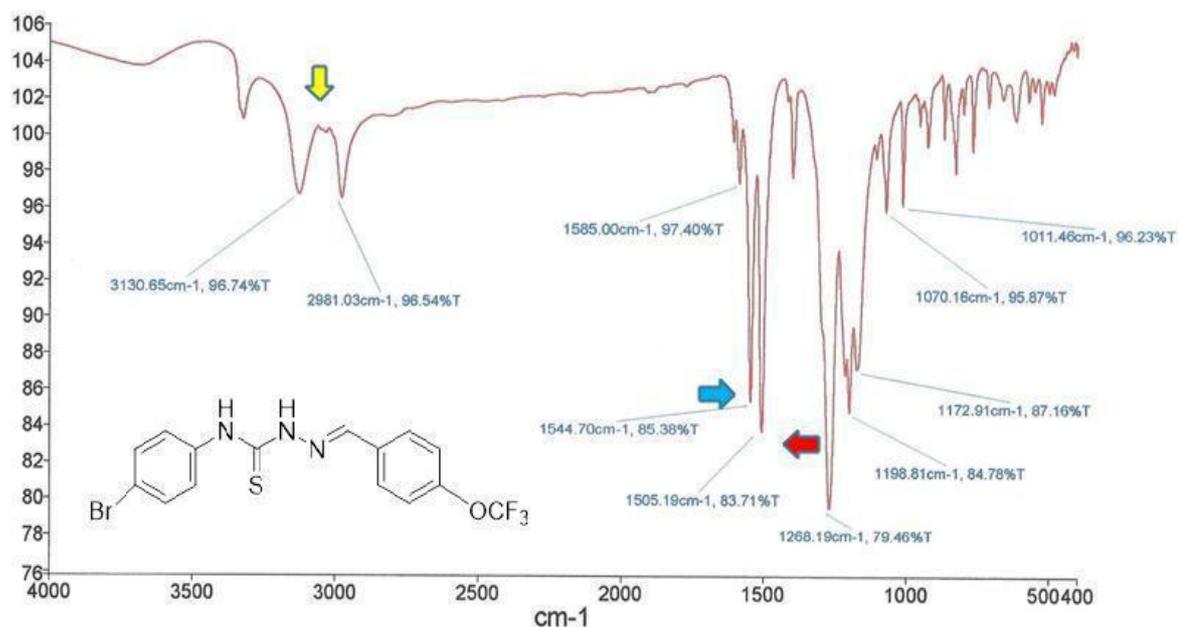


Figura 17. Regiões de vibrações do IV do composto LqIT/JF-42 indicando os principais estiramentos dos grupos presentes na tiossemicarbazona; referente aos NHs (seta amarela), função azometínica $-C=N$ (seta azul) e o grupamento $C=S$ (seta vermelha).

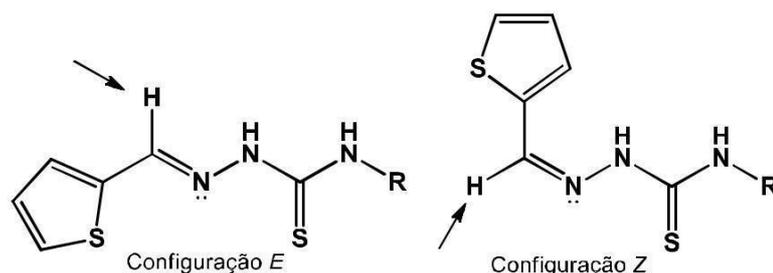


Figura 18. Representação das possíveis configurações de obtenção das tiossemicarbazonas ilustrando a posição do hidrogênio azometínico. Fonte: OLIVEIRA, 2015.

Como em nossos experimentos de síntese das tiossemicarbazonas só foi observada a presença de uma única mancha nas CCD, podemos sugerir que os compostos foram obtidos preferencialmente em uma configuração apenas, devido haver isomerização da forma Z para a forma E quando as mesmas estão em solução (OTA et al., 1998). Temperini, Santos & Monteiro, (1995) após aplicação de técnicas espectrométricas de RMN verificaram a predominância do isômero E de derivado tiossemicarbazônico em DMSO e meio aquoso.

Compostos possuindo o isômero Z exibem geralmente o sinal de NNH no intervalo de 14-15ppm, ao passo que aqueles possuindo uma configuração E exibem o sinal entre 9-12ppm (SERDA et al., 2013). Na tabela 7 temos os principais sinais das tiossemicarbazonas sintetizadas, sugerindo que as mesmas estão na configuração E, pois, o intervalo de sinais de NNH está entre 11-12ppm, corroborando com os dados acima.

Tabela 7. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ^1H para tiossemicarbazonas da série N-(4-bromofenil)-hidrazina-carbotiamida.

Compostos	NNH	NH-Ar	N=CH	H (Ar)	Outros (R)
LqIT/JF-30	11.872	10.112	8.114	7.273 – 7.841	2.506 (SCH ₃)
LqIT/JF-31	12.119	10.293	8.227	7.531 – 8.187	3.332 (SO ₂ CH ₃)
LqIT/JF-33	12.075	10.271	8.223	8.145 – 7.560	----- (CF ₃)
LqIT/JF-34	11.662	9.952	8.048	6.731 – 7.697	2.972 (CH ₃) ₂
LqIT/JF-42	11.995	10.201	8,180	8,069 – 7.401	----- (OCF ₃)

Fonte: Autor

A ligação azometina pode ser confirmada pela presença de um sinal singlete que varia de 8.048 até 8.227 ppm. Foi possível também observar os sinais dos dois tipos de ligação N-H da molécula. O NH hidrazínico variou entre 12.119 – 11.662 ppm, sendo o singlete mais desblindado da molécula. No caso do NH ligado a porção aromática, eles aparecem com um sinal singlete na faixa de 9.952 – 10.293 ppm. Em seguida temos a figura 19 exemplificando os principais pontos do RMN ^1H caracterizando as tiossemicarbazonas.

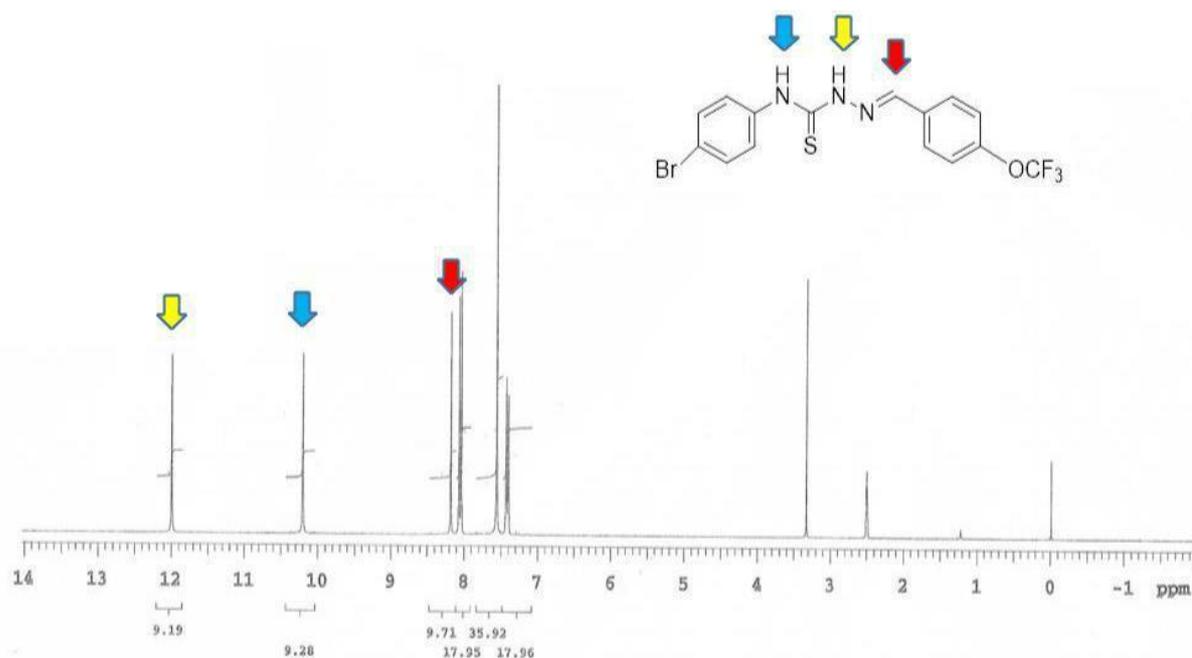


Figura 19. Espectro de RMN ^1H do composto LqIT/JF-42 indicando os sinais referentes ao NH do grupo hidrazínico (seta amarela), do NH ligado ao grupo aromático (seta azul) e do hidrogênio da função azometínica –C=N (seta vermelha).

Além dos sinais do RMN ^1H , com o RMN ^{13}C podemos confirmar a formação da tiocarbonila (C=S), presentes nas cinco novas tiossemicarbazonas sintetizadas, através de

Sinais que variam na faixa de 174.723 – 176.365. Os dois principais descolamentos que caracterizam a formação da tiossemicarbazona estão na figura 20, sendo eles a ligação azometínica formada (N=CH) e a função tiocarbonila (C=S). E logo abaixo segue a tabela 8, com as informações com os dois principais descolamentos das tiossemicarbazonas.

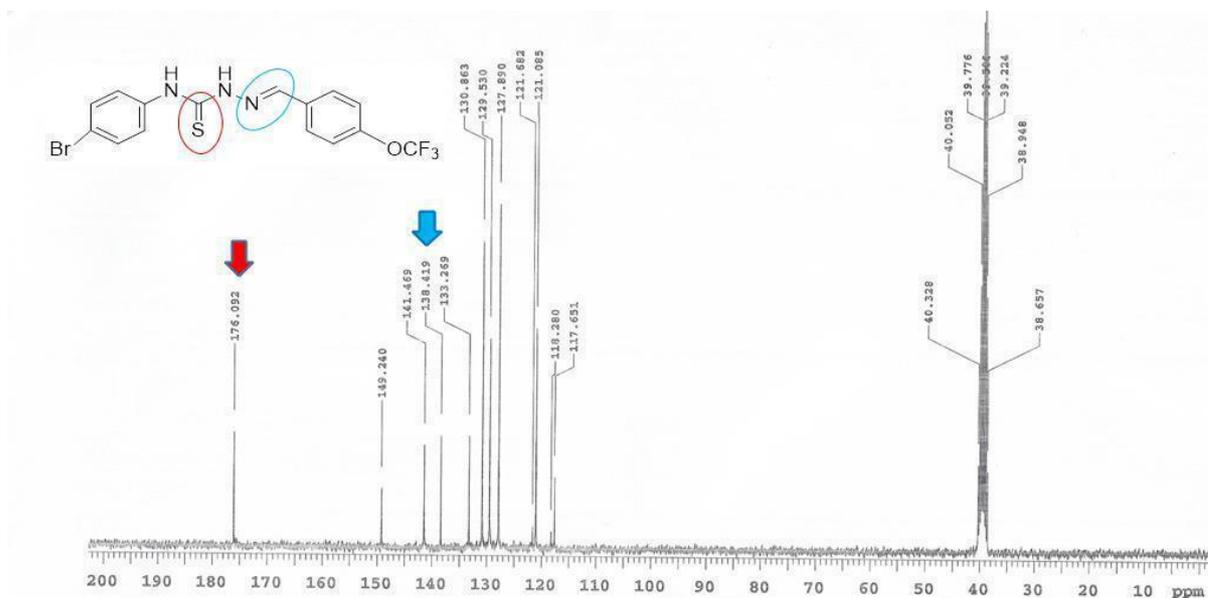


Figura 20. Espectro de RMN ^{13}C do composto LqIT/JF-42 indicando os sinais referentes ao carbono da ligação azometínica $-\text{C}=\text{N}$ (seta azul) e do carbono da função tiocarbonila $\text{C}=\text{S}$ (seta vermelha).

Tabela 8. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ^{13}C para as tiossemicarbazonas da série N-(4-bromofenil)-hidrazina-carbotiamida.

Compostos	N=CH	C=S
LqIT/JF-30	138.491	175.668
LqIT/JF-31	138.817	176.365
LqIT/JF-33	138.391	176.327
LqIT/JF-34	138.623	174.723
LqIT/JF-42	138.419	176.092

Fonte: Autor.

Afim de finalizar a elucidação estrutural, a espectrometria de massas foi utilizada como ferramenta auxiliar para a caracterização dos compostos desta série e para isso foi utilizada a técnica de TOF (time of flight), onde as amostras são ionizadas e um detector capta

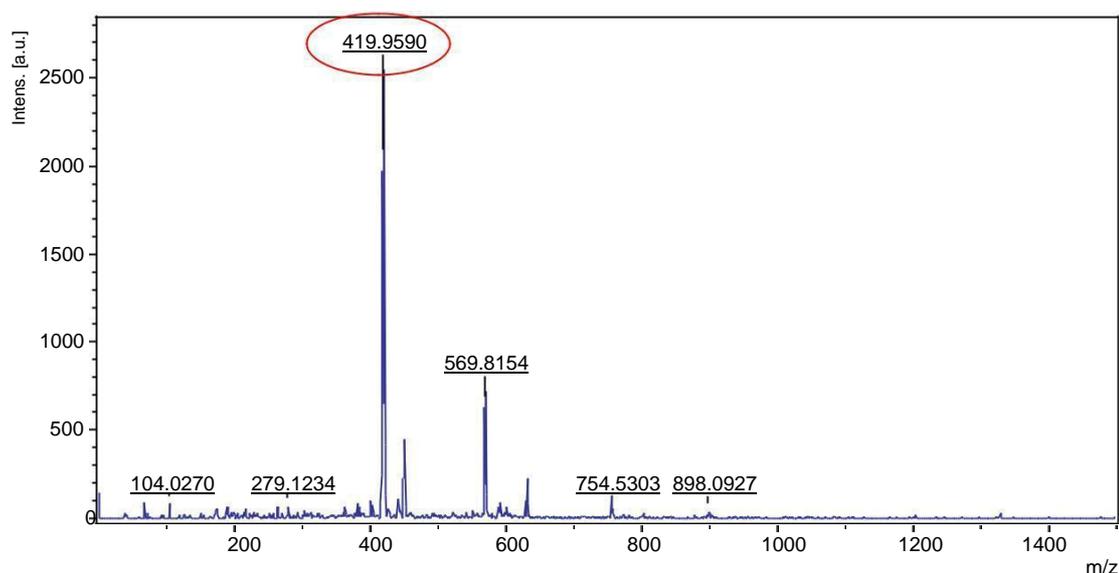
quantitativo desses íons a depender da massa gerada (SILVERSTEIN, WEBSTER & KIEMLE, 2005).

As massas moleculares teóricas dos compostos foram calculadas no software ChemBioDraw Ultra 12.0 (m/z calculado) e, após submeter os compostos a técnica, foram encontrados os valores dos picos do íon molecular (m/z) de cada um deles. Observou-se que os mesmos foram semelhantes ao calculado, como visualizado na tabela 9. O pico do espectro de massas evidencia a ionização da molécula e confirma a massa molecular do composto, exemplificado pelo espectro de massas do composto JF-42 (Figura 21).

Tabela 9. Picos calculados e encontrados do íon molecular (m/z) das tiossemicarbazonas da série N-(4-bromofenil)-hidrazina-carbotiamida.

Compostos	m/z calculado	m/z encontrado
LqIT/JF-30	379,98	379,95
LqIT/JF-31	411,97	411,95
LqIT/JF-33	401,98	401,96
LqIT/JF-34	377,03	379,03
LqIT/JF-42	419,99	419,95

Fonte: Autor.



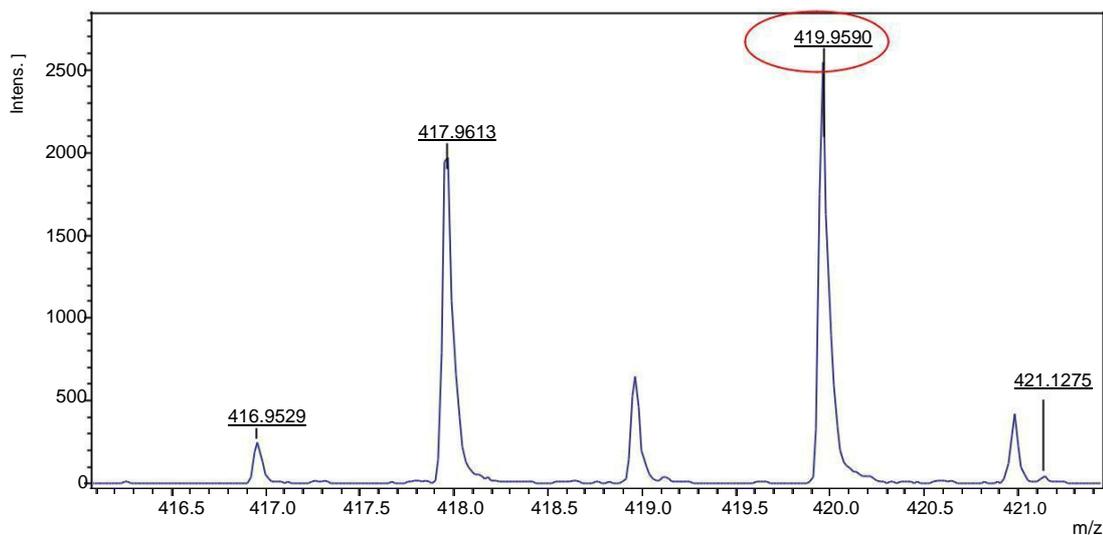
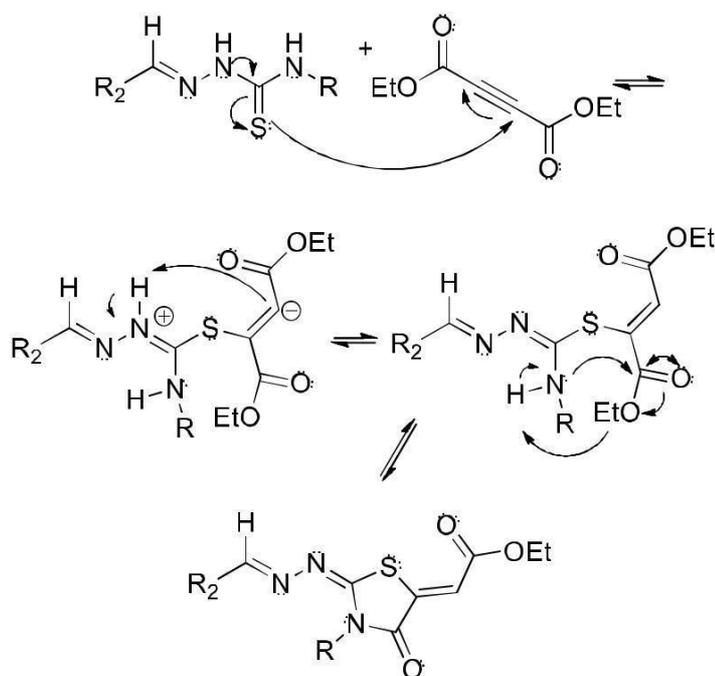


Figura 21. Espectro de massas do composto JF-42 e o pico do íon molecular (círculo em vermelho).

5.1.3 Mecanismo de síntese dos derivados 4-tiazolidínicos 5-substituídos e elucidação estrutural

Nessa reação o átomo de enxofre promove um ataque nucleofílico as ligações triplas e uma tiolactama é formada, seguindo de um ataque intramolecular que leva a ciclização da tiazolidina com o grupamento éster na posição 5 do anel (Esquema 17) (BENMOHAMMED, et al., 2014).



Esquema 17. Mecanismo reacional de síntese dos novos derivados ésteres 4-tiazolidinas planejados.

Todos os derivados ésteres foram caracterizados físico-quimicamente e os dados estão resumidos na tabela 10, a seguir.

Tabela 10. Propriedades físico-químicas e rendimentos para os derivados da série (E)-etil-2-((Z)-2-(E)-benzilidenohidrazona)-3-(4-bromofenil)-4-oxotiazolidin-5-ilideno) acetato.

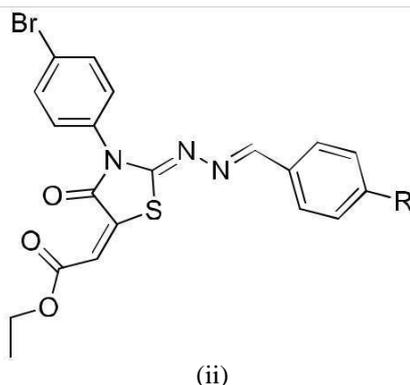
Compostos	Rend. (%)	PF °C	Caracterização	Rf / eluente
LqIT/JF-35	70	196-198	Sólido amarelo	<i>n</i> -hex.:AcEtO (8:2) / 0,45
LqIT/JF-36	76	246-248	Sólido amarelo	<i>n</i> -hex.:AcEtO (6:4) / 0,44
LqIT/JF-38	63	204-205	Sólido amarelo	<i>n</i> -hex.:AcEtO (9:1) / 0,40
LqIT/JF-39	79	220-221	Sólido laranja	<i>n</i> -hex.:AcEtO (8:2) / 0,50
LqIT/JF-43	71	195-196	Sólido amarelo	<i>n</i> -hex.:AcEtO (9:1) / 0,52

Fonte. Autor.

Com finalidade de elucidação estrutural técnica espectrométrica de infravermelho foi aplicada, determinando-se as principais funções de ocorrência dos novos 4-tiazolodina éster substituído. Na figura 22 podemos evidenciar as regiões vibracionais característicos das TZDs. Não há presença de picos na região de estiramentos de ligação NH (acima de 3000 cm^{-1}), evidenciando que a tiossemicarbazona usada como reagente foi totalmente consumida. Identificou-se a presença de faixa de absorção entre $1719\text{-}1726\text{ cm}^{-1}$, características de lactamas (C=O cíclico). E ainda podemos observar absorção típicas de função éster, descritas em maiores detalhes na tabela 11.

Tabela 11. Principais frequências de absorção observadas nos espectros de IV para os derivados da série (E)-etil-2-((Z)-2-(E)-benzilidenohidrazona)-3-(4-bromofenil)-4-oxotiazolidin-5-ilideno) acetato (ii).

Compostos	C=O lactma	(CCO)	((C=O)-O)	R
LqIT/JF-35	1719	1198	1252	SCH ₃
LqIT/JF-36	1720	1147	1247	SO ₂ CH ₃
LqIT/JF-38	1726	1109	1201	CF ₃
LqIT/JF-39	1720	1196	1232	NH(CH ₃) ₂
LqIT/JF-43	1724	1218	1263	OCF ₃



Fonte: Autor.

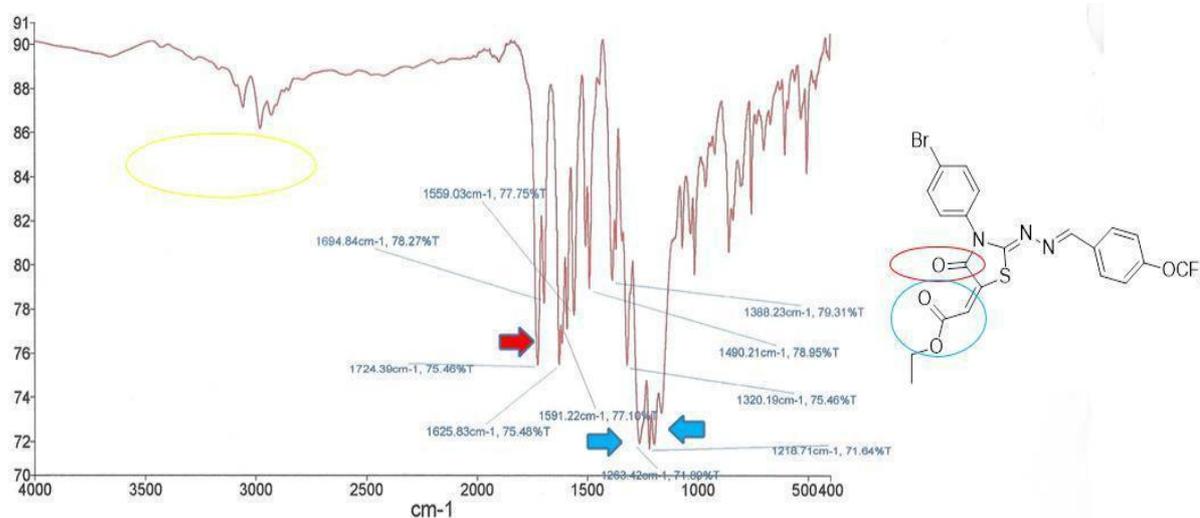


Figura 22. Regiões de vibrações do IV do composto LqIT/JF-43 indicando os principais estiramentos dos grupos presentes nas tiazolidinas; referente a lactama (seta vermelha), picos da função éster (setas azuis) e ainda, não há picos na região estiramento de ligação NH (em amarelo).

Seguindo a elucidação, a presença de sinais no RMN¹H na parte de campo baixo do espectro, local de sinais típicos de carbonos sp^3 , sugere a formação do grupamento etil (-CH₂-CH₃), neste caso com multiplicidades correspondentes, quarteto para o CH₂ e tripleto para o CH₃. Ainda, não há singletos do NH tiossemicarbazônico e sim singletos referentes a ligação olefinica na faixa de 6.758 – 6.835 ppm. A ligação azometina é mantida, também confirmada pela presença dos picos correspondentes. Segue tabela 12 com os principais descolamentos químicos encontrados no RMN¹H e figura 23 com o espectro detalhado mostrando os principais picos.

Tabela 12. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ^1H para os derivados da série (E)-etil-2-((Z)-2-(E)-benzilidenohidrazona)-3-(4-bromofenil)-4-oxotiazolidin-5-ilideno) acetato.

Compostos	N=CH	C=CH	CH ₂	CH ₃	Outros (R)
LqIT/JF-35	8.408	6.789	4.301	1.302	2.523 (SCH ₃)
LqIT/JF-36	8.603	6.835	4.307	1.299	3.256 (SO ₂ CH ₃)
LqIT/JF-38	8.590	6.822	4.303	1.297	----- (CF ₃)
LqIT/JF-39	8.263	6.758	4.293	1.295	2.996 (CH ₃) ₂
LqIT/JF-43	8.526	6.810	4.298	1.293	----- (OCF ₃)

Fonte: Autor

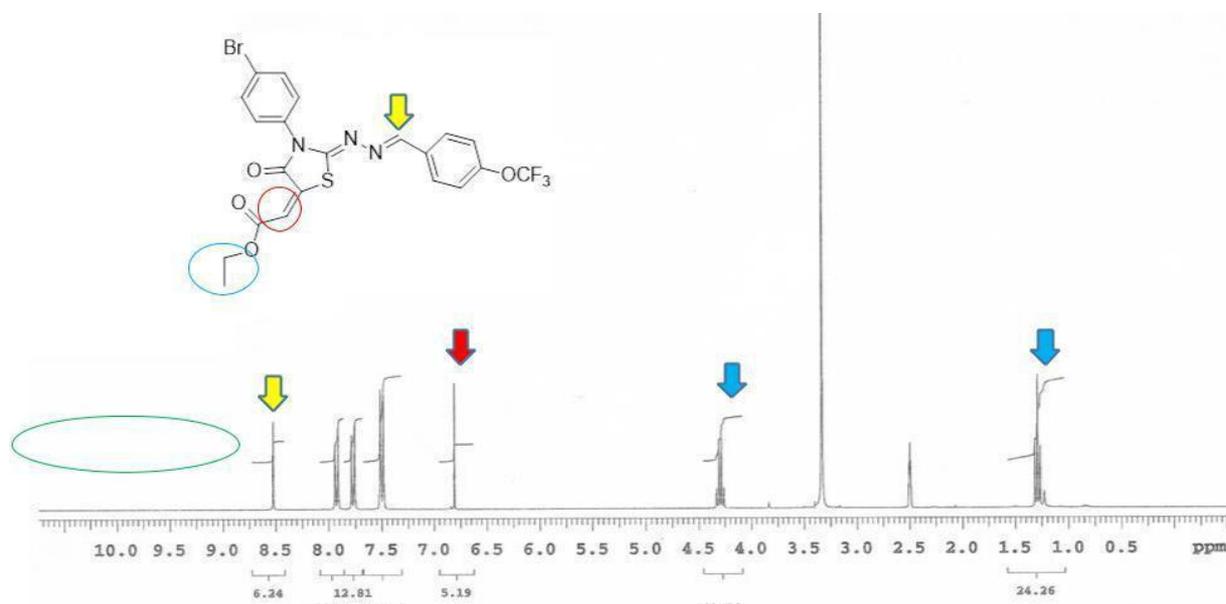


Figura 23. Espectro de RMN ^1H do composto LqIT/JF-43 indicando os sinais referentes ao grupamento etil na região de carbono sp^3 (setas azuis), singlete olefínico (seta vermelha), o hidrogênio da função azometínica – C=N (seta amarela) e ausência de picos acima de 9 ppm, característico dos NHs presentes nas tiossemicarbazonas (círculo em verde).

A dupla ligação exocíclica originada no heterociclo da 4-tiazolidinona permite a formação de dois isômeros geométricos E e Z. No entanto, no espectro de RMN ^1H só é possível observar apenas um sinal singlete referente apenas a uma forma isomérica. Os estudos de cristalografia de raio-X comprovam a preferência pela configuração Z desses derivados, provavelmente devido ao efeito estérico do grupamento éster (BENMOHAMMED et al., 2014).

No RMN ^{13}C podemos identificar a ausência de picos na faixa de 176ppm, característicos do grupamento tiocarbonila (C=S); ainda podemos identificar sinais referentes a carbonila cíclica, indicando que houve a reação de ciclização, na faixa de 165ppm.

A presença de dois sinais abaixo de 100ppm, indicam a formação do grupo etila do éster, substituinte na posição 5 do anel tiazolidínico. Deslocamentos químicos dos principais sinais estão discriminados na tabela 13. Em seguida figura 24 mostrando os principais pontos do RMN¹³C das tiazolidinas.

Tabela 13. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ¹³C para os derivados da série (E)-etil-2-((Z)-2-(E)-benzilidenohidrazona)-3-(4-bromofenil)-4-oxotiazolidin-5-ilideno)acetato.

Compostos	C=O lactama	CH ₂	CH ₃
LqIT/JF-35	165.32	61.34	13.89
LqIT/JF-36	165.49	61.57	14.00
LqIT/JF-38	165.47	61.54	13.98
LqIT/JF-39	165.38	61.49	13.99
LqIT/JF-43	165.50	61.54	14.01

Fonte: Autor.

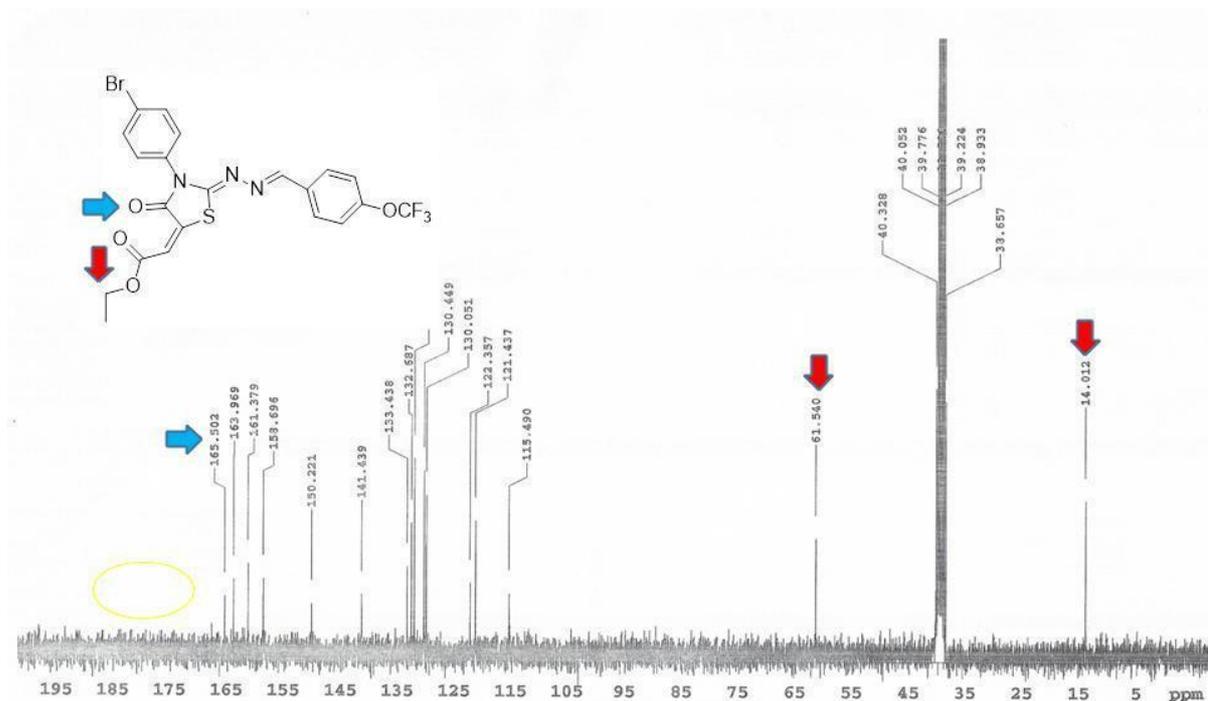


Figura 4. Espectro de RMN¹³C do composto LqIT/JF-43 indicando os sinais referentes aos carbonos das ligações sp³ (setas vermelhas) e ausência de pico da tiocarbonila (C=S) na faixa de 176ppm (em amarelo).

Afim de finalizar a elucidação estrutural dos derivados tiazolidínicos, a técnica de TOF foi utilizada na análise de EM. Todos os compostos apresentaram pico do íon molecular (m/z) semelhante a massa molecular calculada no software ChemBioDraw Ultra 12.0. Segue tabela

14 com os m/z das moléculas estudadas, confirmando ionização da molécula e a massa molecular do composto, exemplificado pelo espectro de massas do composto JF-43 (Figura 25).

Tabela 14. Picos calculados e encontrados do íon molecular (m/z) dos derivados ésteres 4-tiazolidinas da série (E)-etil-2-((Z)-2-(E)-benzilidenohidrazona)-3-(4-bromofenil)-4-oxotiazolidin-5-ilideno) acetato.

Compostos	m/z calculado	m/z encontrado
LqIT/JF-35	503,99	503,90
LqIT/JF-36	535,98	535,84
LqIT/JF-38	525,99	525,81
LqIT/JF-39	501,05	500,99
LqIT/JF-43	541,98	541,77

Fonte: Autor.

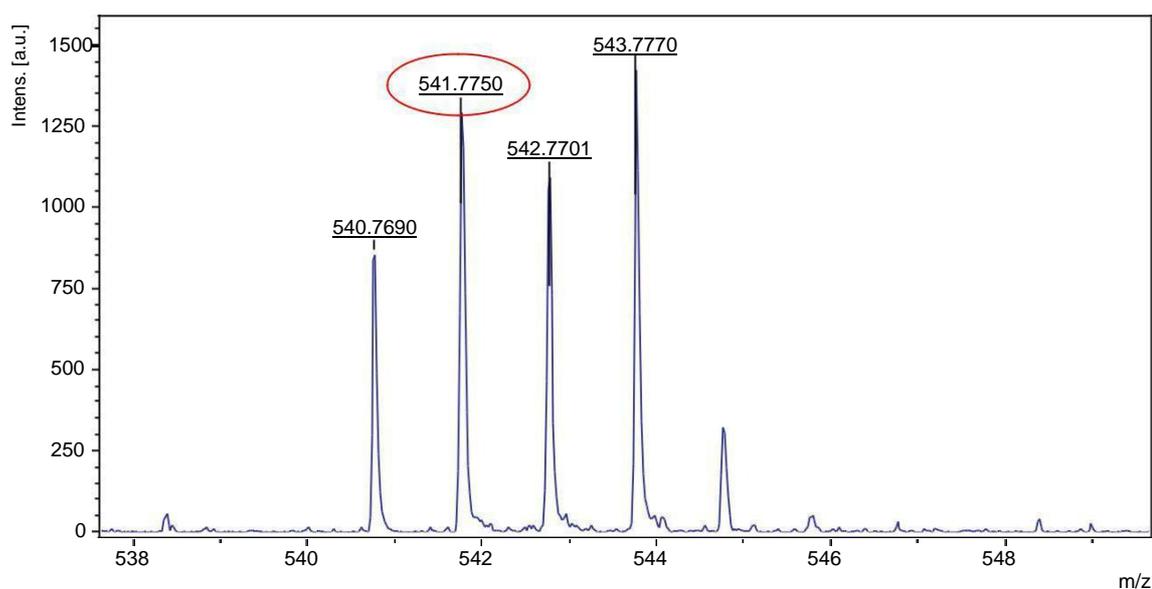


Figura 25. Espectro de massas do composto JF-43 (pico do íon molecular círculo em vermelho).

5.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

5.2.1 Toxicidade aguda em dose única

Avaliou-se o nível de segurança dos compostos utilizados, aplicando o teste de toxicidade aguda em dose única segundo a OECD. No final do experimento nenhum dos animais foi a óbito, como também não apresentaram variações significativas no perfil clínico, comportamental, fisiológico, bioquímico ou alterações macroscópicas.

5.2.2 Edema de pata induzido por carragenina

Após constada a segurança dos compostos, os mesmos foram submetidos ao teste de edema de pata com carragenina, afim de triar os compostos com perfil promissor de inibição da inflamação. O teste baseia-se na variação do volume das patas traseiras dos camundongos, após a aplicação de algum estímulo inflamatório. O agente flogístico utilizado foi a carragenina, a qual induz exsudato rico em proteínas que contém grande número de neutrófilos e estimula a metabolização do ácido araquidônico pelas vias da ciclooxigenase e lipoxigenase (LO et al., 1982, ZHANG et al., 2007). A carragenina é um polissacárido de elevado peso molecular utilizado em farmacologia para induzir inflamação (CORSINI et al., 2005), descrita em 1969 nos modelos de pata de camundongos (LEVY, 1969).

Um agente pró-inflamatório é útil para avaliar a contribuição de mediadores envolvidos nas alterações vasculares associadas à inflamação aguda. A inflamação induzida por carragenina imediatamente promove a liberação de vários mediadores inflamatórios na primeira hora, tais como histamina, serotonina e bradicinina; em seguida, as PGs e NO são sintetizados e liberados na corrente sanguínea, pela ação da COX-2 (CORSINI et al., 2005; LIAO et al., 2014).

As ciclooxigenases tem ação sobre o ácido araquidônico convertendo-o em prostaglandinas. Assim, as mesmas têm uma ação importante na inflamação e na hiperalgesia. As PGE₂ e PGI₂ aumentam a formação de edema e a infiltração de leucócitos promovendo o fluxo na região inflamada (TEIXEIRA et al., 2003). Com isso, o processo inflamatório se instala. A carragenina é injetada uma hora antes da administração via oral dos compostos ou solução salina 0.9% (controle negativo) ou indometacina (controle positivo).

A tabela 15 ilustram os resultados obtidos no ensaio de edema de pata induzido pela carragenina nos novos derivados tiazolidínicos. O controle positivo (indometacina 10mg/Kg) apresentou efeito anti-edematogênico significativo desde a primeira hora do experimento. Os novos compostos foram testados na dosagem de 30mg/kg, sendo mensurado o valor do edema da pata com um plestismomêtro a cada hora, durante um período de 6 horas.

No gráfico 1, pode-se verificar a influência dos compostos e dos controles utilizados na inibição do volume da pata dos animais. Nas duas últimas horas, para os compostos JF-38 e JF-43 com substituição -CF₃ e -OCF₃, respectivamente, não há quase variação no volume da pata, o que fica evidente através do gráfico a ausência das barras na quinta e sexta hora (amarelo e rosa, respectivamente).

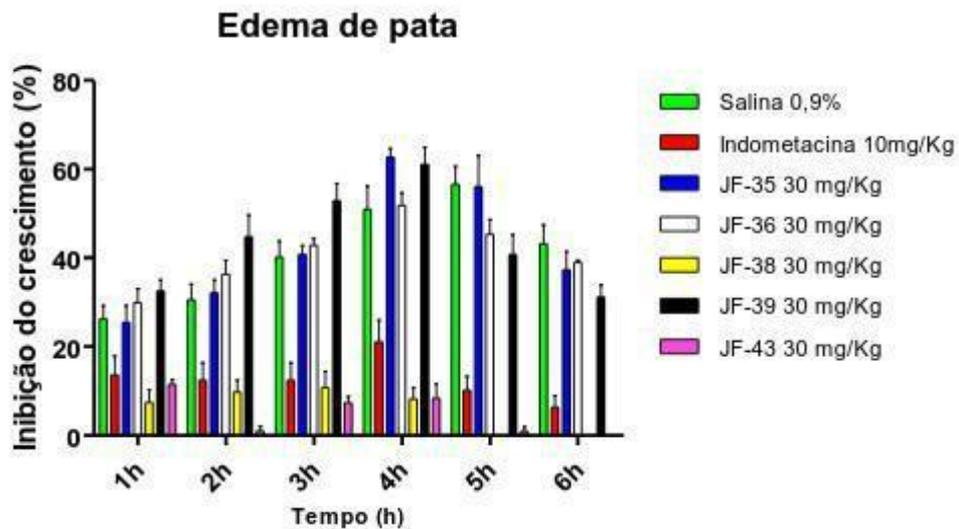
Tabela 15. Percentual de crescimento do volume da pata (%) comparado com o controle negativo (média \pm erro padrão).

Horas	Salina 0,9%	Indometacina 10mg/Kg	JF-35 30mg/Kg	JF-36 30mg/Kg
1	26,25 \pm 2,97	13,61 \pm 4,30 *	25,45 \pm 3,75	29,91 \pm 3,15
2	30,54 \pm 3,55	12,42 \pm 3,92 ***	32,12 \pm 2,90	36,32 \pm 3,13
3	40,18 \pm 3,60	12,42 \pm 3,92 ***	40,75 \pm 1,99	42,84 \pm 1,55
4	50,97 \pm 5,21	21,08 \pm 4,86 ***	62,72 \pm 1,87	51,81 \pm 2,84
5	56,54 \pm 4,05	10,17 \pm 3,10 ***	56,06 \pm 6,98	45,29 \pm 3,35
6	43,19 \pm 4,24	6,38 \pm 2,58 ***	37,27 \pm 4,17	38,99 \pm 0,53
Horas	JF-38 30mg/Kg	JF-39 30mg/Kg	JF-43 30mg/Kg	
1	7,42 \pm 2,84 ***	32,58 \pm 2,43	11,48 \pm 1,09 *	
2	9,77 \pm 2,64 ***	44,76 \pm 4,85 *	1 \pm 1 ***	
3	10,73 \pm 3,68 ***	52,88 \pm 3,85 *	7,38 \pm 1,40 ***	
4	8,25 \pm 2,51 ***	61,00 \pm 3,92	8,35 \pm 3,21 ***	
5	0 ***	40,70 \pm 4,50 **	0,98 \pm 0,98 ***	
6	0 ***	31,19 \pm 2,72	0 ***	

Legenda:

Os dados foram expressos como a média \pm EP de 5 animais por grupo. Os resultados foram considerados significativos quando * p < 0,05; ** p < 0,01 e *** p < 0,001 (em comparação com o grupo de controle negativo), determinado por análise de variância (ANOVA) seguido pelos testes de Bonferroni.

Fonte: Autor.

Gráfico 1. Gráfico em barra com o percentual de inibição do volume da pata (%) comparado com o controle negativo.

Fonte: Autor.

Duas fases distintas estão envolvidas na resposta inflamatória aguda. A primeira fase (0-120 min) relaciona-se à liberação de histamina e serotonina, a segunda fase envolve a estimulação de células polimorfonucleadas (120-360 min) que promovem a liberação de cininas, NO e PGs, esses produtos da ação das COX sob o ácido araquidônico (VINEGAR, SCHREIBER, & HUGO, 1969; OLIVEIRA et al., 2016).

Diante disto, os dados preliminares indicam que os compostos fluorados têm ação nas duas fases mediadas pela carragenina, atuando assim tanto nos primeiros mediadores da inflamação ou através da inibição de citocinas pró-inflamatórias.

Os compostos JF-35 e JF-36 não apresentaram variação significativa do volume do edema induzido, apenas uma inexpressiva diminuição do edema de 0,84% e 19,89%, respectivamente. O JF-39 apresentou resultado significativo nas duas fases de ação da carragenina (2h e 5h), no entanto, não apresentou variação maior do que o controle positivo. Esses dados evidenciam a incapacidade dos compostos em inibir a produção de substâncias pro-inflamatórias endógenas tanto pela via das amina vasoativas como pela via das COXs, já que não tiveram o perfil similar a indometacina.

Já os compostos JF-38 e JF-43 apresentaram variação significativa do volume do edema, em todas as horas, inclusive demonstrando ambos 100% de inibição na sexta hora. O fármaco indometacina, utilizado como controle positivo, apresentou pico de inibição de 85,22%, também na sexta hora. Essa ação promissora na inibição do edema de pata nas últimas horas, evidencia o perfil similar desses dois compostos com o controle positivo e demonstra efetividade no controle do edema pelos JFs em questão (Tabela 16), por ambas as vias de produção de agentes pró-inflamatórios endógenos.

Tabela 16. Percentual de inibição do processo inflamatório (%) dos novos derivados tiazolidínicos.

Horas	Indometacina	JF-35	JF-36	JF-38	JF-39	JF-43
1	48,15%	3,04%	-	71,73%	-	56,26%
2	59,33%	-	-	67,68%	-	96,72%
3	69,08%	-	-	73,29%	-	81,63%
4	58,64%	-	-	83,81%	-	83,61%
5	82,01%	0,84%	19,89%	100%	28,01%	98,26%
6	85,22%	0,13%	9,72%	100%	27,78%	100%

Fonte: Autor.

A inibição da indução do processo anti-inflamatório da substância foi estimada em termos de percentual de inibição, calculado de acordo com a fórmula abaixo:

$$\text{Percentual de Inibição do Processo Anti-inflamatório (\%)} = [(n-n')/n] \times 100$$

Onde, **n** e **n'** indicam a média \pm erro padrão do volume do edema nos grupos controle negativo e grupo teste de cada composto testado em cada hora, respectivamente (PALASKA et al., 2002).

Além disso, aplicando o teste ANOVA entre o controle positivo e os dois melhores compostos, foi encontrado que há significância nos resultados de inibição na quarta hora do

teste. Segue Tabela 17 com os dados do percentual de crescimento do volume da pata comparado com o fármaco padrão, indometacina.

Tabela 17. Percentual de crescimento do volume da pata (%) comparado com o controle positivo (média \pm erro padrão) para os compostos JF-38 e JF-43.

Horas	Indometacina 10mg/Kg	JF-38 30mg/Kg	JF-43 30mg/Kg
1	13,61 \pm 4,30	7,42 \pm 2,84	14,47 \pm 3,11
2	12,42 \pm 3,92	12,31 \pm 3,33	3,33 \pm 2,47
3	12,42 \pm 3,92	10,73 \pm 3,68	10,07 \pm 2,92
4	21,08 \pm 4,86	8,25 \pm 2,51 *	8,35 \pm 3,21 *
5	10,17 \pm 3,10	0	0,98 \pm 0,98
6	6,38 \pm 2,58	0	0

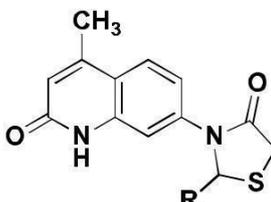
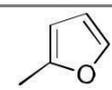
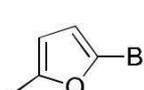
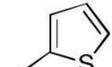
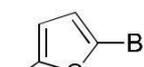
Legenda:

Os dados foram expressos como a média \pm EP de 5 animais por grupo. Os resultados foram considerados significativos quando * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ (em comparação com o grupo de controle positivo), determinado por análise de variância (ANOVA) seguido pelos testes de Bonferroni.

Fonte: Autor.

O bromo, mostrou-se relevante para a atividade anti-inflamatória de novas tiazolidin-4-onas quinolonas substituídas. Enquanto os substituintes que não possuíam bromo a atividade anti-inflamatória não foi significativa, os mesmos grupos com a substituição bromo mostrou atividade (Tabela 18) (SUTHAR et al., 2013). Justifica-se assim, a manutenção do bromo em todos os novos 2-amino-4-tiazolidinas avaliados.

Tabela 18. Percentual de inibição dos compostos tiazolidin-4-onas quinolonas substituídos avaliados por SUTHAR et al., (2013), mostrando a diferença de inibição do edema de pata (%) dos compostos sem (15a e 16a) e com (15b e 16b) substituição bromo.

Compostos	%	NÚCLEO BÁSICO	R
15a	5.16 \pm 0.29		
15b	23.29 \pm 1.42		
16a	18.55 \pm 1.44		
16b	24.02 \pm 1.76		

Fonte: Adaptado de SUTHAR et al., 2013.

As novas 2-amino-4-tiazolidinas que mostraram atividade significativa frente a inibição do processo inflamatório, apresentam como radicais compostos fluorados; os dois conferem a molécula maior lipofilicidade. Em 2015, Al-Turki verificou a influência de vários substituintes

em novos análogos de inibidores da COX-2, constatando que o grupamento 4-clorobenzil se mostrou eficiente devido ao seu caráter lipofílico interagindo com resíduos de aminoácidos, na enzima da COX-2, também lipofílicos. Abaixo segue tabela 19 com o LogP dos substituintes avaliados, calculados através do software OSIRIS DataWarrior ® versão 4.4.4..

Tabela 19. Dados dos LogP dos grupamentos “R” que variam na substituição dos novos derivados 2-amino-4-tiazolidinícos, indicando o tipo de contribuição que trazem para a molécula.

Horas	LogP	R
JF-35	0,1395	-SCH ₃
JF-36	-0,9121	-SO ₂ CH ₃
JF-38	1,8786	-CF ₃
JF-39	-0,5618	-N(CH ₃) ₂
JF-43	0,8881	-OCF ₃

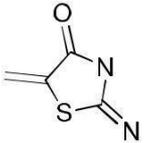
Legenda:

Valores negativos indicam caráter hidrofílico enquanto valores positivos indicam caráter lipofílico do grupamento.

Fonte: OSIRIS DataWarrior ® versão 4.4.4..

Além disso, estudo de *docking* realizado em 2012 por ELEFTHERIOU et al., demonstrou a importância da manutenção da posição central da 2-imino-5-metilideno-1,3-tiazolidin-4-ona; o fragmento desempenha um papel importante na interação entre a COX-1, COX-2, LOX e tiazolidinonas (Tabela 20).

Tabela 20. Estimativa de contribuição do fragmento 2-imino-5-metilideno-4-tiazolidina para a interação com as enzimas COX-1, COX-2 e LOX.

Fragmento	Estimativa de contribuição do fragmento		
	COX-1	COX-2	LOX
 (2-imino-5-metilideno-1,3-tiazolidi-4-ona)	100	96	100

Legenda:

COX-1: Ciclooxigenase-1

COX-2: Ciclooxigenase-2

LOX: Lipoxigenase

Fonte: Adaptado de ELEFTHERIOU et al., 2012.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os novos derivados (E)-etil-2-((Z)-2-(E)-benzilidenohidrazona)-3-(4-bromofenil)-4-oxotiazolidin-5-ilideno) acetato substituídos (LqIT/JF) foram sintetizados com bons rendimentos e dois compostos mostraram-se promissores frente a atividade anti-inflamatória.

Os intermediários da série N-(4-bromofenil)-hidrazina-carbotiamida substituídos foram sintetizados com rendimentos entre 75-92%, sendo caracterizados por técnicas espectroscópicas e espectrométricas. A ligação azometínica (-C=NH), confirma a síntese por ser característica das tiossemicarbazonas, variando no espectro de RMN¹H entre 8,048 e 8,227ppm.

Já os produtos finais da derivados da série (E)-etil-2-((Z)-2-(E)-benzilidenohidrazona)-3-(4-bromofenil)-4-oxotiazolidin-5-ilideno) acetato substituídos foram obtidos com rendimentos entre 63-79%. A caracterização estrutural dos compostos ocorreu através de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN¹H), Ressonância Magnética Nuclear de carbono treze (RMN¹³C), espectroscopia de absorção vibracional na região do infravermelho (IV) e Espectrometria de Massas (EM); no qual ficou evidente a formação da carbonila cíclica no RMN¹³C na faixa de 165ppm para todos os derivados e ainda, a formação do grupamento etila do éster na posição 5 do anel tiazolidínico, facilmente demonstrado pelos quartetos e tripletos abaixo de 5ppm (região de carbono *sp*³) no RMN¹H.

Os compostos não evidenciaram toxicidade aguda, visto que nenhum dos animais foi a óbito durante o experimento e não apresentou variações significativas nos parâmetros fisiológicos, comportamentais, bioquímicos ou após avaliação macroscópica. Faz-se necessário, como complemento da avaliação toxicológica, a realização de estudo histopatológico dos órgãos coletados. A saber: baço, estômago, rins e fígado.

A avaliação da atividade anti-inflamatória através da metodologia de edema de pata induzido por carragenina em camundongos, verificou o potencial anti-inflamatório dos derivados (4-bromofenil)-4-oxotiazolidin-5-ilideno) acetato substituídos, no qual os compostos com substituição trifluorometóxi (JF-43) e trifluorometil (JF-38) se mostraram promissores com inibições do edema de 100% na 6 hora do experimento. Afim de termos uma avaliação maior dos possíveis mecanismos de ação, os compostos seguirão para o teste de dosagem de citocinas IL-1 β e TNF- α .

REFERÊNCIAS

ABDELLATIF, K.R.A.; ABDELGAWAD, M.A.; ELSHEMY, H.A.H.; ALSAYED, S.S.R.. Design, synthesis and biological screening of new 4-thiazolidinone derivatives with promising COX-2 selectivity, anti-inflammatory activity and gastric safety profile. **Bioorganic Chemistry**. v.64, p.1–12, 2016.

ABRAHAM, N.S.; EL-SEREG, H.B.; HARTMAN, C.; RICHARDSON, P.; DESWAL, A.. Cyclooxygenase-2 selectivity of non-steroidal anti-inflammatory drugs and the risk of myocardial infarction and cerebrovascular accident. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**. v.25, p.913-24, 2007.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Nota Técnica: Informe acerca da decisão da ANVISA sobre os antiinflamatórios não esteroidais inibidores da Ciclooxigenase 2**. Brasília, 3 de outubro de 2008.

AL-TURKI, D.A.; AL-OMAR, M.; ABOU-ZEID, L.; SHEHATA, I.A.; AL-AWADY, M.S.. Design, synthesis, molecular modeling and biological evaluation of novel diaryl heterocyclic analogs as potential selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors. **Saudi Pharmaceutical Journal**. 2015. xxxxxxxxxxxxxxxxxxx

APOSTOLIDIS, I.; LIARAS, K.; GERONIKAKI, A.; HADJIPAVLOU-LITINA, D.; GAVALAS, A.; SOKOVIC, A.; GLAMOC`LIJA, J.; CÍRIC, A.. Synthesis and biological evaluation of some 5-arylidene-2-(1,3-thiazol-2-ylimino)-1,3-thiazolidin-4-ones as dual anti-inflammatory/antimicrobial Agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v.21, p.532–539, 2013.

AQUINO, T.M.. Síntese e Avaliação das Atividades Anti-Toxoplasma gondii e Antimicrobiana de Benzaldeído 4-Fenil-3-tiossemicarbazonas e Derivados 2[(Fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona-5-substituídos. Recife, 2007, Tese de Doutorado – Departamento de Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Pernambuco.

AQUINO, T.M.; LIESEN, A.P; SILVA, R.E.A.; LIMA, T.V.; CARVALHO, C.S.; FARIA, A.R.; ARAÚJO, J.M.; LIMA, J.G.; ALVES, A.J.; MELO, E.J.T.; GÓES, A.J.S.. Synthesis, anti-Toxoplasma gondii and antimicrobial activities of benzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazones and 2-[(phenylmethylene)hidrazono]-4-oxo-3-phenyl-5 thiazolidineacetic acids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v.16, p.446–456, 2008.

ARAÚJO, L.F., SOEIRO, A.M., FERNANDES, J.L., SERRANO JÚNIOR, C.V.. Eventos Cardiovasculares: Um Efeito de Classe dos Inibidores de COX-2. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v.85, n.3, p:222-229, 2005.

ASIRVATHAM, S., DHOKCHAWLE, B.V., TAURO, S.J.. Quantitative structure activity relationships studies of non-steroidal anti-inflammatory drugs: A review. **Arabian Journal of Chemistry**. 2016 xxxxxxxxxxxxxxxxxxxx

ATLOUNI, M.. Anti-inflamatórios não esteroides: Efeitos cardiovasculares, cerebrovasculares e renais. **Arquivos Brasileiro de Cardiologia**. v.94, n.4, p.556-563, 2010

BALZARINI, J.; ORZESZKO, B.; MAURIN, J.K.; ORZESZKO, A.. Synthesis and anti-HIV studies of 2-adamantyl-substituted thiazolidin-4-ones. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v.42, p.993-1003, 2007.

BARBOSA, V.X.. Obtenção por irradiação de micro-ondas, caracterização e avaliação esquistossomocida e antimicrobiana de novas tiossemicarbazonas derivadas de 1,2-naftoquinonas. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. 2014.

BARRECA, M.L.; CHIMIRRI, A.; DE LUCA, L.; MONFORTE, A.M.; MONFORTE, P.; RAO, A.; ZAPPALA, M.; BALZARINI, J.; DE CLERCQ, E.; PANNECOUQUEC, C.; WITVROUWC, M.. Discovery of 2,3-Diaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as Potent Anti-HIV-1 Agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v.11, p.1793–1796, 2001.

BARREIRO, E.J.. Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: a descoberta de novo agente cardioativo. **Química Nova**. v.25, n.6b, p.1172-1180, 2002.

BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M.. A Questão da Inovação em Fármacos no Brasil: Proposta de Criação do Programa Nacional de Fármacos (PRONFAR). **Química Nova**, v. 28, p. S56-S63, 2005.

BARREIRO, E. J., FRAGA, C. A. M.. **Química Medicinal**. 3ª Edição Artmed: Porto Alegre, 2015.

BARREIRO, E. J.. A química medicinal e o paradigma do composto-protótipo. **Revista Virtual de Química**. Rio de Janeiro, v.1, n.1, p.26-34, 2009.

BARRETO, R.L., CORREIA, C.R.D., MUSCARÁ, M.N.. Óxido nítrico: propriedades e potenciais usos terapêuticos. **Química Nova**. Brasil, v. 28, n. 6, p:1046-1054. 2005.

BELLO, A.E., HOLT, R.J.. Cardiovascular risk with non-steroidal anti-inflammatory drugs: clinical implications. **Drug Saf**. v.37, p:897–902, 2014.

BENMOHAMMED, A.; KHOUMERI, O.; DJAFRI, A.; TERME, T.; VANELLE, P.. Synthesis of Novel Highly Functionalized 4-Thiazolidinone Derivatives from 4-Phenyl-3-thiosemicarbazones. **Molecules**, v.19, p.3068-3083, 2014.

BERALDO, H.. Semicarbazonas e tiosemicarbazonas: o amplo perfil farmacológico e usos clínicos. **Química Nova**, v.27, n.3, p.461-471, 2004.

BERSENEVA, V. S.; TKACHEV, A. V.; MORZHERIN, Y. Y.; DEHAEN, W.; LUYTEN, I.; TOPPET, S.; BAKULEV, V. A.. Synthesis of novel thiazolidin-4-ones by reaction of malonothioamide derivatives with dimethyl acetylenedicarboxylate . **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions**. v.1, p.2133-2136, 1998.

BESSON, J. M.. The neurobiology of pain. . **The Lancet**. v.353. p. 1610–1615, 1999.

BOERS, M.. NSAIDS and selective COX-2 inhibitors: competition between gastroprotection and cardioprotection. **The Lancet**. v.357, n.9264, p:1222–1223, 2001.

BORTOLOZZO, L.S.. Planejamento, síntese e avaliação da atividade de derivados 5 nitro-2-tiofilidênicos com estrutura azometínica e oxadiazolínica frente a micro-organismos causadores de infecções hospitalares. São Paulo, 2013. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

BOYCE, A.J.. Eicosanoid mediators of mast cells: receptors, regulation of synthesis, and pathobiological implications. **Mast cells in allergic diseases**. v.87, p.59-79, 2005.

BRADEN, G.L.; O'SHEA, M.H.; MULHERN, J.G.; GERMAIN, M.J.. Acute renal failure and hyperkalaemia associated with cyclooxygenase-2 inhibitors. **Nephrology Dialysis Transplantation**. v.19, n.5, p.1149-1153, 2004.

BROWN, F.. 4-thiazolidinones. **Chemical Reviews**. v.61, n.5, p.463–521, 1961.

CANNON, G.W., BREEDVELD, F.C.. Efficacy of Cyclooxygenase-2–Specific Inhibitor. **The American Journal of Medicine**. v.110, n.3, p:6S–12S, 2001.

CAPUTTO, M.E.; FABIAN, L.E.; BENÍTE, D.; MERLINO, A.; RÍOS, N.; CERECETTO, H.; MOLTRASIO, G.Y.; MOGLIONI, A.G.; GONZÁLEZ, M.; FINKIELSZTEIN, L.M.. Thiosemicarbazones derived from 1-indanones as new anti-*Trypanosoma cruzi* agents. **Bioorganic & medicinal chemistry**. v. 19, n. 22, p. 6818–26, 2011.

CASTAGNETTI, C.; MARIELLA, J.. Anti-inflammatory Drugs in Equine Neonatal Medicine. Part I: Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.35, p.475–480, 2015.

CARVALHO, W. A., CARVALHO, R. D. S., RIOS-SANTOS, F.. Analgésicos Inibidores Específicos da Ciclooxygenase-2: Avanços Terapêuticos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. v. 54, s. 3, p. 448-464, 2004.

CHAHADE, W.H.; GIORGI, R.D.N.; SZAJUBOK, G.C.M.. Anti-inflamatórios não hormonais. **Einstein**. v.6, n.1, p.166-174, 2008.

CHANDRASEKHARAN, N.V.; DAI, H.; ROOS, K.L.; EVANSON, N.K., TOMSIK, J.; ELTON, T.S.. Cox-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. **Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America**. Londres.n.99, p.13926-31, 2002.

CHANDRASEKHARAN, N.V., SIMMONS, D.L..The cyclooxygenases. **Genome Biology**. v.5, n.9, artigo 241, 2004.

CHEN, H.; JIAO, L.; GUO, Z.; LI, X.; BA, C.; ZHANG, J.. Synthesis and biological activity of novel thiazolidin-4-ones with a carbohydrate moiety. **Carbohydrate Research**. v.343, p.3015–3020, 2008.

CHEN, Q., RAO, P.N.P., KNAUS, E.E.. Synthesis and biological evaluation of a novel class of rofecoxib analogues as dual inhibitors of cyclooxygenases (COXs) and lipoxygenases (LOXs). **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v.14, n.23, p:7898–7909, 2006.

CLARK, M.A.; FINKEL, R.; REY, J.A.; WHALEN, K.. **Farmacologia Ilustrada**. 5ª edição, Porto Alegre. Artmed, 2013.

COELHO-DE-SOUZA, L.N., GOMES, S.T., ABDON, A.P.V, CAMPOS, R.A.. Conhecimento e atitudes de fisioterapeutas sobre fármacos anti-inflamatórios não esteroides. **Revista Dor**. São Paulo, v.14, n.1, p:44-47, 2013.

CORSINI, E.; PAOLA, R.D.; VIVIANI, B.; GENOVESE, T.; MAZZON, E.; LUCCHI, L.; MARINOVICH, M.; GALLI, C.L.; CUZZOCREA, S.. Increased carrageenan-induced acute lung inflammation in old rats. **Immunology**. v.115, p.253–261, 2005.

COSTA, P.; VASCONCELLOS, M.; PINHEIRO, S.; PILLI, R.. **Substâncias carboniladas e derivados**. Porto Alegre: Bookman, 2003.

CUNHA, S.; SILVA, T.L.. One-pot and catalyst-free synthesis of thiosemicarbazones via multicomponent coupling reactions. **Tetrahedron Letters**. v.50, n.18 p.2090–2093, 2009.

CUNICO, W.; GOMES, C.R.B.; FERREIRA, M.L.G.; CAPRI, L.R.; SOARES, M.; WARDELL, S.M.S.V.. One-pot synthesis of 2-isopropyl-3-benzyl-1,3-thiazolidin-4-ones and 2-phenyl-3-isobutyl-1,3-thiazolidin-4-ones from valine, arenealdehydes and mercaptoacetic acid. **Tetrahedron Letters**. v.48, n.35, p.6217–6220, 2007.

DAREHKORDIA, A.; SAIDIB, K.; ISLAMIB, M.R.. Preparation of heterocyclic compounds by reaction of dimethyl and diethyl acetylene dicarboxylate (DMAD, DEAD) with thiosemicarbazone derivatives. **ARKIVOC**. v.(i), p.180-188, 2007.

D'ASCENZIO, M.; BIZZARRI, B.; DE MONTE, C.; CARRADORI, S.; BOLASCO, A.; SECCI, D.; RIVANERA, D.; FAULHABER, N.; BORD, C.; JONES-BRANDO, L.. Design, synthesis and biological characterization of thiazolidin-4-one derivatives as promising inhibitors of *Toxoplasma gondii*. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v.86, p.17-30, 2014.

DEEP, A.; JAIN, S.; SHARMA, P.C.; MITTAL, S.K.; PHOGAT, P.; MALHOTRA, M.. Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of 2,5-disubstituted-4-thiazolidinone derivatives. **Arabian Journal of Chemistry**. v.7, p.287–291, 2014.

DESAI, N.C.; JOSHI, V.V.; RAJPARA, K.M.; MAKWANA, A.H.. A new synthetic approach and in vitro antimicrobial evaluation of novel imidazole incorporated 4-thiazolidinone motifs. **Arabian Journal of Chemistry**, 2012.

DIURNO, M.V.; MAZZONI, O.; CORREALE, G.; MONTERREY, I.G.; CALIGNANO, A.; RANA, G.L.; BOLOGNESE, A.. Synthesis and structure–activity relationships of 2-(substituted phenyl)-3-[3-(N,N-dimethylamino)propyl]-1,3-thiazolidin-4-ones acting as H1-histamine antagonists. **Il Farmaco**. v.4, p.579–583, 1999.

ELEFThERIOU, P.; GERONIKAKI, A.; HADJIPAVLOU-LITINA, D.; VICINI, P.; FILZ, O.; FILIMONOV, D.; POROIKOV, V.; CHAUDHAERY, S.; ROY, K.K.; SAXENA, A.K.. Fragment-based design, docking, synthesis, biological evaluation and structure-activity relationships of 2-benzo/benzisothiazolimino-5-arylidene-4-thiazolidinones as cyclooxygenase/lipoxygenase inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v.47, p.111-124, 2012.

FARO, M.L.L.; FOX, B.; WHATMORE, J.L.; WINYARD, P.G.; WHITEMAN, M.. Hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in inflammation. **Nitric Oxide**. v.41, p.38–47, 2014.

FAVRE, H.A.; POWELL, W.H.. Nomenclature of Organic Chemistry. **IUPAC Recommendations and Preferred Name**: Nitrogenous derivatives of carbonyl compounds. 2013.

FERREIRA, T.R., LOPES, L.C.. Analysis of analgesic, antipyretic, and nonsteroidal anti-inflammatory drug use in pediatric prescriptions. **Jornal de Pediatria**. Rio de Janeiro. v.92, n.1, p.81-87, 2016.

FITZGERALD, G.A.. COX-2 and beyond: approaches to prostaglandin inhibition in human disease. **Nature reviews drug discovery**. Pensilvânia. v.2, p:879-890, 2003

FLOWER, R.J.. The development of cox2 inhibitors. **Nature reviews drug discovery**. Londres. v.2, p:179-191. 2003.

FLOWER, R.J.. Studies on the mechanism of action of anti-inflammatory drugs: A paper in honour of John Vane. **Thrombosis Research**. Londres. v.110, n.5-6 p:259– 263, 2003.

GALLIN, J.I.; FLETCHER, M.P.; SELIGMANN, B.E.; KERSTIN CEHRS, S.H.; MOUNESSA, N.. Human neutrophil-specific granule deficiency: a model to assess the role of neutrophil-specific granules in the evolution of the inflammatory response. **American Society of Hematology**. 59: 1317-1329, 1982.

GOUVEIA, F. L., OLIVEIRA, R. M. B., OLIVEIRA, T. B., SILVA, I. M., NASCIMENTO, S. C., SENA, K. X. F. R., ALBUQUERQUE, J. F. C.. Synthesis, antimicrobial and cytotoxic activities of some 5- arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-ones. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v.44, n.5, p.2038–2043, 2009.

GROSSER, T., SMYTH, E., FITZGERALD, G.A.. Agentes anti-inflamatórios, antipiréticos e analgésicos; farmacoterapia da gota. In: **GOODMAN & GILMAN. As bases farmacológicas da terapêutica**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda, 2012. Cap. 34, p. 959-1003.

GUIDO, R.V.C., ANDRICOPULO, A.D., OLIVA, G.. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Estudos avançados**. v.24, n.70, p.81-98, 2010.

HERNANDES, M.Z.; RABELLO, M.M.; LEITE, A.C.L.; CARDOSO, M.V.O.; MOREIRA, D.R.M.; BRONDANI, D.J.; SIMONE, C.A.; REIS, L.C.; SOUZA, M.A.; PEREIRA, V.R.A.; FERREIRA, R.S.; MCKERROW, J.H.. Studies toward the structural optimization of novel thiazolylylhydrazone-based potent antitrypanosomal agentes. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.18, n.15, p.7826–7835, 2010.

HILÁRIO, M.O.E., TERRERI, M.T., LEN, C.A.. Antiinflamatórios não-hormonais: inibidores da ciclooxigenase 2. **Jornal de Pediatria**. Rio de Janeiro. v.8, n.5, p206-12, 2006.

IUPAC. Site da International Union of Pure and Applied Chemistry. Disponível em: <<http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac>>. Acesso em: 23/04/2016.

JAIN, A.K.; VAIDYA, A.; RAVICHANDRAN, V.; KASHAW, S.K.; AGRAWAL, R.K.. Recent developments and biological activities of thiazolidinone derivatives: A review. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v.20, n.11, p.3378–3395, 2012.

JAIN, V.S., VORA, D.K., RAMAA, C.S.. Thiazolidine-2,4-diones: Progress towards multifarious applications. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v.21, p.1599–1620, 2013.

JOUZEAU, J.Y., TERLAIN, B., ABID, A., NÉDÉLEC, E., NETTER, P.. Cyclo-oxygenase isoenzymes. How recent findings affect thinking about nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Drugs**. v.53, n.4, p563-582, 1997.

KARABATSOS, G.J.; VANE, F.M.; TALLER, R.A.; HIS, N.. Structural Studies by Nuclear Magnetic Resonance. 8. Ring-substituted Phenylhydrazonesemicarbazones + Thiosemicarbazones. **Journal of American Chemical Society**, v. 86, n.16, p. 3351-3358, 1964.

KAVITHA, C. V.; BASAPPA; SWAMY, S.N.; MANTELINGU, K.; DORESWAMY, S.; SRIDHAR, M.A.; PRASADB, J.S.; RANGAPPAA, K.S.. Synthesis of new bioactive venlafaxine analogs: Novel thiazolidin-4-ones as antimicrobials. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v.14, p.2290–2299, 2006.

KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H.. **Química Farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 783 p.

KOWALSKI, M.L.; STEVENSON, D.D.. Classification of Reactions to Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs. **Immunol Allergy Clinics of North America**. v.33, p.135–145, 2013.

LEE, I.; CRYER, B.. Epidemiology and Role of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs in Causing Gastrointestinal Bleeding. **Gastrointest Endoscopy Clinics of North America**. v.21, p.597–612, 2011.

LEVY, L.. Carrageenan paw oedema in the mouse. **Life Sciences**. V. 8, p. 601-606, 1969.

LIAO, J.; CHANG, W.; LEE, M.; CHIU, Y.; CHAO, W.; LIN, Y.; LIN, M.; PENG, W.. Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of *Cuscuta chinensis* Seeds in Mice. **The American Journal of Chinese Medicine**. v.42, n.1, p.223–242, 2014.

LIESEN, A. P.; AQUINO, T.M.; GÓES, A. J. S.; LIMA, J. G.; FARIA, A. R.; ALVES, A.J.. Métodos de obtenção, reatividade e importância biológica de 4-tiazolidinonas. **Química Nova**. v. 31, n. 2, p.369-376, 2008.

LIESEN, A.P.; AQUINO, T.M.; CARVALHO, C.S.; LIMA, V.T.; ARAÚJO, J.M.; LIMA, J.G.; FARIA, A.R.; MELO, E.J.T.; ALVES, A.J.; ALVES, E.W.; ALVES, A.Q.; GÓES, A.J.S.. Synthesis and evaluation of anti-*Toxoplasma gondii* and antimicrobial activities of thiosemicarbazides, 4-thiazolidinones and 1,3,4-thiadiazoles. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v.45, p.3685-3691, 2010.

LIMA, L.M.; BARREIRO, E.J.. Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design. **Current Medicinal Chemistry**. v.12, n.1, p.23-49, 2005.

LIMA, L.M.. Química medicinal moderna: desafios e contribuição brasileira. **Química Nova**. v.30, n.6, p.1456-1468, 2007.

LO, T. N; ALMEIDA, A. P; BEAVEN, M. A.. Dextran and carrageenan evoke different inflammatory response in rat with respect to composition of infiltrates and effect of indomethacin. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 221, p. 261-267, 1982.

MARKOVIĆ, R.; BARANAC, M.; STEEL, P.J; KLEINPETERD, E.; STOJANOVIĆB, M.. Stereocontrolled synthesis of new tetrahydrofuro[2,3-d]thiazole derivatives via activated vinylogous iminium ions. **Heterocycles**. v.56, p.2635-2647 , 2005.

MENDES, R.T.; STANCZYK, C.P.; SORDI, R.; OTUKI, M.F.; SANTOS, F.A.; FERNANDES, D.. Inibição seletiva da ciclo-oxigenase-2: riscos e benefícios. *Revista Brasileira de Reumatologia*.v.52, n.5, p.767-782, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução - **RDC nº 79, de 4 de novembro de 2008**. Dispõe sobre a atualização do Anexo I, Listas de Substâncias Entorpecentes, Psicotrópicas, Precursoras e Outras sob Controle Especial, da Portaria SVS/MS nº.344, de 12 de maio de 1998.

MIOLO, L.M.F.. Síntese de tiazolidina-2-tio-hidantoína e seus derivados e estudo de suas propriedades farmacológicas. Porto Alegre, 2013. Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto de Química - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

MOREIRA, A.V.B.. Efeito antioxidante dos compostos fenólicos de especiarias sobre os ácidos graxos da série w3 e w6. São Paulo, 2003. 153p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

MOTA, P.M.; LIMA, A.L.Z.; COELHO, E.; PAULA, E.M.X.; FURINI, A.A.C.. Estudo sobre a utilização de anti-inflamatórios não esferoidais prescritos em receitas para idosos da região Noroeste Paulista. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.31, n.2, p.157-163, 2010.

OECD. Organisation for Economic Co-operation and Development. Guideline for testing of chemicals. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method, p.14, 2001.

OKAWARA, T.; NAKAYAMA, K.; YAMASAKI, T.; FURUKAWA, M.. The reaction of 1,3-disubstituted thioureas with α,ω -dibromoacyl chlorides and the formation of spiro compounds. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**. v.34, n.1, p.380-384, 1986.

OKSUZ, E., ATALAR, F., VERDI, G.T., BILIR, A., SHAHZADI, A., YAZICI, Z.. Therapeutic potential of cyclooxygenase-3 inhibitors in the management of glioblastoma. **Journal of Neurooncology**. New York. n.126, p.271–278, 2015.

OLIVEIRA, J.F.; SILVA, A.L.; VENDRAMINI-COSTA, D.B.; AMORIM, C.A.C.; CAMPOS, J.F.; RIBEIRO, A.G.; MOURA, R.O.; NEVES, J.L.; RUIZ, A.L.T.G.; CARVALHO, E.; LIMA, M.C.A.. Synthesis of thiophene-thiosemicarbazone derivatives and evaluation of their in vitro and in vivo antitumor activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v.104, p.148-156, 2015.

OLIVEIRA, J.F.; NONATO, F.R.; ZAFRED, R.R.T.; LEITE, N.M.S.; RUIZ, A.L.T.G.; CARVALHO, J.E.; SILVA, A.L.; MOURA, R.O.; LIMA, M.C.A.. Evaluation of anti-inflammatory effect of derivative (E)-N-(4-bromophenyl)-2-(thiophen-2-ylmethylene)-thiosemicarbazone. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. v.80, p.388–392, 2016

OLIVEIRA JÚNIOR, J.; SERRANO, S.C.; TEODORO, A.L.; DANA, B.A.. Os anti-inflamatórios não hormonais. **Prática hospitalar**. v.51, p.173-178, 2007.

OLIVEIRA FILHO, G.B.; CARDOSO, M.V.O.; ESPÍNDOLA, J.W.P.; FERREIRA, L.F.G.R.; SIMONE, C.A.; FERREIRA, R.S.; COELHO, P.L.; MEIRA, C.S.; MOREIRA, D.R.M.; SOARES, M.B.P.; LEITE, A.C.L.. Structural design, synthesis and pharmacological evaluation of 4-thiazolidinones against *Trypanosoma cruzi*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v.23, n.23, p.7478-7486, 2015.

OMAR, K.; GERONIKAKI, A.; ZOUMPOULAKIS, P.; CAMOUTSIS, C.; SOKOVIC, M.; CÍRIC, A.; GLAMOCLJIJA, J.. Novel 4-thiazolidinone derivatives as potential antifungal and antibacterial drugs. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v.8, p.426–432, 2010.

OTA, A.T.; TEMPERINI, M.L.A.; ARÊAS, E.P.G.; LOOS, M.. Modeling of the interconversion between Z and E isomeric forms of pyridine-2-formyl thiosemicarbazone. **Journal of Molecular Structure: Theochem**, v. 451, n.3, p.269- 275, 1998.

OTTANA, R.; MACCARI, R.; BARRECA, M.L.; BRUNO, G.; ROTONDO, A.; ROSSI, A.; CHIRICOSTA, G.; PAOLA, R.D.; SAUTEBIN, L.; CUZZOCREAD, S.; VIGORITA, M.G.. 5-Arylidene-2-imino-4-thiazolidinones: Design and synthesis of novel anti-inflammatory agentes. **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-oxadiazoles, 1,3,4-thiadiazoles and 1,2,4-triazole-3-thiones. **II Farmaco**, v.57, p.101–107, 2002.

PALENIK, G. J.; RENDLE, D. F.; CARTER, W. S.. The Crystal and Molecular Structures of Thiosemicarbazones; an Antitumor Agent 5-Hydroxy-2-formylpyridine Thiosemicarbazone Sesquihydrate and the Inactive Acetone Thiosemicarbazone. **Acta Crystallographica**. Seção B, n.30, p.2390-2395, 1974.

PANSARE, D.N.; MULLA, N.A.; PAWAR, C.D.; SHENDE, V.R.; SHINDE, D.B.. One pot three components microwave assisted and conventional synthesis of new 3-(4-chloro-2-hydroxyphenyl)-2-(substituted) thiazolidin-4-one as antimicrobial agentes. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v.24, p.3569–3573, 2014.

PARENTE, L.. Pros and cons of selective inhibition of cyclooxygenase-2 versus dual lipooxygenase/cyclooxygenase inhibition: is two better than one? **The Journal of Rheumatology**. v. 28, n.11, p:2375-2382, 2001.

PATANI, G.A.; LAVOIE, E.J.. Bioisosterism: A Rational Approach in Drug Design. **Chemical Reviews**. v.96, p.3147-3176, 1996.

PINHEIRO, R.M., WANNMACHER, L.. Uso Racional de Anti-inflamatórios Não Esteroides. **Uso racional de medicamentos: Temas selecionados**. Brasil, n.5, p:1-15, 2010.

PRATAP, U.R.; JAWALE, D.V.; BHOSLE, M.R.; MANE, R.A.. *Saccharomyces cerevisiae* catalyzed one-pot three component synthesis of 2,3-diaryl-4-thiazolidinones. **Tetrahedron Letters**. v.52, 1689–169, 2011.

RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M., FLOWER, R.J.. **Farmacologia**. 6^a Edição. Editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2007.

RAO, A.; CARBONE, A.; CHIMIRRI, A.; CLERCQ, E.D.; MONFORTE, A.M.; MONFORTE, P.; PANNECOUQUE, C.; ZAPPALA, M.. Synthesis and anti-HIV activity of 2,3-diaryl-1,3-thiazolidin-4-ones. **II Farmaco**. v.58, p.115-120, 2003.

RAO, A.; BALZARINI, J.; CARBONE, A.; CHIMIRRI, A.; DE CLERCQ, E.; MONFORTE, A.M.; MONFORTE, P.; PANNECOUQUE, C.; ZAPPALÀ, M.. Synthesis of new 2,3-diaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as anti-HIV agentes. **II farmaco**. v.59, p.33–39, 2004

RAO, A.; BALZARINI, J.; CARBONE, A.; CHIMIRRI, A.; DE CLERCQ, E.; MONFORTE, A.M.; MONFORTE, P.; PANNECOUQUE, C.; ZAPPALÀ, M.. 2-(2,6-Dihalophenyl)-3-(pyrimidin-2-yl)-1,3-thiazolidin-4-ones as non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. **Antiviral Research**. v.63, p.79–84, 2004.

RAO, P.N.P.; KNAUS, E.E.. Evolution of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs): Cyclooxygenase (COX) Inhibition and Beyond. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**. v.11, n.2, p.81s-110s, 2008.

RAWAL, R.K.; SRIVASTAVA, T.; HAQ, W.; KATTI, S.B.. An expeditious synthesis of thiazolidinones and tetathiazanones. **Journal of Chemical Research**. v.2004, n.5, p.368-369, 2004.

RAWAL, R.K.; TRIPATHI, R.; KATTI, S.B.; PANNECOUQUE, C.; DE CLERCQ, E.. Design, synthesis, and evaluation of 2-aryl-3-heteroaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as anti-HIV agentes. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v.15, p.1725–1731, 2007.

RAWAL, R.K.; TRIPATHI, R.; KATTI, S.B.; PANNECOUQUE, C.; DE CLERCQ, E.. Design and synthesis of 2-(2,6-dibromophenyl)-3-heteroaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as anti-HIV agentes. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v.43, p.2800-2806, 2008.

REDDY, C.S.; RAO, L.S.; DEVI, M.V.; KUMAR, G.R.; NAGARAJ, A.. Synthesis of some new 3-[5-(2-oxo-2H-3-chromenyl)-1,3-oxazol-2-yl]-1,3-thiazolan-4-ones as antimicrobials. **Chinese Chemical Letters**. v.21, p.1045–1048, 2010.

ROBBINS, S.L.; KUMAR, V.; COTRAN, R.S.. Pathologic Bases of Disease. Ed. Elsevier. 7^a Edition, p-1504, 2005.

RODRIGUEZ, L.A.G.; TACCONELLI, S.; PATRIGNANI, P.. Role of dose pontency in the prediction of risk of myocardial infarction associated with nosnteroidal anti-inflammatory drugs in the general population. **Journal of the American College of Cardiology**. v.52, p.1628-1636, 2008.

SAYERS, R. D.. Aortic aneurysm, inflammatory pathway and nitric. **Annals of the Royal College of Surgeons of England**, 84, 239-246, 2002.

SCARPIGNATO, C.; HUNT, R.H.. Nonsteroidal Antiinflammatory Drug-Related Injury to the Gastrointestinal Tract: Clinical Picture, Pathogenesis, and Prevention. **Gastroenterology Clinics of North America**. v.39, p.433-464, 2010.

SERDA, M.; MALECKI, J.G.; MROZEK-WILCZKIEWICZ, A.; MUSIOL, R.; POLANSKI, J.. Microwave assisted synthesis, X-ray crystallography and DFT calculations of selected aromatic thiosemicarbazones. **Journal of Molecular Structure**. v.1037, p.63-72, 2013.

SERPELL, M. G., MAKIN, F. A., HARVEY, A.. Acute pain physiology and pharmacological targets: The present and future. **Acute Pain**. v.1, n. 3, p. 31-47, 1998.

SETH, S., BISWAS, A., BANERJEE, A., CHATTOPADHYAY, S.K., GHOSH, S.. Biological activity of 4-(4-bromophenyl)-thiosemicarbazide. **Acta crystallographica. Section C, Crystal structure communications**. India. v.52, 2377-9, 1996.

SILVA, J.M., MENDONÇA, P.P., PARTATA, A.K.. Anti-inflamatórios não-esteróides e suas propriedades gerais. **Revista Científica do ITPAC**. Araguaína, v.7, n.4, 2014.

SILVA, R.R.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J.; LEÃO, M.A.. Efeito de flavonóides no metabolismo do ácido araquidônico. **Medicina Ribeirão Preto**. 35: 127-133, 2002.

SILVA, C.S.. Determinação da estrutura cristalina/molecular de um derivado da tiossemicarbazona com atividade farmacológica, tetralona-tiossemicarbazona. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Sergipe - UFS. 2013.

SILVA, T. F.. Abordagens da Química Medicinal para o Planejamento de Protótipos de Fármacos. **Revista Virtual de Química**. v.5, n.5, p.921-933, 2013.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X.; KIEMLE, D.J.. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos, 7ª edição, John Wiley and Sons, 2005.

SINGH, S. P.; PARMAR, S.S.; RAMAN, K.; STENBERG, V.I.. Chemistry and biological activity of thiazolidinones. **Chemical Reviews**, v. 81, n. 2, p. 175–203, 1981.

SINGH, S.P.; ANSARI, W.H.; LEMIERÈ, G.; JONCKERS, T.; DOMMISSE, R.. Bifunctional derivative of p,p-dichlorochalcone Part III. Synthesis and study for cytotoxic activity of a new compound, 2-[2,2-bis(4-chlorophenyl)ethyl]-2-(4chlorophenyl)-thiazolidin-4-one from p,p-dichlorochalcone . **Europe Journal of Medicina Chemistry**. v.37, p.63–67, 2002.

SRIVASTAVA, T.; HAQ, W.; KATTI, S.B.. Carbodiimide mediated synthesis of 4-thiazolidinones by one-pot three-component condensation. **Tetrahedron**. v.58, p.7619–7624, 2002.

SUTHAR, S.K.; JAISWAL, V.; LOHAN, S.; BANSAL, S.; CHAUDHARY, A.; TIWARI, A.; ALEX, A. T.; JOESPH, A.. Novel quinolone substituted thiazolidin-4-ones as anti-inflammatory, anticancer agents: Design, synthesis and biological screening. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v.63, p.589-602, 2013.

TEMPERINI, M.L.A.; SANTOS, M.R.; MONTEIRO, V.R.P.. Spectroscopic Study of the Isomerization of Z-Pyridine-2-formyl to E-Pyridine-2-formyl Thiosemicarbazone. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 51, n.9, p. 1517-1524, 1995.

TENÓRIO, R. P.; CARVALHO, C. S.; PESSANHA, C. S.; LIMA, J. G.; DE FARIA, A.R.; ALVES, A. J.; MELO, E. J. T.; GÓES, A. J. S.. Synthesis of thiosemicarbazone and 4-thiazolidinone derivatives and their in vitro anti-Toxoplasma gondii activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v.15, p.2575–2578, 2005.

TENÓRIO, R.P.; GÓES, A.J. S. ; LIMA, J.G.; FARIA, A.R.; ALVES, A.J.; AQUINO, T.M.. Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância Biológica. **Química Nova**. n.28, p.1030-1037, 2005.

THOMPSON, L. A.; ELLMAN, J. A.. Synthesis and Applications of Small Molecule Libraries **Chemical Reviews**. v.96, p.555, 1996.

TRIPATHI, A.C.; GUPTA, S.J.; FATIMA, G.N.; SONAR, P.K.; VERMA, A.; SARAF, S.K.. 4-Thiazolidinones: The advances continue... **European Journal of Medicinal -Chemistry**. v.72, p.52-77, 2014.

VANE, J.R., BOTTING, R.M.. Mechanism of Action of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs. **The American Journal of Medicine**. v.104, n.3, p:2S–8S, 1998.

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

VERGNOLLE, N.. Postinflammatory visceral sensitivity and pain mechanisms. **Neurogastroenterol Motil**, 20, 73–80, 2008.

VIANNA, H.R., SOARES, C.M.B.M., TAVARES, M.S., TEIXEIRA, M.M., SIMOES E SILVA. A.C.. Inflamação na doença renal crônica: papel de citocinas. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. v.33, n.3, p.351-364, 2011.

VICINI, P.; GERONIKAKI, A.; INCERTI, M.; ZANI, F.; DEARDEN, J.; HEWITT, M.. 2-Heteroarylimino-5-benzylidene-4-thiazolidinones analogues of 2-thiazolylimino-5-benzylidene-4-thiazolidinones with antimicrobial activity: Synthesis and structure–activity relationship. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v.16, p.3714–3724, 2008.

VIEGAS-JUNIOR, C. ET AL.. Molecular Hybridization: A Useful Tool in the Design of New Drug Prototypes. **Current Medicinal Chemistry**, v. 14, p.1829-1852, 2007.

VINEGAR, R.; SCHREIBER, W.; HUGO, R.. Biphasic development of carrageenin edema in rats. **The journal of pharmacology and experimental therapeutics**. v.166, n.1, p.96-103, 1969.

WERMUTH, C.G.. The practice of medicinal chemistry. 3ª edição. Londres. Editora: Academic Press. 2009.

WINTER, C.A., RISLEY, E.A. NUSS, G.W.. Carrageenin-induced edema in hind paw of rat as an assay for antiinflammatory drugs. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**. New York. v.3, p544–547, 1962.

WONG, G.K.T., MARSDEN, P.A.. Nitric oxide synthases: regulation in disease. **Nephrology Dialysis Transplantation**. Canada, v.11, p:215–220. 1996.

ZHANG, B.; LI, J.; ZHANG, D.; DING, Y.; DU, G.. Analgesic and Anti-inflammatory Activities of a Fraction Rich in Gaultherin Isolated from *Gaultheria yunnanensis*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**. v.30, p.465-469, 2007.

ZHOU, H.Y.; SHIN, E.M.; GUO, L.Y.; ZOU, L.B.; XU, G.H.; LEE, S.; ZE, K.R.; KIM, E.; KANG, S.S.; SHIK, Y. K.. Anti-inflammatory activity of 21(α , β) methylmelianodiols, novel compounds from *Poncirus trifoliata* Rafinesque. **European Journal of Pharmacology**. 572, 239–248, 2007.

ZILTENER, J.L.; LEAL, S.; FOURNIER, P.E.. Non-steroidal anti-inflammatory drugs for athletes: An update. **Annals of Physical and Rehabilitation Medicine**. v.53, p.278– 288, 2010.