

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica

Luiz Carlos Apolinário da Silva

**OBTENÇÃO DE NOVOS HETEROCICLOS PENTAGONAIS
IMIDAZOLIDÍNICOS E TIAZOLIDÍNICOS POTENCIALMENTE
ANTI-INFLAMATÓRIOS**

Recife, 2014

**OBTENÇÃO DE NOVOS HETEROCICLOS PENTAGONAIS
IMIDAZOLIDÍNICOS E TIAZOLIDÍNICOS ANTI-INFLAMATÓRIOS**

**Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Inovação
Terapêutica da Universidade Federal de
Pernambuco, para a obtenção do Título de
Doutor em Inovação Terapêutica**

Orientadora: Profa. Dra. Maria do Carmo Alves Lima

Co-orientadora: Dra. Anekécia Lauro da Silva

Recife, 2014

Silva, Luiz Carlos Apolinário da

Obtenção de novos heterociclos pentagonais imidazolidínicos e tiazolidínicos potencialmente anti-inflamatórios. / Luiz Carlos Apolinário da Silva - Recife: O Autor, 2014.

113 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Maria do Carmo Alves Lima.

Coorientadora: Anekécia Lauro da Silva

**Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco.
Centro de Biociências. Inovação Terapêutica, 2014.**

Inclui referências

1. Agentes antiinflamatórios 2. Tiazóis 3. Imidas I. Lima, Maria do Carmo Alves (orient.) II. Silva, Anekécia Lauro da (coorient.) III.
Título

615.1

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2017-401

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Sousa Ramos

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

Prof. Dr. César Augusto Souza de Andrade

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

Prof^a. Dr. Luiz Alberto Lira Soares

FOLHA DE APROVAÇÃO

NOME: DA SILVA, LUIZ CARLOS APOLINÁRIO

OBTENÇÃO DE NOVOS HETEROCICLOS PENTAGONAIS IMIDAZOLIDÍNICOS
E TIAZOLIDÍNICOS ANTI-INFLAMATÓRIOS

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários ao grau de Doutor em Ciências Farmacêuticas, na área de concentração de Síntese e Planejamento de Fármacos.

Aprovada em: 01/12/2014

Banca Examinadora

Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura

Universidade Estadual da Paraíba

Assinatura:_____

Prof. Dr. Tiago Bento de Oliveira

Instituto Federal de Alagoas

Assinatura:_____

Profa. Dra. Janaína de Albuquerque Couto

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Assinatura:_____

Profa. Dra. Maria do Carmo Alves de Lima

Universidade Federal da Pernambuco

Assinatura:_____

Dra. Anekécia Lauro da Silva

Pós-Doutoranda PNPd/CAPES

Assinatura:_____

DEDICO

*A meus pais Antônio Apolinário da Silva e
Alda Peixoto Apolinário.*

*Aos meus irmãos Luiz Cristiano e Andréa
Cristina, e a minha namorada Aracelly.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus que me deu saúde e sabedoria necessária para realização deste trabalho.

A Prof^a. orientadora e amiga Dr^a. Maria do Carmo Alves de Lima do LQIT do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco pela oportunidade concedida para desenvolver este trabalho, e sua maneira carinhosa de ensinar e incentivar nos momentos mais precisos.

A todos os amigos já fizeram ou ainda fazem parte da equipe de trabalho do LQIT do Departamento de Antibióticos (UFPE), Micheline, Ricardo, Manuela, Cleiton, Breno, Anekécia, Fabiana, Iris Trindade, Sandra Sarinho, e em especial a Aracelly. A todos pelos momentos de alegria e companheirismo.

A Ricardo Oliveira e Eliete Barros, da Central de Química Analítica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), pela realização dos espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio;

A todos os meus familiares que sempre me apoiaram. A todos, que de alguma forma, contribuíram de maneira direta ou indireta para minha formação acadêmica e concretização deste trabalho.

RESUMO

A resposta inflamatória é uma reação estereotipada, homeostática e geralmente benéfica do organismo quando há uma lesão. Quando o processo inflamatório é excessivo, aberrante ou prolongado e quando causa destruição do tecido, surge a necessidade da utilização de fármacos anti-inflamatórios. No Brasil são 1,5 milhões os portadores de osteoartrite. Segundo dados do Ministério da Saúde atingem cerca de 80% das pessoas acima dos 70 anos de idade, afetando diretamente a qualidade de vida deste paciente. As imidazolidina-2,4-dionas e as tiazolidina-2,4-dionas são sistemas heterocíclicos que pertencem a uma classe de compostos que apresentam diversas atividades farmacológicas, como: antitumoral, antimicrobiana, anti-inflamatória, antifúngica, antiparasitária, hipoglicemiante. Os novos derivados tiazolidínicos e imidazolidínicos foram sintetizados em três etapas que envolveram as reações de *N*-alquilação, condensação de Knoevenagel e adição de Michael. As estruturas químicas dos compostos obtidos foram devidamente comprovadas por espectroscopia de RMN¹H, RMN¹³C, IV, e espectrometria de MS. Foram realizados estudos de *docking* dos derivados tioxoimidazolidínicos e o derivado (**8d**) apresentou a mais alta afinidade (alto score) pelo receptor PPAR- γ . Com relação aos derivados tiazolidínicos tiveram sua atividade anti-inflamatória avaliada. E destacaram-se os derivados tiazolidínicos (**5a**), (**5b**), (**5c**), (**5f**) e (**5d**), os quais se mostraram eficazes em inibir a migração celular *in vivo* em teste de peritonite induzida por carragenina e os compostos (**5a**), (**5c**) e (**5d**) foram os mais ativos da série e mostraram-se significativamente eficientes. Os derivados tiazolidínicos reduziram significativamente os níveis de NO, sendo o composto e (**5b**) o mais eficiente da série. E o derivado (**5a**) apresentou-se eficaz no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético.

Palavras-chave: indometacina, tiazolidina, tioxoimidazolidina, PPAR γ .

ABSTRACT

The inflammatory response is stereotyped reaction, homeostatic in the body and generally beneficial when there is an injury. When the inflammatory process is excessive, abnormal or prolonged and cause tissue destruction, the necessity of the use of anti-inflammatory drugs. In Brazil there are 1.5 million people with osteoarthritis. According to Ministry of Health data reaches about 80% of people above 70 years of age, directly affecting the quality of life of this patient. The imidazolidine-2,4-diones and thiazolidine-2,4-diones are heterocyclic systems that belong to a class of compounds that exhibit diverse pharmacological activities such as antitumor, antimicrobial, antiinflammatory, antifungal, antiparasitic, hypoglycemics. The new derivatives imidazolidines and thiazolidines were synthesized in three steps involving the N-alkylation reactions, condensation Knoevenagel and Michael addition. The chemical structures of the compounds obtained were properly supported by ^1H NMR spectroscopy, ^{13}C NMR, IR, and MS spectrometry. Were performed docking studies of tioxoimidazolidines derivatives and derivative (**8d**) had the highest affinity (high score) by PPAR- γ receptor. With regard to derivatives thiazolidines had their anti-inflammatory activity evaluated. And stood out derivatives thiazolidines (**5a**), (**5b**), (**5c**), (**5f**) and (**5d**), which proved effective in inhibiting cell migration in vivo test peritonitis induced by carrageenan and the compounds (**5a**), (**5c**) and (**5d**) were the most active of the series and were significantly effective. Thiazolidines derivatives significantly reduced the levels of NO, and the compound being (**5b**), the most efficient series. And derivative (**5a**) is made effective in the writhing test induced by acetic acid.

Keywords: indomethacin, thiazolidine, tioxoimidazolidine, PPAR γ

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Esquema simplificado do processo inflamatório	22
Figura 2	Representação Estrutural da Imidazolidina ou Tiazolidina	27
Figura 3	Ordem crescente de acidez dos derivados imidazolidínicos	29
Figura 4	Reatividade das tiazolidinonas	30
Figura 5	Imidazolidinas e Tiazolidinas e suas ações biológicas	32
Figura 6	Derivados imidazolidínicos com atividade antibiótica	33
Figura 7	Derivado 3-benzil-5-(4-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona	33
Figura 8	Estrutura do PT-31 e seu análogo a clonidina	34
Figura 9	5-benzilideno-3-(4-fluoro-benzil) -4-tioxo-imidazolidin-2-ona substituídos com atividade anti-inflamatória	35
Figura 10	Derivado imidazolidínico com atividade anti-inflamatória	35
Figura 11	Derivados tiazolidínicos com ação antimicrobiana	36
Figura 12	Rosiglitazona e Pioglitazona	36
Figura 13	Derivados arilideno-tiazolidina-2,4-dionas	37
Figura 14	Derivado SF29	38
Figura 15	Derivados 6b e 8b, em comparação com a Troglitazona	39
Figura 16	Derivados tiazolidínico sintetizados por Azizmohammadi	40
Figura 17	Estrutura geral dos ésteres 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila	44
Figura 18	Estrutura geral dos derivados 5-benzilideno-2-tioxoimidazolidin-4-ona	45
Figura 19	Estrutura Geral dos Derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-sulfonil-benzil)-2-tioxo-imidazolidina-4-ona	45
Figura 20	Estrutura da 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona	46
Figura 21	Estrutura dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona	47
Figura 22	Espectro de IV do derivado imidazolidínico	68
Figura 23	Ressonância Magnética Nuclear do derivado imidazolidínico	69
Figura 24	Superposição das soluções de <i>docking</i> para as 7 imidazolidinas (modelo lines, várias cores) e da rosiglitazona (modelo stick, em vermelho) para o receptor PPAR- γ (modelo cartoon). A rosiglitazona co-cristalizada (experimental) também está	70

representada (modelo stick, em azul). Todas as figuras foram geradas usando o programa PyMOL

Figura 25	Visão detalhada da superposição (Figura 24) das soluções de docking para as 7 imidazolidinas (modelo lines, várias cores) e da rosiglitazona (modelo stick em vermelho) no sítio ativo do receptor PPAR- γ (modelo cartoon). A rosiglitazona co-cristalizada (experimental) também está representada (modelo stick em azul)	70
Figura 26	Solução de docking para a molécula (8a) (modelo stick) e os resíduos importantes (modelo lines em verde) do sítio ativo da PPAR- γ . A rosiglitazona co-cristalizada (experimental) também está representada (modelo lines em azul)	71
Figura 27	Solução de docking para a molécula (8b) (modelo stick) e os resíduos importantes (modelo lines em verde) do sítio ativo da PPAR- γ . A rosiglitazona co-cristalizada (experimental) também está representada (modelo lines em azul)	72
Figura 28	Solução de docking para a molécula (8d) (modelo stick) e os resíduos importantes (modelo lines em verde) do sítio ativo da PPAR- γ . A rosiglitazona co-cristalizada (experimental) também está representada (modelo lines em azul)	73

LISTA DE ESQUEMAS E TABELAS

Esquema 1	Síntese de Prostaglandinas	22
Esquema 2	Reação de tionação da tiazolidina	29
Esquema 3	Reações de <i>N</i> -alquilação	30
Esquema 4	Reação de Knoevenagel de imidazolidina-2,4-diona	31
Esquema 5	Derivados 2-tioxoimidazolidin-4-onas e tiazolidina-2,4-dionas	42
Esquema 6	Mecanismo reacional da síntese da tiazolidina-2,4-diona	52
Esquema 7	Mecanismo reacional de <i>N</i> -alquilação	53
Esquema 8	Mecanismo de condensação	54
Tabela 1	Classificação dos AINES com base na sua estrutura química	26
Tabela 2	Com as interações intermoleculares observadas para as soluções de <i>docking</i> em PPAR- γ , juntamente com seus respectivos scores. L.H.: Ligação de Hidrogênio. C.H.: Contatos Hidrofóbicos	74
Tabela 3	Número de PMNL (média $\pm$ desvio padrão) e percentual de inibição da inflamação pelos derivados Tiazolidínicos (5a), (5c); (5d); (5b); (5f); (5e), no teste da peritonite induzida por carragenina	76
Tabela 4	Número de contorções abdominais (média $\pm$ desvio padrão) e percentual de inibição do derivado tiazolidínico (5a), no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético	78

SUMÁRIO

1. Introdução	16
2. Objetivos	19
2.1. Objetivo geral	19
2.2. Objetivos específicos	19
3. Revisão de Literatura	21
3.1. Anti-inflamatórios	24
3.1.1. Classificação dos AINES	26
3.2. Imidazolidinas e Tiazolidinas	27
3.2.1. Reatividade Das Imidazolidinas e Tiazolidinas	30
3.2.1.1. <i>N</i> -alquilação	30
3.2.1.2. Condensação	31
3.3. Atividade Biológica dos Derivados Imidazolidínicos e Tiazolidínicos	32
4. Síntese e Comprovação Estrutural Dos Derivados Imidazolidínicos E Tiazolidínicos Substituídos	42
4.1. Parte Química	43
4.1.1. Materiais: Reagentes e Equipamentos	43
4.1.1.1. Reagentes	43
4.1.1.2. Equipamentos	43
4.1.2. Metodologias de Síntese	44
4.1.2.1. Método Geral de Síntese dos Ésteres 2-Ciano-3-fenil-acrilatos de etila	44
4.1.2.2. Método Geral de Síntese dos Derivados intermediários 5-benzilideno-2-tioxoimidazolidin-4-ona	44
4.1.2.3. Método Geral de Síntese dos Derivados Finais	45
4.1.2.4. Método Geral de Síntese dos Derivados intermediários 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona	46
4.1.2.5. Método Geral de Síntese dos Derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona	46
5. Estudo de Modelagem Molecular	47
5.1. Metodologia	47
6. Parte biológica	48
6.1. Material	48

6.2. Métodos	48
6.2.1. Peritonite Induzida por Carragenina	48
6.2.2. Contorções Abdominais Induzidas por Ácido Acético	49
6.2.3. Determinação dos Níveis de Óxido Nítrico	50
6.3. Análise dos resultados	50
7. Resultados e Discussão	52
7.1. Estudo químico	52
7.1.1. Mecanismos reacionais	52
7.1.1.1.1. Tiazolidina-2,4-diona	52
7.1.1.1.2. Derivados <i>N</i> -alquilados	53
7.1.1.1.3. Derivados condensados	54
7.2. Análise Espectroscópica	55
7.2.1. Derivados Tiazolidínicos	55
7.2.2. Derivados Imidazolidínicos	60
7.2.3. Resultados de <i>docking</i>	69
7.3. Parte Biológica	75
7.3.1. Peritonite Induzida por Carragenina	75
7.3.2. Contorções Abdominais Induzidas por Ácido Acético	77
7.3.3. Determinação dos Níveis de Óxido Nítrico	79
8. Conclusões	81
9. Referências	83

INTRODUÇÃO



1. INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, varias civilizações possuíam coleções de produtos naturais que eram usados como tratamentos para os diversos males. No final do século XIX, quando a atuação do químico orgânico sintético passou de basicamente três atividades: elucidação estrutural de compostos naturais, investigação de reações básicas e preparação de novas substancias químicas, para a busca por medicamentos menos tóxicos, que resultou na introdução de substâncias sintéticas na terapêutica e seu uso foi amplamente disseminado no século XX (THOMAS, 2003).

Nos dias atuais, existe uma busca incessante por novos compostos úteis no tratamento de diversas doenças. Esse objetivo é foco nos centros de pesquisas, nas universidades e nas indústrias farmacêuticas, visando desenvolver novos princípios ativos mais eficazes e menos tóxicos que podem ser obtidos através da síntese de novos compostos ou por modificações estruturais em moléculas já conhecidas, direcionados pela relação estrutura química e ação biológica (MICHAELLA, 2009).

Os fármacos são substâncias usadas para impedir ou curar doenças em homens e animais. A introdução de novos fármacos na terapêutica é necessária para o aperfeiçoamento do tratamento de doenças já existentes ou recém-identificadas ou, ainda, para a implementação de tratamentos mais seguros e eficazes (OLIVEIRA et al., 2008).

O desenvolvimento de um fármaco pode surgir através de experimentos com produtos naturais ou sintéticos, que tenham similaridade com compostos, com reconhecida atividade para outras doenças ou através de alvos metabólicos específicos para uma determinada célula ou órgão (FIOCRUZ, 2009).

Os químicos orgânicos lançam mão de várias estratégias para introduzir novos fármacos na terapêutica, porém as modificações na estrutura química de uma molécula se mostra a medida mais promissora, já que podem alterar significativamente suas propriedades físicas, químicas e biológicas e também o mecanismo de ação em nível molecular. Estas consistem na transformação química de moléculas conhecidas, com o objetivo de aumentar a potência e segurança,

garantindo, assim, um melhor perfil farmacocinético e farmacodinâmico (WERMUTH, 2004). Nos últimos anos se tem verificado um crescente interesse da comunidade científica nas classes de compostos heterocíclicos de origem sintética. Diversas moléculas sintéticas podem ser obtidas a partir de derivações de anéis heterocíclicos, devido à sua potencialidade como protótipo para o desenvolvimento de novos fármacos.

Dados recentes demonstraram que a inflamação está associada a várias patologias, dentre elas: diabetes, obesidade, doença de Parkinson e doença de Alzheimer, câncer, e outros distúrbios (FRANKS E SLANSKY, 2012; EIKELENBOOM et al, 2012.; DURRENBERGER et al, 2012.; KARALIS et al., 2009). Sabendo da severidade dos danos causados pelo processo inflamatório crônico, surgiram as drogas anti-inflamatórias não esteroides (AINES) (MCCORMACK, 2011). No entanto, tratamento com AINES pode ser prejudicado pela ocorrência de efeitos adversos (SOSTRES et al., 2010), o que levou a uma remoção de certos agentes anti-inflamatórios da clínica.

Neste contexto, os núcleos imidazolidínicos e tiazolidínicos destacam-se na literatura por suas potenciais aplicações terapêuticas tais como: antitumoral, antimicrobiana, anti-inflamatória, antifúngica, antiparasitária, hipoglicemiante, entre outras.

Desta forma, desenvolvemos a síntese, caracterização estrutural e avaliação de anti-inflamatória de sete derivados tioxoimidazolidínicos e seis derivados tiazolidínicos. Os compostos obtidos foram caracterizados através de técnicas espectroscópicas como a ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C além de infravermelho, tendo suas estruturas confirmadas. Após a caracterização os derivados foram submetidos a avaliação do potencial anti-inflamatório.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Sintetizar, caracterizar estruturas e avaliar potencial atividade anti-inflamatória de novas moléculas tioxoimidazolidínicas e tiazolidínicas.

2.2. Objetivos específicos

- Sintetizar as novas moléculas 3-benzil-5-benzilideno-2-tioxoimidazolidin-4-ona (**8a-g**) e 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona (**5a-e**);
- Caracterizar estruturalmente os compostos sintetizados por métodos espectrométricos, tais como infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênios e carbono 13 e espectrometria de massas;
- Avaliar através de estudos de *docking* molecular usando a estrutura da enzima Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR γ) os derivados tioxoimidazolidínicos (**8a-g**);
- Avaliar a atividade anti-inflamatória dos compostos sintetizados através de peritonite induzida por carragenina em camundongos;
- Determinar a concentração de NO no exsudato inflamatório de animais tratados com os compostos em estudo;
- Avaliar a atividade antinociceptiva dos derivados tiazolidínicos no modelo experimental de nocicepção induzida por ácido acético.

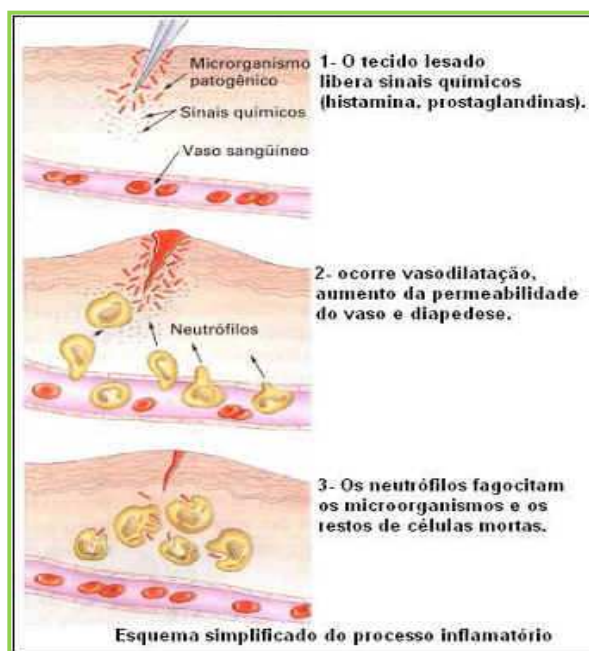
REVISÃO DA LITERATURA

3. Revisão de Literatura

A inflamação é um mecanismo evolutivo de grande benefício para a manutenção da homeostase do organismo, que pode ser dividido em três fases, que vai da permeabilidade vascular aumentada, resultando em edema e inchaço, que é seguido por infiltração celular, e finalmente, os fibroblastos proliferam, fornecendo novos tecidos conjuntivos para reparar a lesão. A resposta inflamatória pode ser apropriada, fisiológica e necessária a presença de danos celulares ou stress (ABBAS *et al.*, 2012.; MILLER *et al.*, 2009). Os processos inflamatórios são as respostas a diferentes estímulos, tais como agentes patogênicos, as células danificadas ou antígenos em inflamação crônica ou doenças auto-imunes (PEPPA *et al.*, 2011).

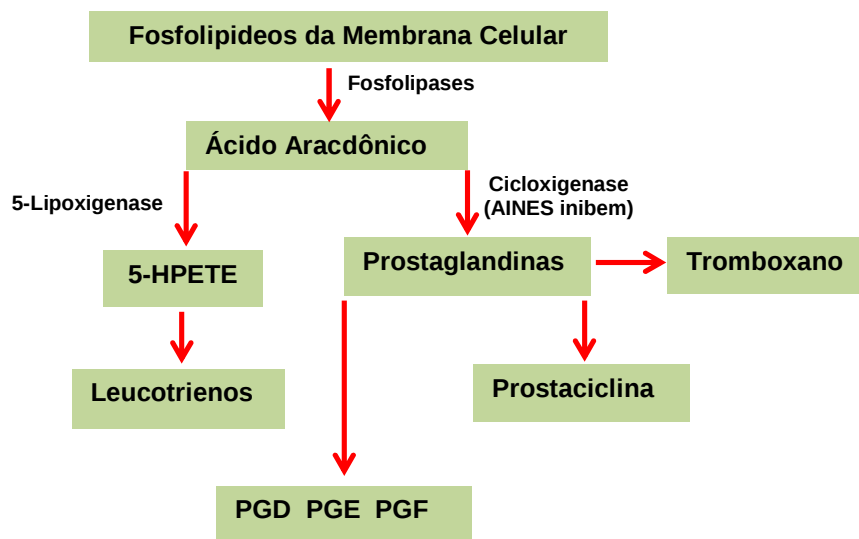
Tanto a inflamação aguda como a crônica desempenha um papel essencial na restauração da homeostase (IWASAKI, 2010). No entanto, os mecanismos pelos quais leucócitos ativados combatem os antígenos e células tumorais e elimina os restos de tecido em áreas de inflamação levam a produção de oxidantes e/ou citocinas citotóxicas (DAVI, 2005; CAIN, 2009). A cascata inflamatória é caracterizada por uma resposta inicial imediata, após a detecção de antígenos que conduz o recrutamento dos neutrófilos para o local da dano através da ação de mediadores (Figura 1), isto é seguido pela subsequente invasão de monócitos / macrófagos, que se tornam o principal tipo de célula imunológica presente após 48 horas (FRODE, 2001; BERGER, 2002). A ativação de neutrófilos leva à secreção de citocinas que amplificam a resposta inflamatória, resultando não apenas na infiltração de linfócitos, mas também em alterações vasculares, edema e destruição enzimática. Granulócitos migram para os locais de inflamação e promovem a geração de metabolitos de ácido araquidônico e leucotrienos por lipoxinas (SZELES, 2007).

Figura 1- Esquema simplificado do processo inflamatório



A resposta inflamatória libera mediadores inflamatórios, incluindo fatores químicos, ou seja, histaminas, prostaglandinas, bradicinina, serotonina, e leucotrienos. As prostaglandinas e os tromboxanos são produzidos através da ação enzimática de fosfolipase A2 (PLA2) e ciclo-oxigenase-1 e 2 (COX-1 e COX-2) sobre o ácido araquidônico (AA) (Esquema 1). As prostaglandinas tem um tempo de vida curto *in vivo*, porque são metabolizadas rapidamente por oxidação da enzima citosólica chamada de 15 hidroxiprostaglandina desidrogenase (15-PGDH) (WU *et. al*, 2010).

Esquema 1: Síntese de Prostaglandinas



Esses fatores químicos produzem a resposta inflamatória local como por exemplo, a vasodilatação, a estimulação da dor, bem como atrair macrófagos. Os macrófagos liberam citocinas, tais como Fator de necrose tumoral (TNF- α), IL-1 e IL-6 (Interleucinas), que prolongam ainda mais a resposta inflamatória sistêmica e inicia a atração sistemática de leucócitos e linfócitos. (JOSHUA *et al.*, 2014).

Nos seres humanos, tanto a COX-1 como a COX-2 são expressas em muitos tecidos, apesar de o pensamento inicial em que a COX-2 estaria totalmente ausente em tecidos normais, mas apenas induzida por estímulos inflamatórios (GOSEPATH *et al.*, 2004; ZIDAR *et al.*, 2009). Uma alteração no equilíbrio das atividades no corpo entre a COX-1 e COX-2 tem sido sugerido, pelo menos em parte, para a manifestação dos efeitos adversos, incluindo complicações gastrointestinais, reduzida produção renal, distúrbio hemorrágico e eventos cardiogênicos (MEADE *et al.*, 1993). Alguns anos atrás uma nova variante da COX-1, denotada por COX-3 tem sido identificado, com seu papel pouco compreendido (CHANDRASEKHARAN *et al.*, 2002; DAVIES *et al.*, 2004).

Outro fator importante relacionado à inflamação são os receptores ativadores da proliferação dos peroxissomos (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor, PPAR), por serem receptores nucleares que desempenham papel importante na regulação e controle do desenvolvimento da inflamação (HONG, 2008). Essas substâncias endógenas também atuam no processo inflamatório, só que negativamente para deter o processo (JI *et al.*, 2011; SERHAN, 2010; PERRETTI E D'ACQUISTO, 2009; DUFTON PERRETTI, 2010; HEBEDA *et al.*, 2011). De acordo com Fajas *et al.*, 2001 achavam que a atividade do PPAR fosse limitada ao metabolismo lipídico e homeostase da glicose. Porém, outros estudos mostraram que a ativação do PPAR controla negativamente vias transcricionais essenciais a síntese de moléculas pró-inflamatória, tais como as citocinas e as moléculas de adesão envolvidos na migração de neutrófilos para focos inflamatórios (DI PAOLA *et al.*, 2010; PARK *et al.*, 2012; JUNGBAUER & MEDJAKOVIC, 2012; CHACKO *et al.*, 2011). Alguns estudos demonstraram a relação da ativação dos PPARs com a

inibição da COX-2 para o tratamento da inflamação e do câncer (PANCIONE *et al.*, 2009; MEYER *et al.*, 2009). Esse fato ficou evidenciado em outro estudo quando o uso associado de agonistas de PPAR e inibidores de COX-2 melhoraram os resultados terapêuticos, especialmente por redução da proliferação de células tumorais (HAZRA *et al.*, 2008; BILITY *et al.*, 2010.; SUN *et al.*, 2009). O que torna essas estruturas alvos relevantes no combate de várias patologias.

3.1. Anti-inflamatórios

Os anti-inflamatórios se apresentam como um grupo heterogêneo de moléculas, dentre eles merece destaque os anti-inflamatório não esteroides (AINES), que apesar de muitas vezes não estarem relacionadas quimicamente, possuem ações terapêuticas em comum, tais como: atividade analgésica, anti-inflamatória e antipirética. Esses efeitos tornam essa classe de fármacos a primeira escolha para o tratamento de doenças inflamatórias como, por exemplo, desordens reumáticas (FIORUCCI *et al.*, 2001).

A história do desenvolvimento dessa classe de medicamento é fascinante e remonta ao século XIX. O ácido acetilsalicílico, um dos primeiros dessa classe, foi sintetizado em 1897 por Felix Hoffman, dois anos mais tarde, a molécula foi comercializado pela empresa Bayer sob o nome de "aspirina". Ela foi seguida em 1960 pela indometacina e o ibuprofeno. Desde então, inúmeros compostos com efeito anti-inflamatório semelhante foram sintetizados e comercializados (MAREK *et al.*, 2013).

Estima-se que, globalmente, cerca de sete mil milhões de dólares são gastos em AINES por ano, que corresponde a 2,5% de todos os dólares gastos em prescrição do mundo. Milhões de AINES são prescritos anualmente nos EUA, e cerca de 30 milhões são tomadas sem receita médica. Entre os vários AINES, o diclofenaco de sódio ou potássio é o AINE mais utilizado em todo o mundo (MCGETTIGAN *et. al.*, 2013; PALMAS, 2014).

No entanto, com o sucesso vem também os problemas, e a eficácia clínica dos AINES que tem sido acompanhado por uma variedade de efeitos colaterais durante terapias de curto e longo prazo. A maioria desses compostos são ácidos com uma biodisponibilidade elevada. Eles são altamente ligados às proteínas plasmáticas e são metabolizados pelo fígado (KNIGHTS *et al.*, 2009). Seu uso na maioria das vezes se dá por doses terapêuticas em períodos curtos de tempo e, são geralmente, bem tolerados (ESSEX *et al.*, 2013).

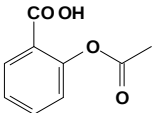
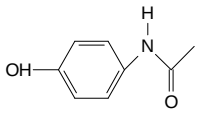
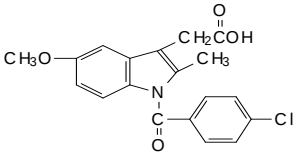
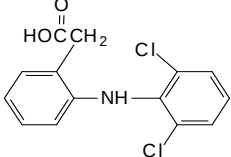
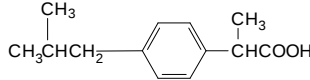
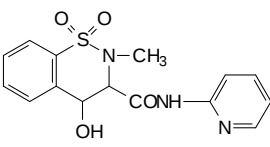
Os AINEs são usados para aliviar a dor e o desconforto associado com doenças crônicas, como a artrite reumatóide (RA) (PODDUBNYY *et al.*, 2009) e osteoartrite (OA) (MCCARBERG, 2009). Alguns dos AINEs, incluindo o ácido acetilsalicílico, são também indicados para outras doenças como a artrite juvenil, artrite psoriática, síndrome de Reiter, lúpus eritematoso sistêmico, febre reumática, trombose, pericardite, doença de Kawasaki, gota, artrite gotosa, espondilite anquilosante, e dismenorréia (AMERICAN SOCIETY OF HOSPITAL 2010).

Os AINES tiveram o mecanismo de ação descrito pela primeira vez em 1971 por Vane e Piper, que demonstraram que os AINES realmente exercem seus efeitos através da inibição da biossíntese das enzimas COX e consequentemente das prostaglandina e prostanóides (CONAGHAN, 2012). As isozimas da COX (COX-1 e COX-2) são as primeiras a converter o ácido araquidônico em prostaglandinas (PG), que após sucessivas transformações dão origem aos prostanóides primários, incluindo as prostaglandinas PGD₂, PGE₂, PGF₂, PGI₂ e tromboxano A₂. Os efeitos analgésicos, antipiréticos, anti-inflamatórios e adversos dos AINES são causados por inibição da enzima COX (HARIRFOROOSH E JAMALI, 2009; ROBERTS, 2001) e consequente bloqueio da formação de PG e de compostos relacionados com redução na produção de PGE₂ e PGI₂ (FITZGERALD, 2003).

3.1.1. Classificação dos AINES

Os AINES são classificados com base na sua estrutura química (Tabela 1) ou com base na inibição seletiva de enzimas ciclooxigenase. A seletividade da COX-2 pelos AINES é relatada de forma diferente, dependendo do método utilizado, e são divididos em dois grupos principais: inibidores seletivos ciclooxigenase (COX) -2 (coxibes) e AINES não seletivos (JAMALI, 1998).

Tabela 1: Classificação dos AINES com base na sua estrutura química

Classe química	Composto	Estrutura Química
Salicilatos	Ácido acetilsalicílico	
Derivados do <i>p</i> -aminofenol	Paracetamol	
Ácido indolacético	Indometacina	
Ácidos heteroaril acéticos	Diclofenaco	
Ácidos arilpropionícos	Ibuprofeno	
Ácidos enólicos	Piroxicam	

Alcanonas	Nabumetona	
-----------	------------	--

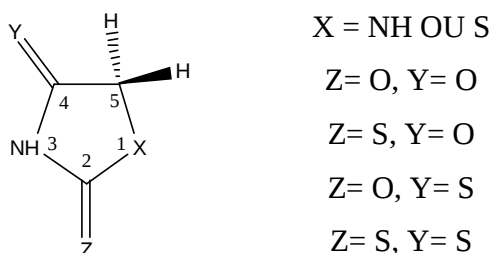
Os AINES tradicionais têm uma série de efeitos adversos que afetam principalmente os sistemas gastrointestinal, renal e cardiovascular. O mais comum é relacionado ao trato digestivo. Dor abdominal, que ocorre em 10% a 20% de indivíduos, após alguns dias ou semanas após a ingestão de AINES diárias, é o sintoma habitual de gastrite induzida por AINES (MAREK L *et al.*, 2013)

Com a maior duração do tratamento e na presença de comorbidades associadas, riscos maiores podem surgir. No geral, o tratamento com AINEs é complexo, pois envolve uma decisão com base em risco e benefício de acordo com a condição atual do paciente. Todos esses aspectos limitam o uso dos AINES não seletivos. Nesse contexto surgiu a necessidade da introdução de medicamentos com uma maior eficácia e menos efeitos secundários (WAGNER *et al.*, 2003; ESSEX *et al.*, 2013).

3.2. Imidazolidinas e Tiazolidinas

O anel imidazolidínico e tiazolidínico presente em muitas moléculas que apresentam um efeito biológico são denominados compostos heterociclos de 5 membros contendo três átomos carbonos, onde dois apresentam-se como grupamentos carbonílicos ou tiocarbonílicos, um átomo de nitrogênio na posição três e na posição 1 pode ser um átomo de enxofre que corresponde ao núcleo tiazolidínico ou o grupamento NH que corresponde a imidazolidina (Figura 2).

Figura 2-Representação Estrutural da Imidazolidina ou Tiazolidina



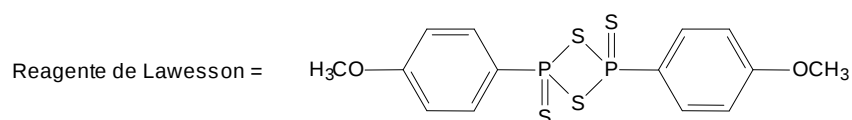
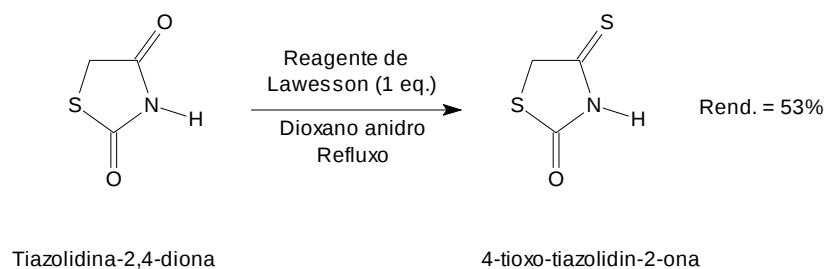
A imidazolidina teve sua síntese iniciada por Bayer em 1861 quando esse pesquisava as reações do ácido úrico (FINKBEINER, 1965; BATEMAN, 1980). Porém só com Klason em 1890, que surgiu no laboratório a primeira tioimidazolidina sintética, através do aquecimento do hidrocloreto de etil-aminoacetato em presença de tiocianato de potássio. Mais tarde, outros trabalhos foram publicados, apresentando novos métodos de preparação desta substância. E a tiazolidina teve a sua síntese descrita inicialmente por Brown em 1961, assim como Singh et al. em 1981, apresenta em seus trabalhos modos de preparação através de reações de ciclização envolvendo ácido α -aceto-halogenado ou ácido α -mercaptoacético com tiouréia (PANICO, POWELL & RICHER, 1993 *apud* LIESEN, 2008).

Vários métodos de tionação destes núcleos foram descritos na literatura. Klason (1890), foi o primeiro cientista a conseguir no laboratório a primeira tioimidazolidina sintética, pelo aquecimento do hidrocloreto de etil-aminoacetato em presença de tiocianato de potássio. Mais tarde, outros trabalhos foram publicados, apresentando novos métodos de preparação. Até que em 1966 Edward, relatou em seu artigo de revisão sobre tioimidazolidinas, mudanças produzidas pela substituição do oxigênio por enxofre, principalmente sobre o aumento da polarização do grupo tiocarbonila.

A tiazolidinonas podem ser tionadas utilizando-se o reagente de Lawesson, denominado quimicamente 1,3-ditio-2,4-difosfatano-2,4-dissulfeto-2,4-bis-(4-metóxfenil), como descrito por Andrade et al. em 2002, para a síntese de tioxotiazolidina a partir de tiazolidina-2,4-diona, em dioxano anidro (Esquema 2). A velocidade desta reação é dependente da densidade eletrônica existente na carbonila e limitada pela temperatura (CLAUSEN, THORSEN, & LAWESSON, 1981). Em compostos contendo duas ou mais carbonilas, sofrerá primeiramente tionação aquela que for mais rica em elétrons. A conversão do grupo carbonila em tiocarbonila é atribuída a íldeos de ditiofosfina ($p\text{-CH}_3\text{O-C}_6\text{H}_4\text{-PS}_2$), formados a partir da quebra do anel de quatro membros, contendo átomos de fósforo e enxofre alternados, existente no reagente de Lawesson (CAVA & LEVINSON, 1985). O mecanismo

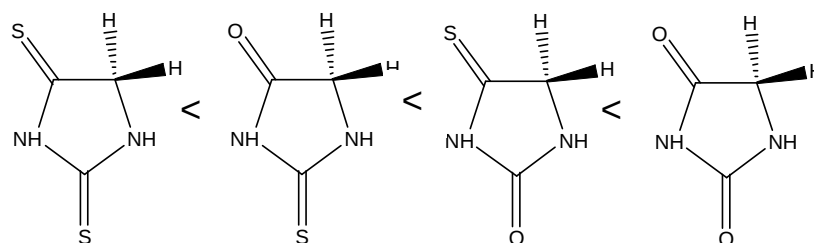
reacional envolve um intermediário de quatro membros semelhante à oxafosfetana, observada na reação de Wittig, para formação de alquenos a partir de aldeídos e cetonas (SOUSA *et al.*, 2005; *apud* LIESEN *et al.*, 2008).

Esquema 2: Reação de tionação da tiazolidina



As imidazolidinas-2,4-dionas são ácidos fracos, devido à dissociação do próton ligado ao átomo de nitrogênio na posição 3. De acordo com Edward e Chin (1963) dentre os derivados imidazolidínicos abaixo mostrados as imidazolidina-2,4-ditionas são as que apresentam um caráter ácido mais fortes como mostra a figura 3

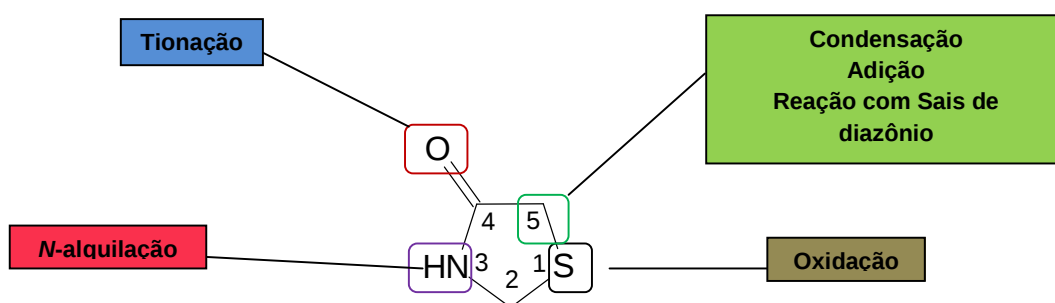
Figura 3: Ordem crescente de acidez dos derivados imidazolidínicos



3.2.1. Reatividade das Imidazolidinas e Tiazolidinas

Os núcleos imidazolidínicos e tiazolidínicos, são suscetíveis a muitas reações, como relata López e Trigo (1985), por exemplo a figura 4 correlaciona os tipo de reações e suas possíveis localizações no anel tiazolidínico. Vale ressaltar que as mesmas reações são possíveis nas imidazolidinas.

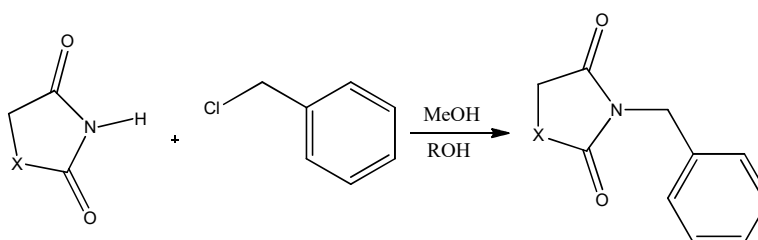
Figura 4: Reatividade das tiazolidinonas



3.2.1.1. N-alquilação

De acordo com Orazi et al. (1965) as reações de N-alquilação podem ocorrer na posição 3 com haletos de alquila tanto com solventes próticos como apróticos (Esquema 3). Como relatado em 1974 por Orazi et al., alquilações em N3 são conhecidas em compostos imidazolidínicos e tiazolidínicos, e ocorrem em condições básicas (GOES *et al.*, 2004; ARAÚJO *et al.*, 2011).

Esquema 3: Reações de N-alquilação

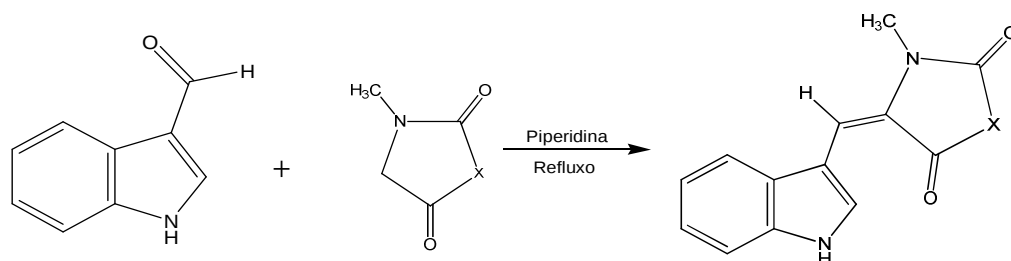


As metodologias descritas na literatura diferem apenas na base e no solvente utilizados na formação dos sais intermediários, dentre os métodos encontrados na literatura, constam as reações com carbonato de potássio e dimetilformamida (XIAO-FANG *et al.*, 2003); hidróxido de potássio e etanol (SONAWANE e BARI, 2011); hidróxido de sódio e etanol (BARROS *et al.*, 2010); metóxido de sódio e metanol (MADHAVAN *et al.*, 2006), hidreto de sódio e tetrahidrofurano (GOES *et al.*, 2004), formando ânion que ataca facilmente os haletos de alquila (BARROS *et al.*, 2010; ARAÚJO *et al.*, 2011).

3.2.1.2. Condensação

Em 1951, Phillips e Murphy relataram em seus trabalhos os principais fatores que causavam influência na reatividade das reações de condensação com um grupo metileno livre na posição 5, a susceptibilidade do carbono da carbonila a ataques nucleofílicos; a reatividade do composto que apresenta o grupo metileno; a força da base catalítica; as condições da reação, como meio reacional, temperatura e tempo; o grau relativo de estabilização por ressonância dos produtos, e fatores estéricos. Mas, as reações mais frequentes são as reações de Knoevenagel e as reações de adição de Michael, na qual o grupo metileno livre da posição 5 facilmente condensa com aldeídos, resultando na formação de uma insaturação (Esquema 4) (MEUSEL & GÜTSCHOW, 2004).

Esquema 4: Reação de Knoevenagel de imidazolidina-2,4-diona



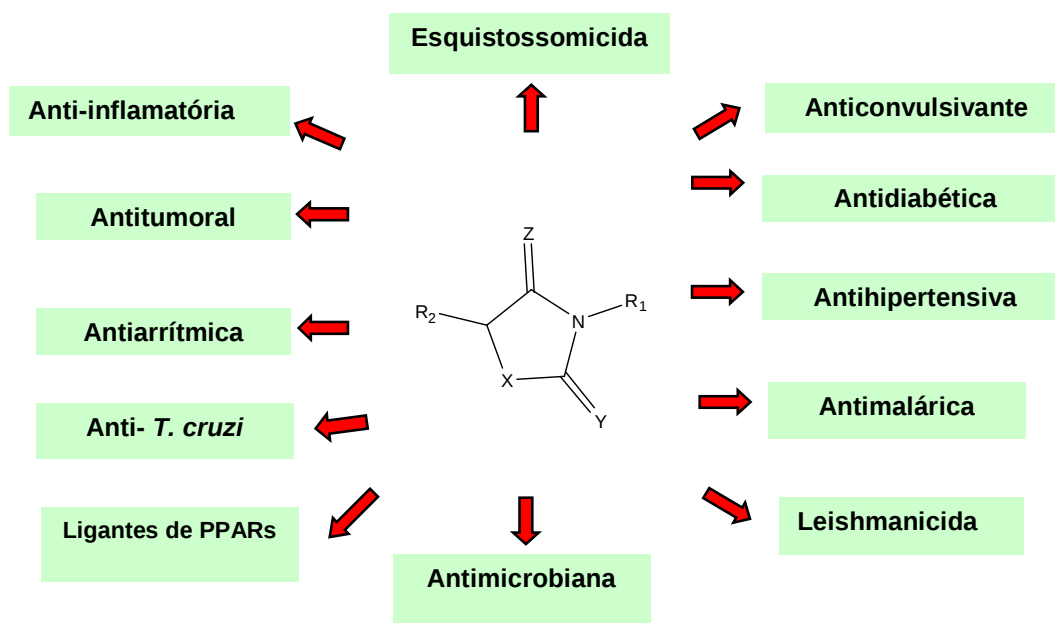
A reação de adição de Michael dará origem a derivados substituídos na posição 5, trata-se da reação entre compostos com metileno ativo que reagem com compostos carbonílicos α , β -insaturados. Esta reação inicia-se da formação de um carbânion com posterior introdução de um composto α , β -insaturado seguindo para condensação, onde a reação se equilibra com uma polimerização após acidificação do meio (McLEOD, 1983), (MOURÃO *et al.*, 2005)

Estas reações de Knoevenagel e de Michael podem ser catalisadas por trietilamina, dietilamina, ácido acético e acetato de sódio, morfolina, piperidina, entre outros. O uso de catalisadores orgânicos surge também como alternativa das reações de condensação, e nesse sentido diversos estudos vêm utilizando a biocatálise em reações de condensação (PRATAP *et al.*, 2011; SONOWANE *et al.*, 2010. Sonowane *et al.* 2010) realizaram estudo com a utilização de lipase como catalisador em condensação de Knoevenagel e obteve excelentes resultados.

3.3. Atividade Biológica dos Derivados Imidazolidínicos e Tiazolidínicos

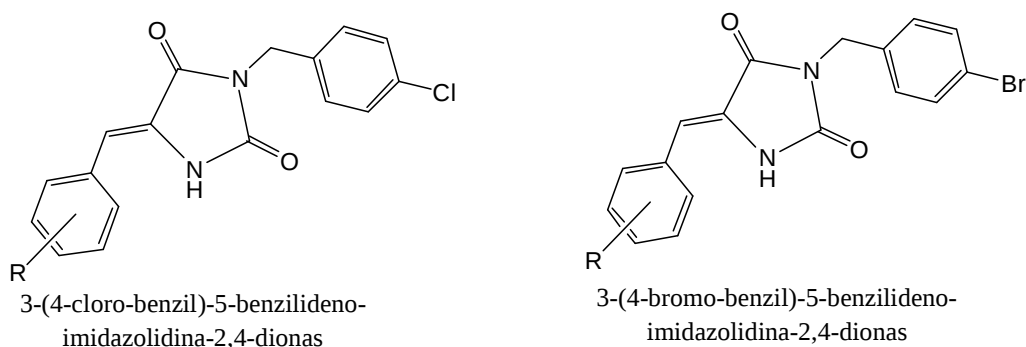
Os derivados imidazolidínicos e tiazolidínicos destacam-se por apresentarem ação biológica diversificada (Figura 5).

Figura 5: Imidazolidinas e Tiazolidinas e suas ações biológicas



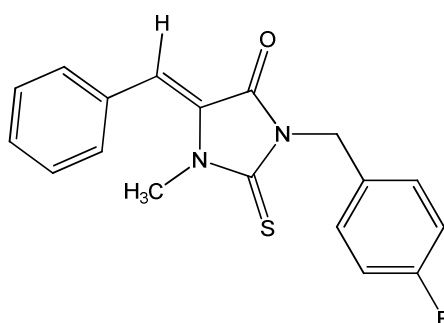
Em 1992, Lima com os derivados 3-(4-cloro-benzil)-5-benzilideno-imidazolidina-2,4-dionas, assim como Amorim et al. também no mesmo ano com os derivados 3-(4-bromo-benzil)-5-benzilideno-imidazolidina-2,4-dionas (Figura 6) estudaram a atividade antimicrobiana e antifúngica destes compostos, com êxito para ambos autores devido a atividade de tais produtos frente à *Candida albicans*.

Figura 6: Derivados imidazolidínicos com atividade antibiótica



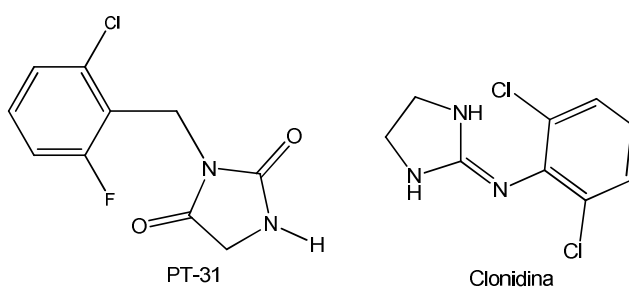
Em 2005, Albuquerque et al., avaliaram a atividade esquistossomicida de derivados tioxoimidazolidínicos, onde os vermes adultos de *S. mansoni* tiveram a mobilidade reduzida após 24 horas de contato com os derivados tioxoimidazolidínicos. Também foi observado que os compostos 3-benzil-5-(4-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-onas substituídos (Figura 7) demonstraram baixos níveis de toxicidade quando administrados em altas doses nos camundongos.

Figura 7: Derivado 3-benzil-5-(4-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona



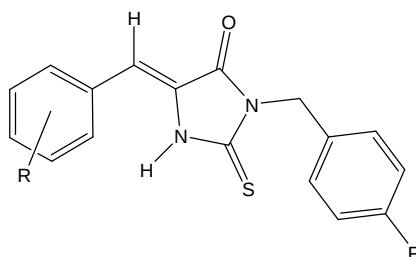
Ainda em 2010 Pitta et. al. patentearam uma série de compostos químicos análogos da clonidina, a 3-benzil-imidazolidina-2,4-diona substituídos na posição 2 e/ou 6 do anel benzílico por halogênios, como na molécula 3-(2-cloro-6-fluorobenzil)-imidazolidina-2,4-diona (PT-31), e seu uso terapêutico como analgésico, sedativo e adjuvante de outros analgésicos (Figura 8). A interação entre o PT-31 e os receptores α_2 -adrenérgicos foi comprovada em estudos pela reversão completa do efeito analgésico quando associado à ioimbina, antagonista específico destes receptores. Sudo et. al. (2010) demonstraram a ação antinociceptiva e a maior afinidade do PT-31 pelo receptor α_{2A} -adrenérgicos que clonidina. Este efeito pode ser explicado pela análise *in silico*, onde a ligação de hidrogênio formada entre o PT-31 e o resíduo de ILE-190 aumenta a afinidade.

Figura 8: Estrutura do PT-31 e seu análogo a clonidina



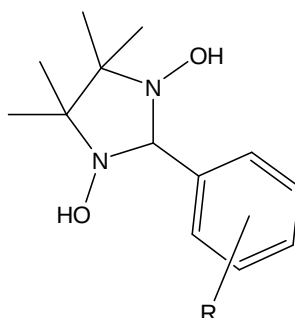
Nos últimos anos as imidazolidinas estão entre as classes de moléculas promissoras no combate à inflamação, como cita Santos et al. (2005), que descreve os mecanismos de ação como inibidora da síntese de prostaglandinas, através da inibição da enzima cicloxigenase 2 (Figura 9).

Figura 9: 5-benzilideno-3-(4-fluoro-benzil)-4-tioxi-imidazolidin-2-ona substituídos com atividade anti-inflamatória



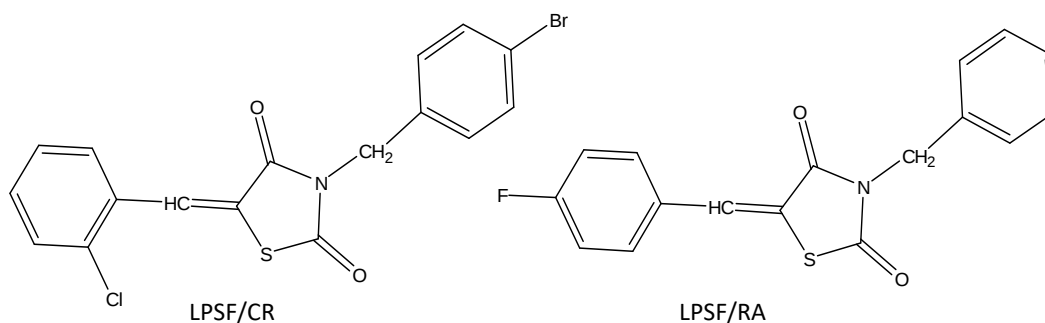
Posteriormente outro estudo mostrou a ação dos derivados imidazolidínicos (Figura 10) no combate à inflamação, através da inibição dos receptores de prostaciclina, com ação analgésica e anti-inflamatória, sem o desenvolvimento de efeitos colaterais cardiovasculares (ZHAO, 2008).

Figura 10: Derivado imidazolidínico com atividade anti-inflamatória



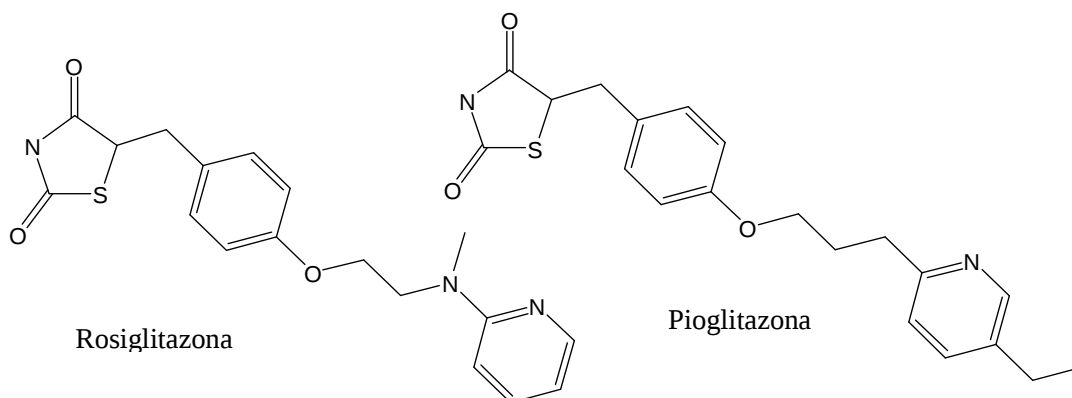
Vários trabalhos descrevem o potencial dos derivados tiazolidínicos frente às mais diversas cepas de microorganismos (DESAI et al., 2011; LIU et al., 2011). Igualmente alguns análogos da série 5-benzilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona, como os compostos 5-(2-cloro-benzilideno)-3-(4-bromo-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (CR) e 5-(4-fluoro-benzilideno)-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (RA), têm sido investigados quanto a sua ação antimicrobiana e demonstrando ativos frente a *Mycobacterium flavus* e a *Bacillus cereus* (Figura 11)(ALBUQUERQUE et al., 1999).

Figura 11: Derivados tiazolidínicos com ação antimicrobiana



Nos últimos anos, as tiazolidinadionas (TZDs), como as glitazonas (Figura 12), vem se apresentando como ligantes de PPARs. Embora a atividade anti-diabética dessa classe de compostos tenha sido identificada há mais tempo, apenas em 1995 foi demonstrado que estas eram agonistas de PPAR. Esses fármacos atuam como anti-hiperglicêmicos, já que agem melhorando a resistência à insulina e diminuindo os níveis plasmáticos de glicose no homem (LEHMANN et al., 1995; WILSON et al., 1996; HOUSEKNECHT et al., 2002).

Figura 12: Rosiglitazona e Pioglitazona.

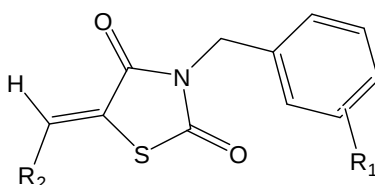


Depois da descoberta da ação das tiazolidinas sob os PPARs, com maior ênfase para PPAR γ , diversos estudos vem sendo realizados com essas moléculas,

principalmente na Universidade Federal de Pernambuco visando a obtenção de bons resultados sob diversas patologias como: hipoglicemiante (Pitta et al., Br, IP-0300997-1, 2003; MOURÃO et al., 2005; Da Costa Leite et al., 2007), antimicrobianas (ALBUQUERQUE et al., 1999), anti-inflamatórias (UCHOA, 2004; SANTOS et al, 2005; COUTO, 2006; PEREIRA, 2007; MAGALHÃES, 2007; BARROS et al., 2010) além de exercer efeitos sobre a esterodogênese, e por tal efeito, pode ser aplicado no tratamento da síndrome do ovário policístico (COUTO et al., 2011).

Os derivados da 2,4-tiazolidinadiona podem também atuar como agentes anti-inflamatórios, uma vez que modulam vias de sinalização da inflamação e demonstram, experimentalmente, diminuir a migração de leucócitos polimorfonucleares. Alguns estudos realizados com derivados arilideno-tiazolidina-2,4-dionas demonstraram uma melhor atividade anti-inflamatória destes em relação ao fármaco de referência, rosiglitazona, fato reforçado pelo estudo de docking, onde estas moléculas se apresentaram como fortes ligantes de PPAR γ (Figura 13) (BARROS et al., 2010).

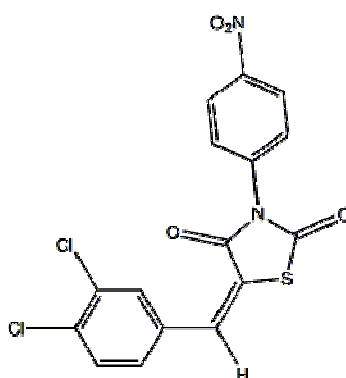
Figura 13: Derivados arilideno-tiazolidina-2,4-dionas



O derivado tiazolidínico SF29 (Figura 14), sintetizado e avaliado por Moreira et al. (2013), foi capaz de inibir as formas epimastigostas e amastigostas da doença de Chagas, além de causar lise na forma tripomastigota do *T. cruzi*, levando a morte do protozoário. Neste estudo, os valores de IC₅₀ e IC₉₀ foram determinados para a forma amastigota (forma clinicamente importante para a doença causada pelo *T.cruzi*). O SF29 foi capaz de inibir o crescimento das formas amastigotas intracelulares em baixas concentrações após 96 horas de tratamento. Um critério

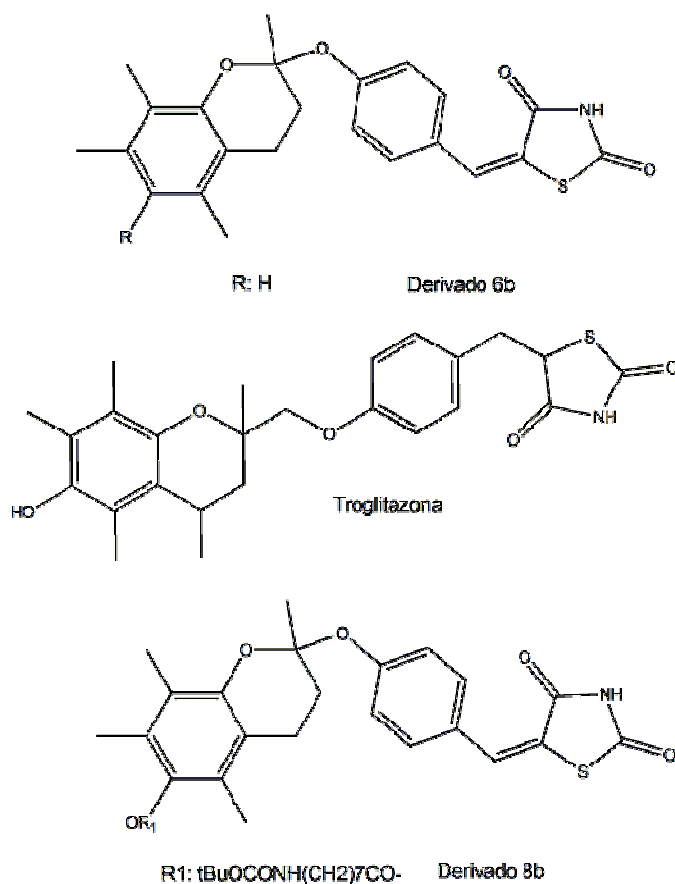
importante na busca de compostos ativos contra parasitas intracelulares com potencial terapêutico é sua baixa toxicidade para as células hospedeiras de mamíferos. Utilizando-se o método do Azul de Trypan, foi observado que o SF29 não demonstrou quaisquer efeitos de toxicidade em concentrações de até 32 M em macrófagos do peritônio.

Figura 14: Derivado SF29



Salamone et al. (2012) sintetizaram vários derivados da Troglitazona, um composto que já demonstrou possuir atividade anti-diabética, além de exibir atividade anti-proliferativa contra várias linhagens celulares. Foi realizada uma avaliação da influência dos compostos derivados sobre a viabilidade das culturas celulares primárias de hepatócitos humanos. Essa investigação permitiu, pela primeira vez, um estudo de relação estrutura-atividade nesta família de compostos. Os derivados sintetizados por Salamone et al. (2012) (Figura 15) demonstraram resultados antiproliferativos favoráveis, e baixa toxicidade em relação aos hepatócitos, quando comparados com a Troglitazona.

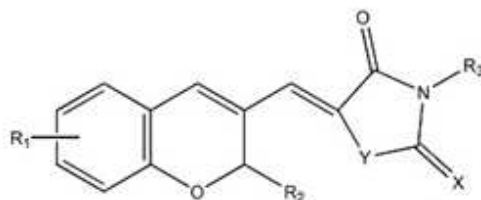
Figura 15: Derivados 6b e 8b, em comparação com a Troglitazona



Azizmohammadi et al. (2013) sintetizaram derivados da tiazolidina-2,4-diona, imidazolidina-2,4-diona e 2-tioxotiazolidin-4-ona, com potencial atividade anti-neoplásica, e em seguida testaram os seus efeitos inibitórios sobre a viabilidade celular de células cancerosas e não cancerosas, através do ensaio de redução MTT. Esta pesquisa revelou resultados favoráveis com relação ao perfil de citotoxicidade, inclusive em comparação com a Cisplatina, um agente anti-neoplásico padrão. Dentre os derivados que demonstraram possuir boa atividade anti-proliferativa encontra-se o (Z)-3-etil-5-(8-metóxi-2H-cromen-3-il)metileno)tiazolidina-2,4-diona (derivado 6s), o qual foi o composto mais potente contra a linhagem celular MOLT-4 (leucemia linfoblástica aguda humana), com um valor de IC₅₀ de 13,2 µM, ao mesmo

tempo em que demonstrou pouca ou nenhuma atividade contra outras linhagens celulares (Figura 16).

Figura 16: Derivados tiazolidínico, Azizmohammadi 2013



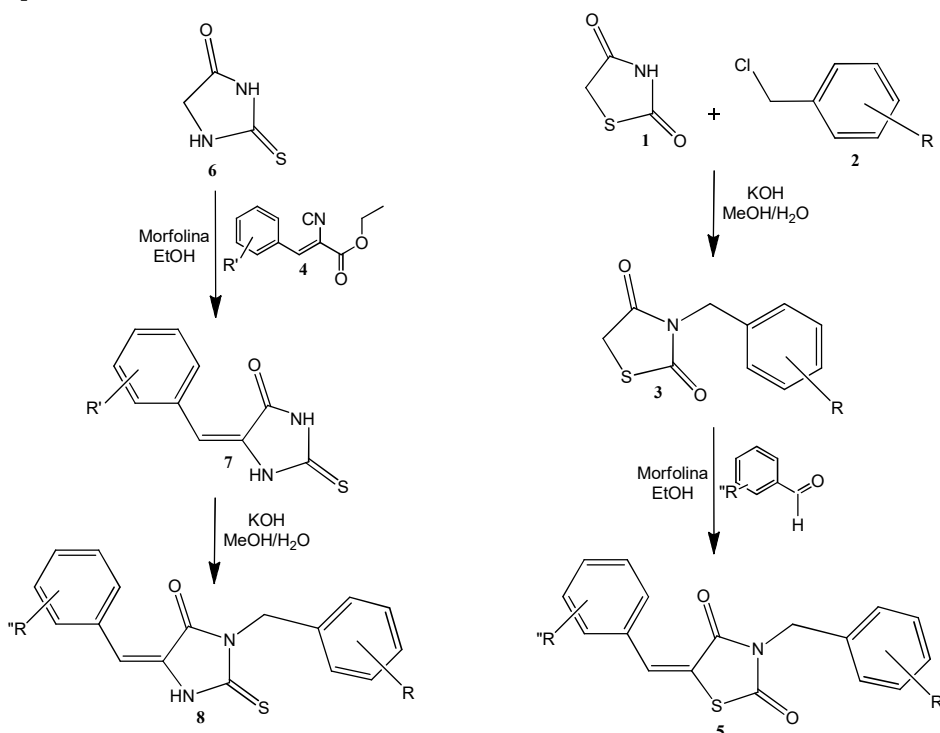
Desse modo, é possível perceber a importância dos núcleos imidazolidínicos e tiazolidínicos, com relação à aplicabilidade biológica. No entanto, é necessário um aprofundamento e uma complementação dessas pesquisas, no sentido de produzir fármacos cada vez mais eficazes, seguros e com menos efeitos colaterais, os quais possam melhorar a qualidade de vida do paciente.

PARTE EXPERIMENTAL

4. Síntese e Comprovação Estrutural dos Derivados Imidazolidínicos e Tiazolidínicos Substituídos

Os derivados 2-tioxiimidazolidin-4-onas (**8a-g**) e tiazolidina-2,4-dionas (**5a-e**) respectivamente foram sintetizados a partir da reação entre as 3-benzil-2-tioxiimidazolidin-4-onas e da 3-benzil-tiazolidina-2,4-dionas (**3**), com aldeídos aromáticos (representado no esquema 5). A tiazolidina-2,4-diona (**1**), foi *N*-alquilada em presença de hidróxido de potássio, formando o sal potássio da tiazolidina, que reage com o haleto de benzila em meio alcoólico aquecido. Já os derivados 5-benzilideno-2-tioxiimidazolidin-4-onas (**7**) foram obtidos a partir da reação de adição de Michael em meio básico. Em seguida sofreram uma reação de *N*-alquilação também em meio básico. Os derivados 5-benzilideno-2-tioxiimidazolidin-4-onas (**7**) e 5-benzilidênico-tiazolidínônicos foram isolados em uma única forma de isômero em estudos de cristalografia de raio-X e RMN_{C13} tendo a configuração *Z* sido favorecida como a mais estável. Todos os compostos sintetizados tiveram suas estruturas químicas elucidadas por espectroscopia de IV e RMN¹H (Esquema 5).

Esquema 5: Derivados 2-tioxiimidazolidin-4-onas e tiazolidina-2,4-dionas



4.1. Parte Química

4.1.1. Materiais: Reagentes e Equipamentos

4.1.1.1. Reagentes

Para obtenção dos novos derivados propostos neste trabalho foram utilizados reagentes e solventes que apresentavam a especificação P.A. provenientes das marcas Acros Organics, Sigma/Aldrich, Merck, Riedel-De Haën e Vetec. Foram utilizados aldeídos aromáticos substituídos (3-bromo-benzaldeído, 4-bromo-benzaldeído, 3-bromo-4-metóxi-benzaldeído, 4-Cloro-benzaldeído, 4-Metoxi-benzaldeído, 4-Fenil-benzaldeído, 5-Bromo-2-metóxi-benzaldeído, 2,4-Dimetóxi-benzaldeído, 4-Benzilóxi-benzaldeído, 2-metóxi-5-bromo-benzaldeído, 2,4-dimetóxi-benzaldeído, 3,4,5- trimetóxi-benzaldeído), haletos de benzila substituídos, trietilamina, morfolina, benzeno, cianoacetato de etila, etanol absoluto, hidróxido de sódio, acetato de etila, *n*-hexano.

4.1.1.2. Equipamentos

Os espectros no infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro FTIR Bruker Modelo IFS 66, em pastilhas de KBr e expressos em cm^{-1} . Os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C foram obtidos em espectrofotômetro Varian Modelo Plus 300 e 400 MHz. Os espectros foram realizados utilizando-se como solvente o DMSO- d_6 . As multiplicidades dos sinais são indicadas pelas seguintes abreviações: singleto (s), dubleto (d), duplo dubleto (dd), duplo tripleto (dt), tripleto (t), quadrupletto (q), multipletto (m). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm e os acoplamentos em Hz. Os pontos de fusão foram medidos em equipamento Quimis Modelo 340.27 não calibrado, em tubos capilares imersos em banho de silicone. A cromatografia analítica em camada delgada foram efetuada em placas Merck sílica gel 60 F₂₅₄, de 0,25 mm de espessura. A revelação foi feita com radiação ultravioleta

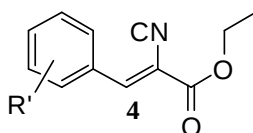
(254 ou 366 nm). As cromatografias em coluna foram realizadas em sílica gel 60 Merck ou Vetec (230-400 Mesh).

4.1.2. Metodologias de Síntese

4.1.2.1. Método Geral de Síntese dos Ésteres 2-Ciano-3-fenil-acrilatos de etila (4)

Em um balão foram adicionados quantidades equimolares de benzaldeídos substituídos, cianoacetato de etila, 5 gotas de morfolina e 40 mL de benzeno. A mistura foi agitada a 110°C por 24 horas, com remoção de água formada utilizando-se aparelho de Dean Stark. Em seguida, a solução final foi resfriada até temperatura ambiente e posteriormente em banho de gelo. Por fim, os cristais formados foram coletados em funil sinterizado. Foram obtidos os compostos derivados representados abaixo (Figura 17).

Figura 17: Estrutura geral dos ésteres 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila (4)

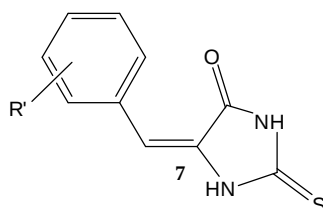


4.1.2.2. Método Geral de Síntese dos Derivados intermediários 5-benzilideno-2-tioxoimidazolidin-4-ona (7)

Em um balão foi adicionado a mistura equimolar 2-tioxoimidazolidin-4-ona (6) e os 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila substituídos (4), 10 mL de etanol e 5 gotas de morfolina. A mistura foi agitada nas mesmas condições até refluxo (4h), acompanhadas por análise cromatográfica em camada delgada (CCD). Após, a

solução final foi resfriada até temperatura ambiente e posteriormente em banho de gelo. Por fim, o precipitado formado foi coletado em funil sinterizado, e lavado com etanol e água destilada, ambos os solventes a frio, obtendo os compostos derivados abaixo representados (Figura 18).

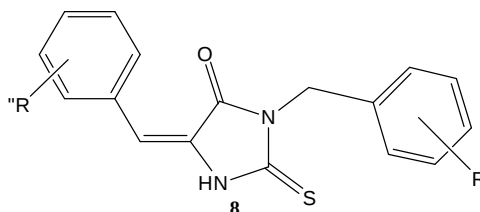
Figura 18: Estrutura geral dos derivados 5-benzilideno-2-tioxoimidazolidin-4-ona (7)



4.1.2.3. Método Geral de Síntese dos Derivados Finais (8)

Em um balão foi adicionado a mistura equimolar dos derivados 5-benzilideno-2-tioxo-imidazolidina-4-onas substituídos (8) e o hidróxido de potássio previamente dissolvido em metanol, à temperatura ambiente por 1 hora, até completa solubilização dos reagentes. Em seguida foi adicionado o brometo de 4-metilsulfonil-benzila, a mistura foi agitada à 110⁰C por 24 horas, acompanhadas por análise cromatográfica em camada delgada (CCD). Após, a solução final foi resfriada até temperatura ambiente e posteriormente em banho de gelo. Por fim, o precipitado formado foi coletado em funil sinterizado, e lavado com solventes apropriados a frio, obtendo os compostos derivados abaixo representados (Figura 19).

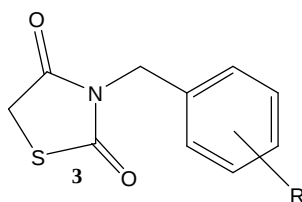
Figura 19: Estrutura Geral dos Derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-sulfonil-benzil)-2-tioxo-imidazolidina-4-ona (8)



4.1.2.4. Método Geral de Síntese dos Derivados intermediários 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (3)

Em um balão de fundo redondo se adicionou a tiouréia (10 g – 0,1316 mol) e o ácido monocloraacético (12,7 g – 0,1346 mol) previamente dissolvido em água destilada. Aqueceu-se a mistura por 18 horas. Em seguida, deixou-se o produto obtido em repouso por 24 horas na geladeira. Formaram-se cristais brancos, cuja purificação foi realizada através de cristalizações sucessivas em água destilada. Em seguida, foi adicionada em balão de fundo redondo, a tiazolidina-2,4-diona (5 g – 0,0427350 mol), e uma solução equimolar de hidróxido de sódio (1,7094 g – 0,0427350 mol) previamente dissolvido em uma mistura etanol/água (6:4). A mistura reacional foi submetida apenas à agitação, e após a formação do sal (30 minutos), o cloreto de benzil (5,46 mL – 7,6504 g – 0,0427350 mol) foi adicionado. Em seguida a mistura foi aquecida lentamente até a temperatura estabilizar em 70° C. Após 24 horas, foi realizada uma placa cromatográfica, onde verificou-se que a reação havia terminado. O precipitado obtido correspondente à tiazolidina *N*-alquilada (3), foi purificado através de lavagem com etanol gelado e recristalização (Figura 20).

Figura 20: Estrutura da 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (3)

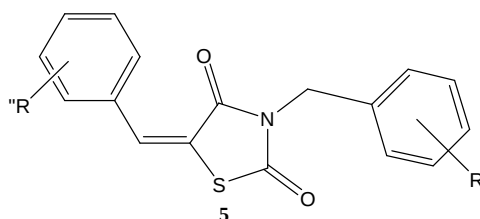


4.1.2.5. Método Geral de Síntese dos Derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona (5)

Em um balão de fundo redondo, foi adicionado a 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (3) e os aldeídos aromáticos substituídos (4), 1 mL de morfolina (catalisador) e

30 mL de etanol. A mistura reacional foi submetida à agitação e aquecida lentamente até a temperatura estabilizar em 60° C. A reação foi acompanhada por análise de cromatografia em camada delgada (CCD) através do sistema de eluição adequado. Após 4 horas, foi realizada uma cromatográfica em camada delgada, onde observou-se que a reação havia terminado. O tratamento consistiu em filtração a quente, e logo em seguida foi realizada a purificação através de cristalizações sucessivas em solvente adequado (Figura 21).

Figura 21: Estrutura dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona (5)



5. Estudo de Modelagem Molecular

5.1. Metodologia

As geometrias das imidazolidinas e tiazolidinas foram inicialmente otimizadas usando o programa SPARTAN 08 (Spartan '08 Tutorial and User's Guide; Wavefunction: Irvine, CA, 2008) seguindo os critérios de convergência padrão. A preferência pela configuração Z da dupla ligação exocíclica foi confirmada.

A afinidade relativa desses compostos em relação ao seu potencial alvo biológico foi avaliada através de estudos de *docking* molecular usando a estrutura da enzima Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR γ), co-cristalizada com rosiglitazona (fármaco comercial de referência). A estrutura da enzima foi obtida a partir do banco de dados de proteína PDB (Protein Data Bank, <http://www.pdb.org>) sob o código PDB 2PRG. O programa GOLD 4.0 (JONES et al., 1997) foi utilizado para realizar os cálculos de *docking* molecular. O sítio ativo foi definido como todos os resíduos contidos no raio de 6,5 Å a partir do ligante co-cristalizado, a rosiglitazona. Foi realizado o *re-docking* do ligante rosiglitazona como

teste do protocolo do programa. O perfil de ligação proposto para as imidazolidinas foi determinado pelo maior score dentre as 10 melhores soluções geradas de acordo com a função de pontuação GOLDScore.

6. Parte Biológica

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

6.1. Material

Foram utilizados camundongos machos adultos albinos swiss (*Mus musculus*), pesando entre 30 e 55g provenientes do Centro de Pesquisas Ageu Magalhães e mantidos no Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram acondicionados em gaiolas de polietileno com grades de aço inoxidável e maravalha como cobertura, tendo acesso livre à água e ração balanceada, mantidos num ambiente com temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 2$ e luminosidade controlada, proporcionando um ciclo claro-escuro de 12 horas. Todos os animais foram submetidos a jejum, com a retirada da ração cerca de 4 horas antes do início do experimento.

6.2. Métodos

6.2.1. Peritonite Induzida por Carragenina

Para a realização do teste os animais foram divididos em grupos de 6 animais. Para o grupo padrão foi administrada dexametasona, droga anti-inflamatória

de referencia, por via oral na dose de 0,5 mg/kg. O grupo controle recebeu veiculo (Solução salina a 0,9%) e para cada grupo teste foi administrado um derivado tiazolidínico na dose de 10 mg/Kg por via oral.

Os animais receberam os derivados tiazolidínicos (**5a-e**). O grupo padrão recebeu a dexametasona e o grupo controle a solução salina 0,9%. Uma hora após o tratamento, a inflamação foi induzida pela administração intraperitoneal de 0,1 mL/10 g de carragenina (1% em salina, p/v). Quatro horas após a indução da inflamação os animais foram eutanasiados em câmara de CO₂, sendo injetado na cavidade peritoneal 2 mL de uma solução de PBS contendo EDTA (3 µM). A contagem de leucócitos totais foi realizada em analisador hematológico Horiba ABX micros 60. Os exsudatos foram centrifugados e uma alíquota do sobrenadante armazenado a – 20°C para análise de citocinas e dos níveis de NO (PRASAD e GUPTA, 2005).

6.2.2. Contorções Abdominais Induzidas por Ácido Acético

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

Os animais receberam o tratamento via oral com os derivados tiazolidínicos **5a** (4-bromo), **5c** (3,4,5-trimetóxi) e **5d** (4-metóxi, 3-bromo). O grupo padrão recebeu o ibuprofeno e o grupo controle a solução Salina a 0,9%. Após uma hora, o ácido acético 1% foi injetado (0,1mL/10g do peso do animal) na cavidade peritoneal dos animais para induzir contrações da musculatura abdominal e/ou alongamento dos membros posteriores. Dez minutos após a aplicação do ácido, os camundongos foram colocados em gaiolas de polietileno transparentes, onde foram observados e registrou-se o número de contorções abdominais durante 20 minutos. A porcentagem de inibição das contorções abdominais foi calculada comparando a média de contorções do grupo tratado com o a média de grupo controle (KOSTER, 1959).

6.2.3. Determinação dos Níveis de Óxido Nítrico

Para avaliação a produção de óxido nítrico (NO) foram analisadas as concentrações de nitrato (metabolito estável do NO) presentes no sobrenadante do exsudato obtido da peritonite induzida por carragenina. Uma alíquota de 50 µL de cada amostra foi transferida para uma microplaca e incubada com 50 µL de reagente de Griess (sulfanilamida 1%, 0,1% naftiletileno diamino dicloridrato, 5% H₃PO₄) por 10 minutos em temperatura ambiente protegido da luz. A absorbância foi medida em 540 nm em leitor de microplacas ELISA e a concentração de nitrato foi calculada baseada em uma curva padrão de nitrato de sódio (GIUSTARINI et al., 2008).

6.3. Análise dos resultados

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

RESULTADOS E DISCUSSÕES

7. Resultados e Discussão

7.1. Estudo químico

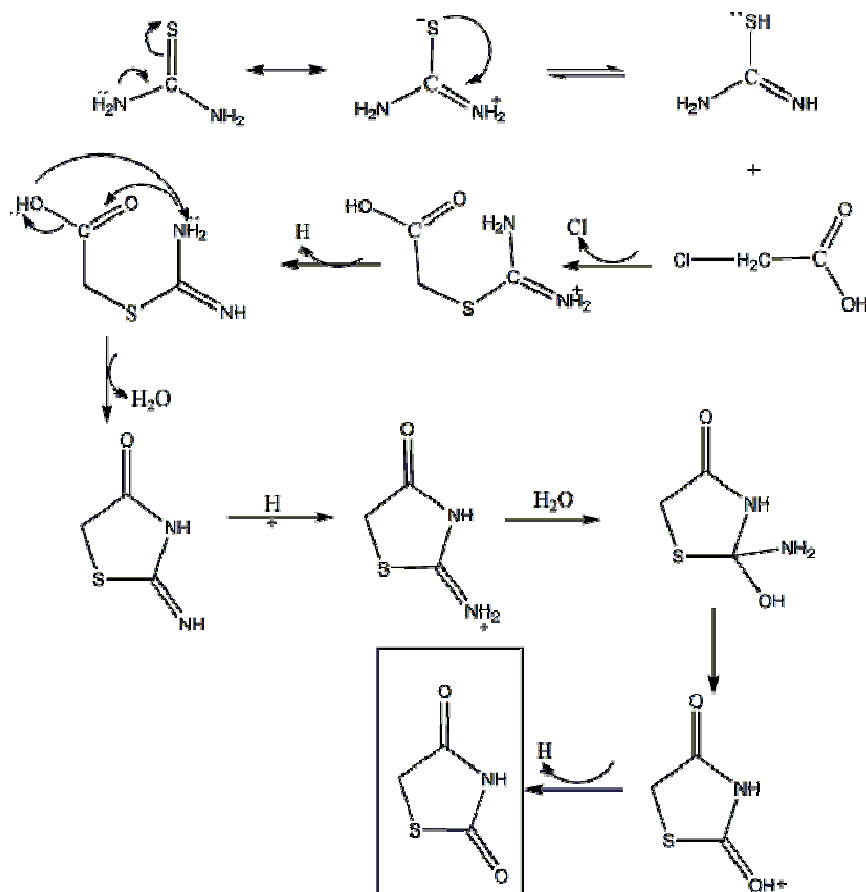
Os produtos sintetizados tiveram seus respectivos mecanismos reacionais propostos de acordo com estudos já publicados. As características físico-químicas dos compostos obtidos, tais como massa molecular, ponto de fusão, rendimento e a razão de frente (Rf), estão representadas juntamente com a análises espectroscópicas.

7.1.1. Mecanismos reacionais

A seguir apresentaremos os mecanismos reacionais propostos para cada composto do diagrama de síntese.

7.1.1.1.1. Tiazolidina-2,4-diona

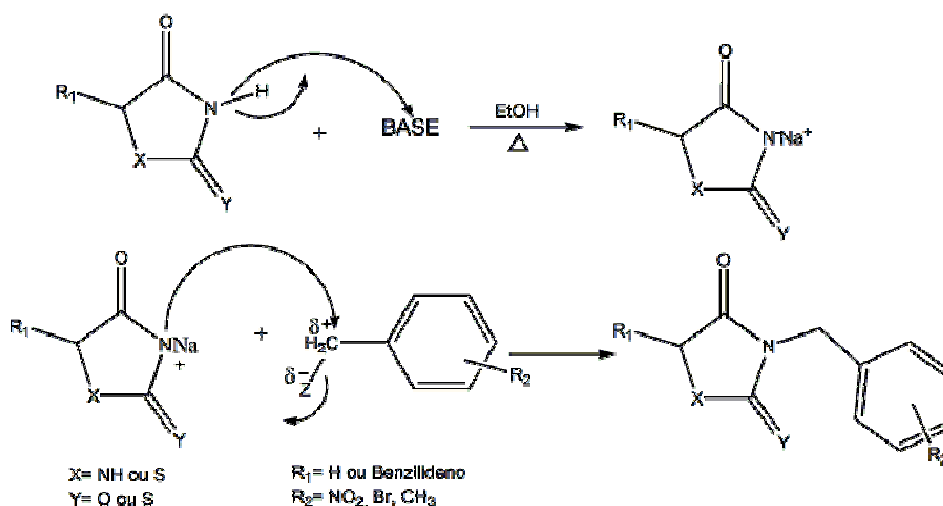
Esquema 6: Mecanismo reacional da síntese da tiazolidina-2,4-diona



O mecanismo reacional para obtenção da tiazolidina-2,4-diona é explicado pelo ataque nucleofílico do par de elétrons livres do átomo de enxofre ao carbono 2 do ácido cloroacético, eliminando ácido clorídrico e levando à formação de um intermediário. Por ataque nucleofílico intramolecular do par de elétrons livres do nitrogênio do grupo amino ao carbono carbonílico, ocorre a ciclização, com eliminação de água. O grupo imino em posição 2 do ciclo sofre hidrólise, liberando amônia, conduzindo à tiazolidina-2,4-diona (SILVA, 2003) (Esquema 6).

7.1.1.1.2. Derivados *N*-alquilados

Esquema 7: Mecanismo reacional de *N*-alquilação

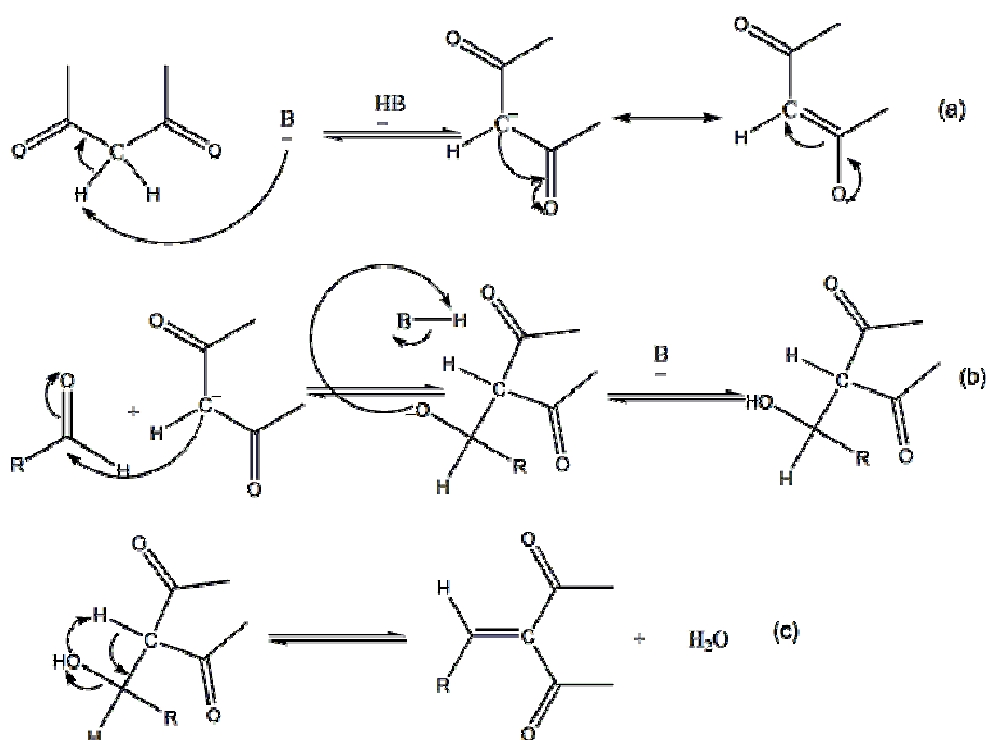


Segundo Finkbeiner (1965), o mecanismo reacional da síntese dos compostos *N*-alquilados ocorre em duas etapas. Na primeira etapa, o átomo de hidrogênio ligado ao nitrogênio presente na posição três do heterociclo, o qual se apresenta suficientemente ácido para ser suprimido por ação de uma base (hidróxido de potássio, hidróxido de sódio ou carbonato de potássio), conduz a formação de um sal de sódio. Na segunda etapa, o sal de sódio obtido reage com um agente nucleofílico e

ataca o haleto de benzila substituído, formando assim os compostos *N*-alquilados (Esquema 7).

7.1.1.1.3. Derivados condensados

Esquema 8: Mecanismo de condensação



De acordo com Liesen et al. (2008), o grupo metileno na posição 5 do anel imidazolidínico ou tiazolidínico, devido à sua acidez, possui reatividade característica, e condensa com aldeídos ou cetonas em reação do tipo Knoevenagel. A reação de Knoevenagel pertence à classe geral das condensações do tipo aldólicas, catalisadas por bases (Tietze & Beifuss, 1991), McBee et al. (1962), Kohler e Corson (1923) e Cope (1937) defendem o mecanismo de caráter aldólico como sendo o provável para a reação de condensação. De acordo com este mecanismo, a reação ocorre em três etapas: (a) desprotonação do composto com metileno ativo; (b) adição

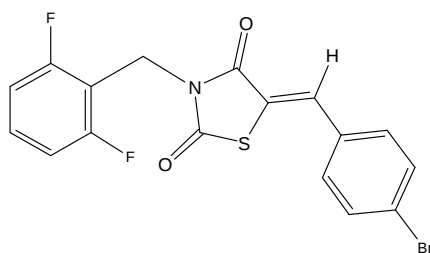
do carbânion ao composto carbonílico; (c) eliminação de água, a partir do intermediário aldólico.

7.2. Análise Espectroscópica

A caracterização dos derivados imidazolidínicos e tiazolidínicos foram realizadas através das análises espectroscópicas de ressonância magnética nuclear (RMN¹H e RMN¹³C) e infravermelho (IV). Na espectroscopia de infravermelho foram observadas as bandas de absorção características dos grupos funcionais presentes nas estruturas. Na espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio, foi possível verificar os picos característicos das absorções referentes aos hidrogênios presentes nas estruturas das moléculas em estudo. Na espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono, foi verificado o número de carbonos para cada estrutura química. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm e os acoplamentos em Hz. Por fim, abaixo podem ser encontrados os resultados espectroscópicos do infravermelho e RMN¹H e RMN¹³C dos produtos finais.

7.2.1. Derivados Tiazolidínicos

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



C₁₇H₁₀BrF₂NO₂S; MM = 408.958 g/mol;

Rdt: 55%;

P.F.: 174°C;

R.f.: 0,48 *n*-Hex/AcOEt (9:1)

IV ($\nu \text{ cm}^{-1}$ KBr)

1749 C=O, 1694 C=O, 1607 (C=C), 1070 (C-N).

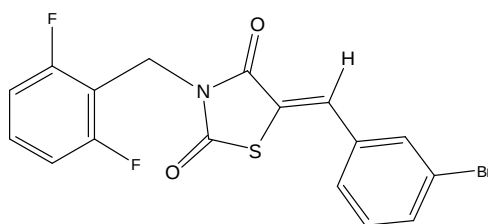
RMN ^1H (400 MHz, ppm, DMSO)

4.91 ppm (s, 2H, CH_2), 7.55 ppm (d, 2H, $J = 8.39 \text{ Hz}$, CH benzilideno), 7.73 ppm (d, 2H, $J = 8.39 \text{ Hz}$, CH benzilideno), 7.10 ppm (t, 2H, $J = 7.99 \text{ Hz}$, CH benzil), 7.42 ppm (m, 1H, CH benzil), 7.91 ppm (s, 1H, =CH.).

RMN ^{13}C (400 MHz, ppm, DMSO)

166.2, 164.6, 162.1, 159.6, 132.3, 132.1, 132.0, 131.8, 130.7, 130.5, 124.2, 121.6, 111.7, 111.5, 110.7, 110.5, 33.6.

3-(2,6-difluoro-benzil)-5-(3-bromo-benzilideno)-thiazolidina-2,4-diona (5b)



$\text{C}_{17}\text{H}_{10}\text{BrF}_2\text{NO}_2\text{S}$; MM = 408.958 g/mol;

Rdt: 53%;

P.F.: 158°C;

R.f.: 0,5 *n*-Hex/AcOEt (9:1)

IV ($\nu \text{ cm}^{-1}$ KBr): 1740 C=O, 1685 C=O, 1607 (C=C), 1125 (C-N).

RMN ^1H (400 MHz, PPM, DMSO)

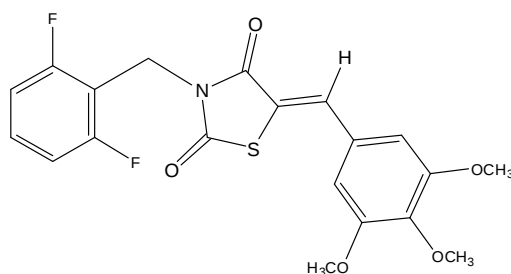
δ 4.91 ppm (s, 2H, -NCH₂-), δ 7.13-7.07 ppm (m, 2H, =CH- benzil), δ 7.46-7.39 ppm (m, 1H, =CH- benzil), δ 7.49 ppm (t, 1H, $J = 7.6 \text{ Hz}$, =CH- benzilideno), δ 7.58 ppm (d, 1H, $J = 7.6 \text{ Hz}$, =CH- benzilideno), δ 7.68 ppm (d, 1H, $J = 6.8 \text{ Hz}$, =CH-

benzilideno), δ 7,83 ppm (t, 1H, $j+1,6\text{Hz}$, =CH- benzilideno), δ 7,91 ppm (s, 1H, =CH-).

RMN ^{13}C (400 MHz, ppm, DMSO)

166.11 (C4), 164.54 (C4), 162.16 (C4), 159.69 (C4), 135.24 (C4), 133.12 (CH), 132.93 (CH), 131.69 (CH), 131.33 (CH), 130.65 (CH), 128.09 (CH), 122.55 (CH), 122.43 (CH), 111.72 (CH), 111.53 (CH), 110.67 (C4), 33.72 (CH₂).

3-(2,6-difluoro-benzil)-5-(3,4,5-trimetóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (5c)



$\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{F}_2\text{NO}_5\text{S}$; MM = 421.079 g/mol;

Rdt: 44%;

P.F.: 136 - 137°C;

R.f.: 0,65 *n*-Hex/AcOEt (9:1)

IV ($\nu \text{ cm}^{-1}$ KBr)

1747 C=O, 1682 C=O, 1605 (=CH-), 1124 (C-N).

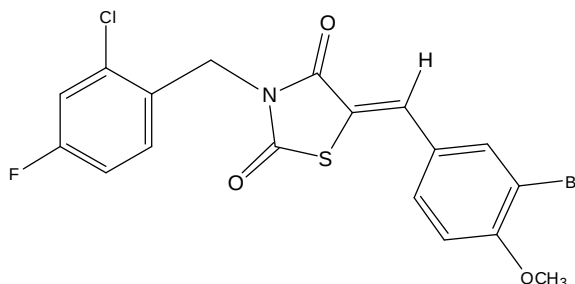
RMN ^1H (400 MHz, PPM, DMSO)

3.73 ppm (s, 3H, OCH₃), 3.82 ppm (s, 6H, OCH₃), 4.91 ppm (s, 2H, CH₂), 6.92 ppm (s, 2H, CH benzilideno), 7.09 ppm (t, 2H, $J=8.4\text{Hz}$, CH benzil), 7.42 ppm (q, 1H, $J=7.6\text{Hz}$, CH benzil), 7.87 ppm (s, 1H, =CH-).

RMN ^{13}C (400 MHz, ppm, DMSO)

166.46 (C4), 164.70 (C4), 162.07 (C4), 159.59 (C4), 153.19 (C4), 139.63 (C4), 133.65 (CH), 130.59 (CH), 128.32 (C4), 119.74 (C4), 111.67 (CH), 110.98 (C4), 107.64 (C4), 60.17 (CH₃), 55.99 (CH₃), 55.99 (CH₃), 33.62 (CH₂).

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



C₁₈H₁₂BrClFNO₃S; MM = 454.939 g/mol;

Rdt 80%;

P.F.: 201°C;

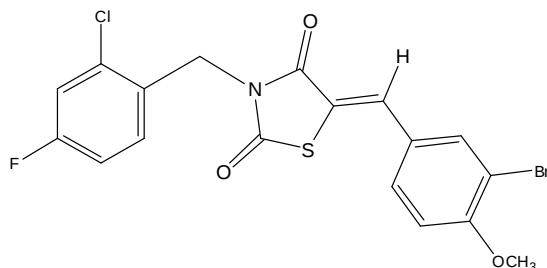
R.f.: 0,5 *n*-Hex/AcOEt (9:1)

IV (ν cm⁻¹ KBr): 1682 (C=O), 1624 (C=O), 1588 (C=C), 1151 (C-N).

RMN ¹H (400 MHz, ppm, CDCl₃): δ 3.96 ppm, (s, 3H, -OCH₃), 5.00 ppm (s, 2H, CH₂), 6.98 ppm (d, 1H, J= 8.8Hz, CH benzil), 7.45 ppm (dd, 1H, J₁= 8.8Hz, J₂= 2.4Hz, CH benzil), 7.71 ppm (d, 1H, J= 2Hz, CH benzil), 6.95 ppm (dt, 1H, J₁= 8.4Hz, J₂= 2.4Hz, CH benzilideno), 7.20 ppm (ddd, 1H, J₁= 8.0Hz, J₂= 2.4Hz, CH benzilideno), 7.26 ppm (s, 1H, CH benzilideno), 7.79 ppm (s, 1H, =CH-).

RMN ¹³C (400 MHz, ppm, DMSO): δ 167.10 (C4), 165.82 (C4), 163.41 (C4), 161.00 (C4), 157.82 (C4), 135.32 (CH), 134.24 (C4), 132.64 (CH), 130.88 (CH), 130.49 (C4), 127.19 (CH), 119.83 (C4), 117.35 (C4), 117.10 (CH), 114.19 (CH), 112.23 (CH), 56.50 (CH₃), 42.42 (CH₃).

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



$C_{18}H_{12}BrClFNO_3S$; MM = 454.939 g/mol;

Rdt: 80%;

P.F.: 135°C;

R.f.: 0,41 *n*-Hex/AcOEt (9:1)

IV (ν cm^{-1} KBr): 1739 C=O, 1683 C=O, 1603 (=CH-), 1152 (C-N).

RMN 1H (400 MHz, ppm, DMSO)

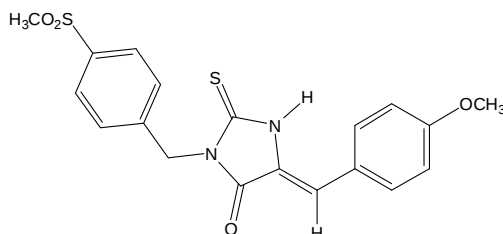
3.87 ppm (s, 3H, OCH₃), 4.85 ppm (s, 2H, CH₂), 7.12 ppm (d, 1H, J = 6.6Hz, CH benzil), 7.51 ppm (d, 1H, J = 1.8Hz, CH benzil), 7.63 ppm (dd, 1H, J_1 = 6.3Hz, J_2 = 1.8Hz, CH benzil), 7.18 ppm (t, 1H, J_1 = 6.6Hz, J_2 = 2.1Hz, CH benzilideno), 7.35 ppm (dd, 1H, J_1 = 6.3Hz, J_2 = 4.2Hz, CH benzilideno), 7.46 ppm (dd, 1H, J_1 = 6.9Hz, J_2 = 2.1Hz, CH benzilideno).

RMN ^{13}C (400 MHz, ppm, DMSO)

166.99 (C4), 165.20 (C4), 162.53 (C4), 160.06 (C4), 157.00 (C4), 134.80 (CH), 132.72 (C4), 131.14 (CH), 130.66 (CH), 128.68 (C4), 127.17 (CH), 123.52 (C4), 122.97 (C4), 116.89 (CH), 114.44 (CH), 112.16 (C4), 56.09 (CH₃), 42.12 (CH₂).

7.2.2. Derivados Imidazolidínicos

5-(4-metóxi-benzilideno)-3-(4-metil-sulfonil-benzil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (8a)



$C_{19}H_{18}N_2O_4S_2$ - M.M.402;

P.F.198-199°C;

Rdt. 38,17%;

Rf. 0,5 Benz/Acoet 6:4

IV cm^{-1} (KBr 1%)

3068 (N-H), 1698 (C=O), 1510 (C=S), 1412 (O=S=O).

RMN¹H 300 MHz (δ ppm, DMSOD₆)

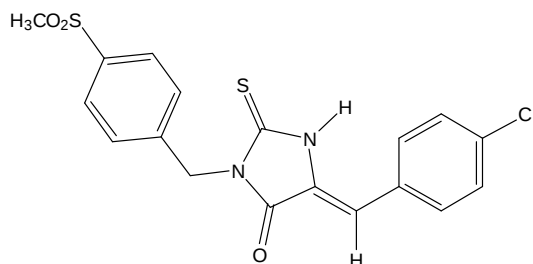
3,18 (s, 3H, SO₂CH₃), 3,82 (s, 3H, -OCH₃), 4,64 (s, 2H, CH₂-), 6,72 (s, 1H, -CH=), 11,77 (s, 1H, NH), 7,09 (d, 2H, benzilideno, J = 8,7 Hz), 8,13 (d, 2H, benzilideno, J = 8,70 Hz), 7,78 (d, 2H, benzil, J = 8,10), 7,90 (d, 2H, benzil, J = 8,10 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, ppm, DMSO-d₆)

160,0 (C=O), 55,2 (OCH₃), 139,0 (Cq Ar), 133,0 (CH Ar), 129,0 (Cq Ar), 127,0 (CH Ar), 121,0 (CH Ar), 114,0 (CH Ar)

MS(EI⁺) calc. 407,0708; obtido: 407,0780.

**5-(4-cloro-benzilideno)-3-(4-metil-sulfonil-benzil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona
(8b)**



$C_{18}H_{15}O_3N_2S_2Cl$ - MM.406,5;

PF. 243-244°C;

Rdt. 73,9%;

Rf.0,6 Benz/Acoet 6:4

IV cm^{-1} (KBr 1%)

3125 (N-H), 1706 (C=O), 1510 (C=S), 1410 (O=S=O).

RMN¹H 300 MHz (δ ppm, DMSOD₆)

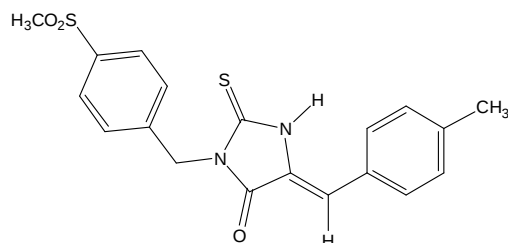
3,19 (s, 3H, SO₂CH₃), 4,66 (s, 2H, CH₂-), 6,76 (s, 1H, -CH=), 11,93 (s, 1H, NH), 7,53 (d, 2H, benzilideno, J = 8,70 Hz), 8,18 (d, 2H, benzilideno, J = 8,70 Hz), 7,79 (d, 2H, benzil, J = 7,50), 7,92 (d, 2H, benzil, J = 8,40 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, ppm, DMSO-d₆)

170,0 (C=S), 164,0 (C=O), 143,0 (Cq Ar), 139,0 (Cq Ar), 134,0 (Cq Ar), 132,0 (CH Ar), 128,0 (Cq Ar), 127,0 (CH Ar).

MS(EI⁺) calc. 406,0213; obtido: 406,0280

**5-(4-metil-benzilideno)-3-(4-metil-sulfonil-benzil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona
(8c)**



$C_{19}H_{18}O_3N_2S_2$ - MM. 386;

PF. 227-228°C;

Rdt.65,4%;

Rf. 0,55 Benz/Acoet 6:4

IV cm^{-1} (KBr 1%)

3063 (N-H), 1711 (C=O), 1512 (C=S), 1411 (O=S=O).

RMN¹H 300 MHz (δ ppm, DMSOD₆)

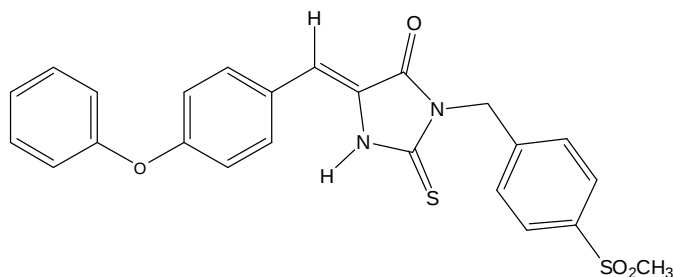
2,35 (s, 3H, -CH₃), 3,19 (s, 3H, SO₂CH₃), 4,65 (s, 2H, CH₂-), 6,73 (s, 1H, -CH=), 11,84 (s, 1H, NH), 7,28 (d, 2H, benzilideno, J = 8,10 Hz), 8,05 (d, 2H, benzilideno, J = 8,10 Hz), 7,89 (d, 2H, benzil, J = 8,40), 8,00 (d, 2H, benzil, J = 8,40 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, ppm, DMSO-d₆)

170,0 (C=S), 162 (C=O), 143,0 (CqAr), 139,0 (Cq Ar), 138,0 (Cq Ar), 131,0 (CH Ar), 129,24 (CH Ar), 127,0 (CHAr), 121,0 (CH Ar).

MS(EI+) calc. 386,0759; obtido: 386,0850

5-(4-benziloxi-benzilideno)-3-(4-metil-sulfonil-benzil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (8d)



$C_{25}H_{22}O_4N_2S_2$ - MM. 478;

PF. 210-211°C;

Rdt. 48,5%;

Rf. 0,6 Benz/Acoet 6:4

IV cm^{-1} (KBr 1%)

3118 (N-H), 1702 (C=O), 1504 (C=S), 1405 (O=S=O).

RMN¹H 300 MHz (δ ppm, DMSO- d_6)

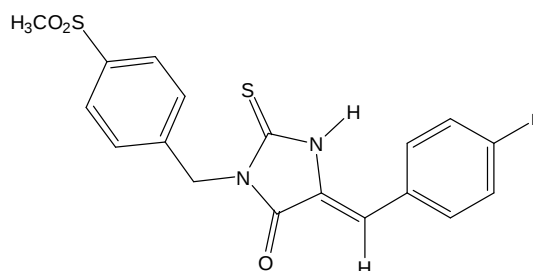
3,19 (s, 3H, SO₂CH₃), 4,65 (s, 2H, CH₂-), 5,18 (s, 2H, -OCH₂), 6,73 (s, 1H, -CH=), 11,73 (s, 1H, NH), 7,28 (d, 2H, benzilideno, J = 8,10 Hz), 7,40 (m, 5H, benziloxi), 8,05 (d, 2H, benzilideno, J = 8,10 Hz), 7,89 (d, 2H, benzil, J = 8,40), 8,00 (d, 2H, benzil, J = 8,40 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, ppm, CDCl₃)

170,30 (C=S), 161,80 (C=O), 143,65 (Cq Ar), 139,69 (Cq Ar), 137,20 (Cq Ar), 136,60 (Cq Ar), 133,20 (CH Ar), 129,70 (CH Ar), 128,30 (CH Ar), 127,80 (CH Ar), 127,66 (CH Ar), 127,06 (CH Ar), 126,99 (CH Ar)

MS(EI⁺) calc. 478,1021; obtido: 478,1223

5-(4-Fluoro-benzilideno)-3-(4-metil-sulfonil-benzil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (8e)



$C_{18}H_{15}O_3N_2S_2F$ - MM. 390;

PF. 230-231°C;

Rdt. 52%;

Rf. 0,56 Benz/Acoet 6:4

IV cm^{-1} (KBr 1%)

3124 (N-H), 1704 (C=O), 1509 (C=S), 1414 (O=S=O).

RMN¹H 300 MHz (δ ppm, DMSOD₆)

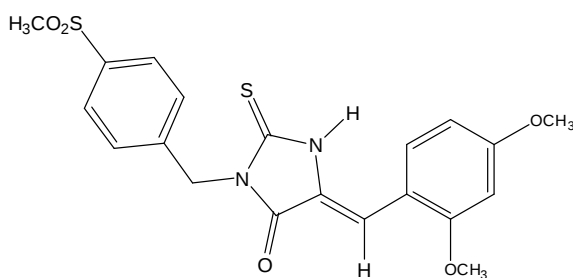
3,17 (s, 3H, SO₂CH₃), 4,65 (s, 2H, CH₂-), 6,73 (s, 1H, -CH=), 11,84 (s, 1H, NH), 8,09 (d, 2H, benzilideno, J = 10,40 Hz), 7,20 (d, 2H, benzilideno, J = 10,40 Hz), 7,90 (d, 2H, benzil, J = 8,00 Hz), 7,80 (d, 2H, benzil, J = 8,00 Hz).

RMN¹³C (100 MHz, ppm, CDCl₃)

170,1 (C=S), 164,9 (C=O), 143,44 (Cq Ar), 139,8 (Cq Ar), 136,4 (Cq Ar), 130,4 (Cq Ar), 129,6 (CH Ar), 127,5 (CH Ar), 127,0 (CH Ar), 116,1 (CH Ar)

MS(EI⁺) calc. 390,0508; obtido: 390,0552

5-(2,4-dimetóxi--benzilideno)-3-(4-metil-sulfonil-benzil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (8f)



C₂₀H₂₀O₅N₂S₂ - MM. 432;

PF. 224-225°C;

Rdt. 38,7%;

Rf. 0,52 Benz/Acoet 6:4

IV cm^{-1} (KBr 1%)

3132 (N-H), 17013 (C=O), 1498 (C=S), 1410 (O=S=O).

RMN¹H 300 MHz (δ ppm, DMSOD₆)

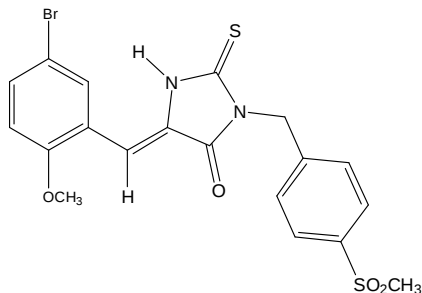
3,48 (s, 6H, OCH₃), 3,18 (s, 3H, SO₂CH₃), 4,63 (s, 2H, CH₂-), 6,61 (s, 1H, -CH=), 11,67 (s, 1H, NH), 7,06 (s, 1H, benzilideno), 6,68 (d, 2H, benzilideno, J = 8,80 Hz), c 8,64 (d, 2H, benzilideno, J = 8,80 Hz), 7,9 (d, 2H, benzil, J = 8,00 Hz), 7,7 (d, 2H, benzil, J = 8,00 Hz)

RMN ¹³C (100 MHz, ppm, DMSO-d₆)

170,3 (C=S), 162,3 (C=O), 146,5 (Cq Ar), 139,3 (Cq Ar), 136,6 (Cq Ar), 132,9 (CH Ar), 129,7 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 115,4 (CH Ar), 115,05 (Cq Ar), 106,3 (CH Ar), 55,7 (OCH₃), 55,4 (OCH₃).

MS(EI⁺) calc. 432,0814; obtido: 4320,1144

5-(2-metóxi-5-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-sulfonil-benzil)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (8g)



C₁₉H₁₇N₂O₄S₂Br - MM. 480;

PF. 248-249°C;

Rdt. 79,8%;

Rf. 0,52 Benz/Acoet 6:4

IV cm⁻¹ (KBr 1%)

3124 (N-H), 1705 (C=O), 1510 (C=S), 1412 (O=S=O).

RMN¹H 300 MHz (δ ppm, DMSOD₆)

3,85 (s, 3H, -OCH₃), 3,20 (s, 3H, SO₂CH₃), 4,62 (s, 2H, CH₂-), 6,97 (s, 1H, -CH=), 11,96 (s, 1H, NH), (**a**) 8,90 (d, 1H, benzilideno, J = 2,40 Hz), 7,52 (dd, 1H, benzilideno, J = 9,00 Hz), 7,02 (d, 2H, benzilideno, J = 9,00 Hz), 7,83 (d, 1H, benzil, J = 8,70 Hz), 7,91 (d, 2H, benzil, J = 8,10 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, ppm, DMSO-d₆)

170,06 (C=S), 164,61 (C=O), 143,5 (Cq Ar), 139,7(Cq Ar), 133,3 (Cq Ar), 129,9 (CH Ar), 127,03 (CH Ar), 124,5 (CH Ar), 125,1 (CH Ar), 113,7 (Cq Ar), 112,2 (CH Ar), 56,06 (OCH₃)

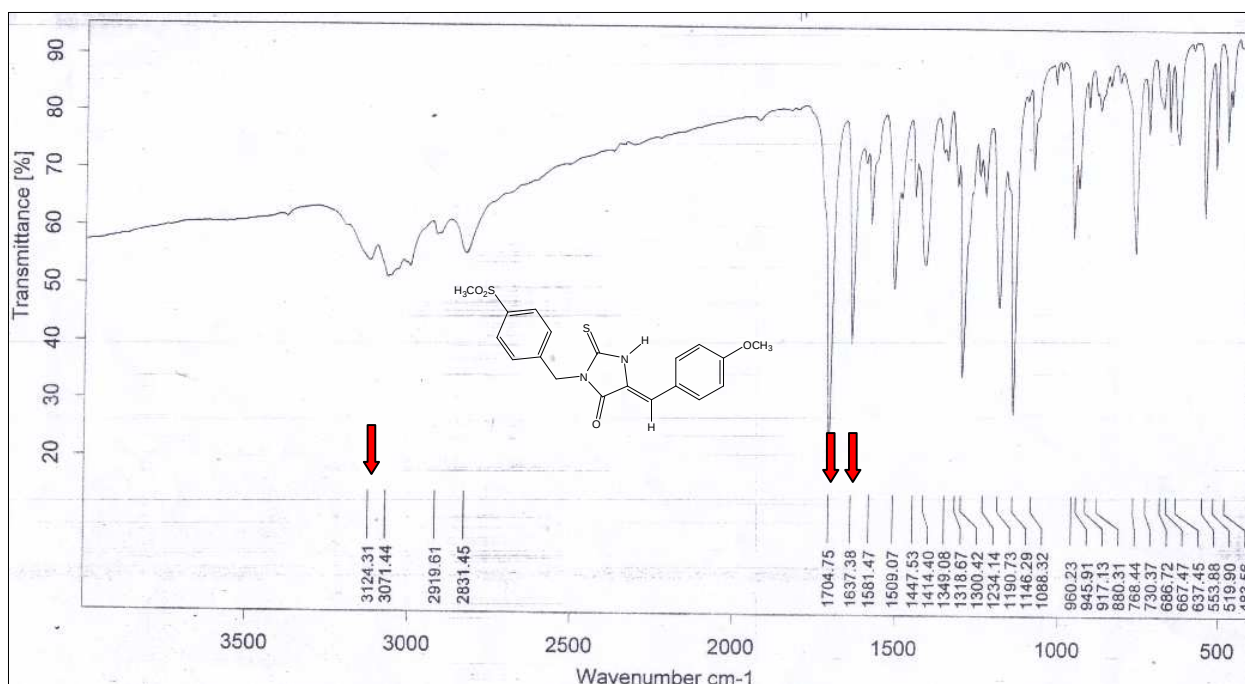
MS(EI+) calc. 479,9813; obtido: 480,1144

De acordo com Kingsbury et al. em 1976 estes derivados, teoricamente, podem existir nas configurações diastereoisoméricas *Z* e *E*. Os autores utilizaram os valores das constantes de acoplamento vicinal 3J (C-H), calculados a partir da espectroscopia de RMN ¹³C de vários alquenos, para a determinação da configuração do isômero obtido a partir da síntese destes compostos. Segundo os autores, em geral, constantes de acoplamento vicinal (3J C-H) entre o carbono da carbonila presente no anel e o próton benzilidênico na ordem de 4,3-10 Hz indicavam que os mesmos apresentavam configuração *Z*. Por outro lado, valores das constantes na ordem de 9,5-16,9 Hz confirmavam a configuração *E*.

De maneira análoga, diversos outros autores confirmaram a configuração *Z* ou *E* da dupla ligação em várias moléculas contendo os anéis tiazolidinadínicos, imidazolidinínicos e oxazilidínicos (MENEZES et al., 1992; LIMA et al., 1992). Segundo os autores, nos espectros de RMN¹H em presença do reagente de deslocamento Eu(fod)₃, ocorreram mudanças no deslocamento químico do próton benzilidênico em todas as moléculas analisadas, bem como não foi identificado a presença do isômeros *E*, sob diferentes condições de síntese. Em conclusão, apenas o sinal do próton de configuração *Z* foi detectado, apresentando deslocamentos

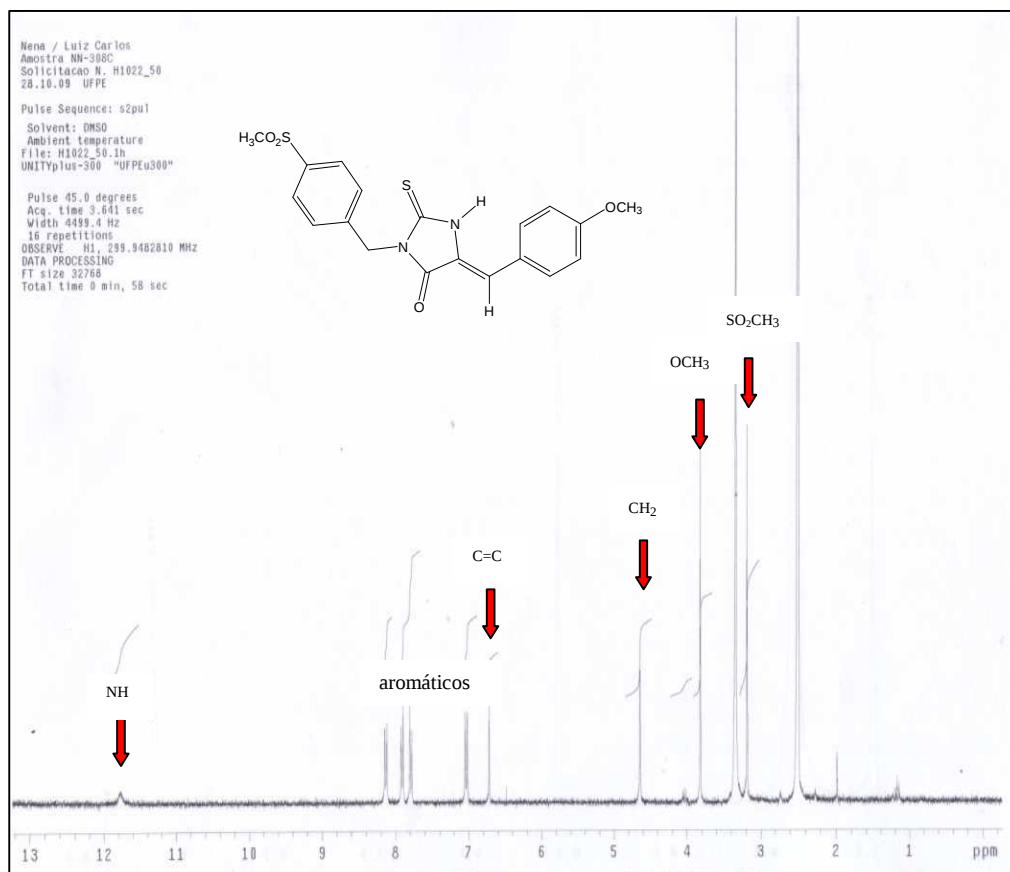
químicos na faixa de 7,72-7,97 ppm. Nos espectros de RMN¹³C, os sinais do CH arilideno apareceram na faixa de 130,1-132,8 ppm. De acordo com Aquino (2007) podemos sugerir que todas moléculas obtidas por essa rota sintética possuem a configuração Z.

Os espectros de infravermelho mostraram fortes bandas de absorções entre 1700 a 1780 cm⁻¹, dando indicio da presença da carbonila na estrutura sintetizada, essas variações nos valores diz respeito ao acoplamento simétrico e assimétrico entre as vibrações das carbonilas (KIMURA & NAGAO, 2003). Os espectros também mostram bandas de absorção na região próxima de 3100cm⁻¹, confirmando a presença de N1-H, assinaladas como modos de estiramento N-H que fazem ligação de hidrogênio (NYQUIST & FIEDLER, 1995). Os espectros mostraram também numerosas bandas na região de 1500 cm⁻¹ (Figura 22), comum em tioxoimidazolidíνας, ocorrendo um acoplamento entre as vibrações C-S (COGROSSI, 1972).

Figura 22: Espectro de IV do derivado imidazolidínico (8a)

Os espectros de RMN ^1H mostraram sinais característicos do N1-H na faixa próximo de 11,00 ppm. (KLEINPETER *et al*, 1997). Com vista nos resultados apresentados, faixas entre 7,8 e 8,0 ppm correspondem aos hidrogênios aromáticos do grupo benzílico, todos substituídos em posição *para* do anel benzílico pelo grupamento sulfonil. Os sinais do grupamento benzilidênico apresentam deslocamentos químicos em duas regiões entre 7,09 – 8,9 ppm. Em trabalho realizado por Aquino (2007) a configuração Z para o hidrogênio dos derivados 5-benzilideno-4-tiazolidinonas foi atribuída com base na análise dos espectros de RMN ^1H , isso nos leva a concluir que nossos compostos apresentem mesma configuração. Os sinais característicos dos grupos =CH e CH₂ apareceram em forma de singletos entre 6,72 - 6,9 ppm e 4,64– 4,65 ppm, respectivamente. Os sinais característicos dos grupos =CH e CH₂ apareceram em forma de singletos entre 6,72 - 6,9 ppm e 4,64– 4,65 ppm, respectivamente (Figura 23).

Figura 23: Ressonância Magnética Nuclear do derivado imidazolidínico (**8a**)



7.2.3. Resultados de *docking*

As soluções de *docking* na estrutura da PPAR γ foram comparadas com a posição de *docking* da rosiglitazona no mesmo receptor, como mostrado nas figuras 24 e 25.

Figura 24: Superposição das soluções de *docking* para as 7 imidazolidinas (modelo lines, várias cores) e da rosiglitazona (modelo stick, em vermelho) para o receptor PPAR- γ (modelo cartoon). A rosiglitazona co-cristalizada (experimental) também está representada (modelo stick, em azul). Todas as figuras foram geradas usando o programa PyMOL [4].

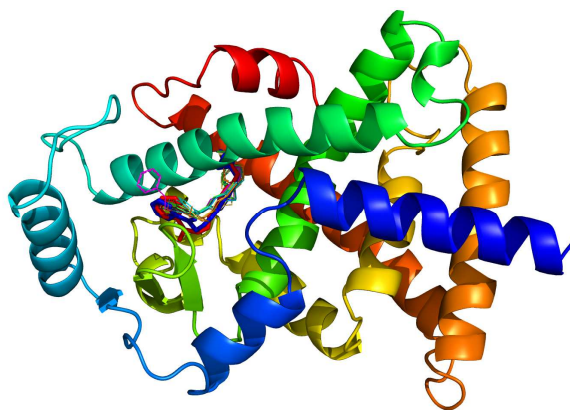
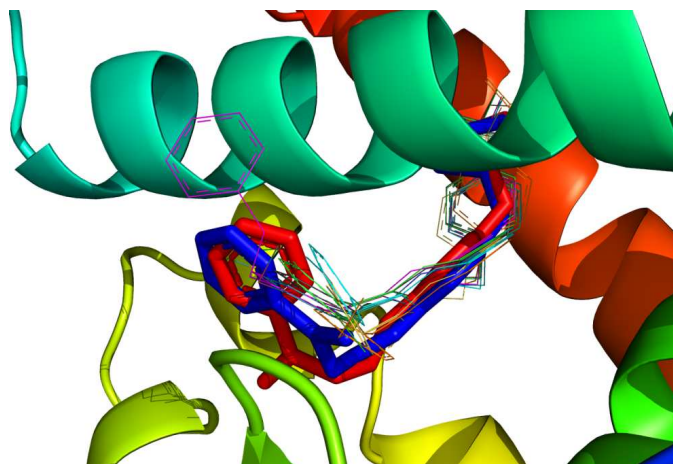


Figura 25: Visão detalhada da superposição (Figura 24) das soluções de docking para as 7 imidazolidinas (modelo lines, várias cores) e da rosiglitazona (modelo stick em vermelho) no sítio ativo do receptor PPAR- γ (modelo cartoon). A rosiglitazona co-cristalizada (experimental) também está representada (modelo stick em azul).



As posições de *docking* para os ligantes foram posicionadas junto com a estrutura do sítio ativo bem caracterizado do PPAR- γ . Em uma análise mais detalhada desses ligantes com o sítio ativo, é possível observar que alguns resíduos importantes estão envolvidos em interações hidrofílicas (ligações de hidrogênio) com as imidazolidinas e a rosiglitazona, como pode ser visto nas figuras 26-27. Um resumo de todas as interações intermoleculares pode ser visto na tabela 2.

Figura 26: Solução de docking para a molécula (**8a**) (modelo stick) e os resíduos importantes (modelo lines em verde) do sítio ativo da PPAR- γ . A rosiglitazona co-cristalizada (experimental) também está representada (modelo lines em azul).

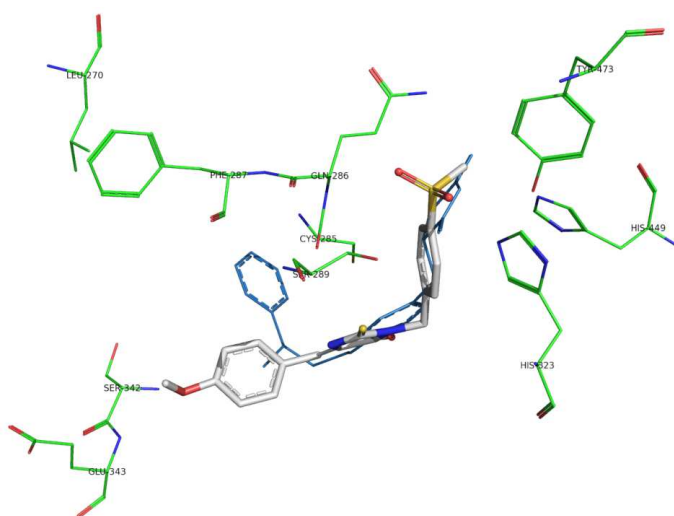
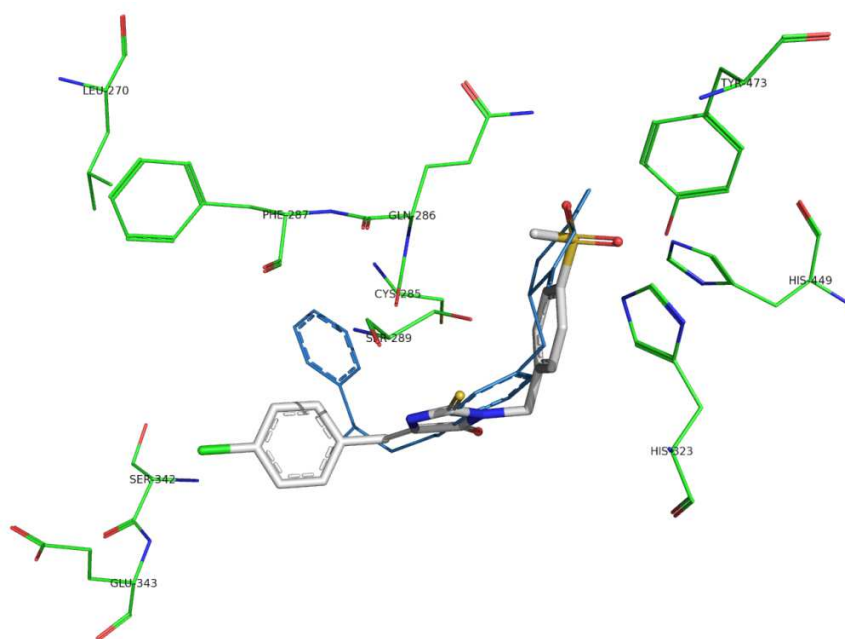


Figura 27. Solução de docking para a molécula (**8b**) (modelo stick) e os resíduos importantes (modelo lines em verde) do sítio ativo da PPAR- γ . A rosiglitazona co-cristalizada (experimental) também está representada (modelo lines em azul).

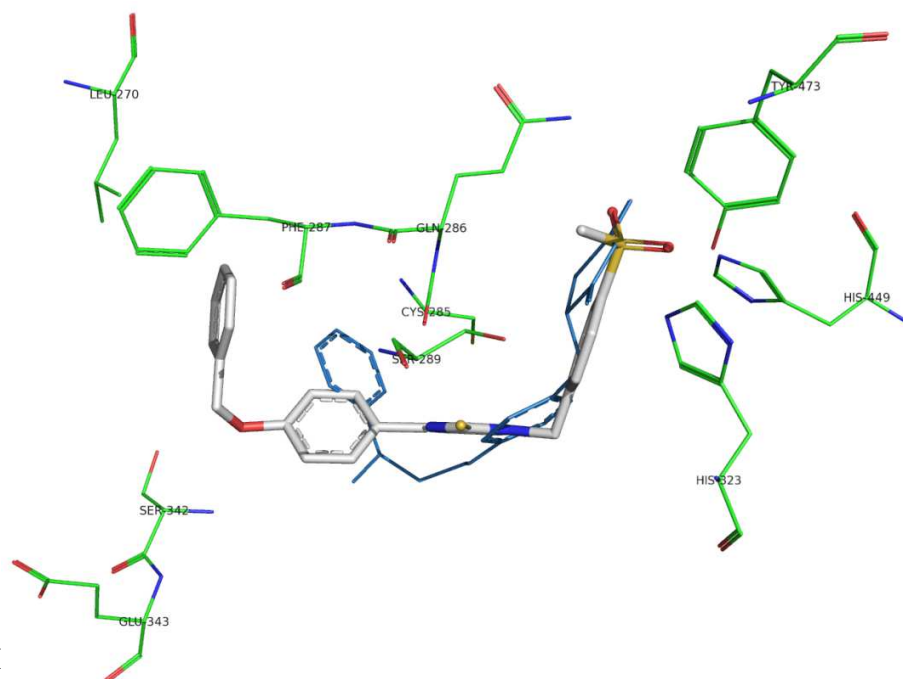


É possível constatar que o grupo sulfona ($\text{O}=\text{S}=\text{O}$) faz ligações de hidrogênio em cada solução de *docking*, o que confirma a grande importância do mesmo para a ligação em PPAR- γ . O anel imidazolidínico também apresenta alta tendência de estabelecer ligações de hidrogênio com o sítio ativo do receptor.

A molécula da série estudada que apresentou a mais alta afinidade (alto score) pelo receptor PPAR- γ foi a 5-(4-benziloxi-benzilideno)-3-(4-metil-sulfonil-

benzil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**8d**), registrando um score de 74,91 como mostrado na figura 28.

Figura 28: Solução de docking para a molécula (**8d**) (modelo stick) e os resíduos importantes (modelo lines em verde) do sítio ativo da PPAR- γ . A rosiglitazona co-cristalizada (experimental) também está representada (modelo lines em azul).



Esta alta afinidade pode ser confirmada, a nível molecular, pelo grande número de interações intermoleculares (ver tabela 2) que estabilizam esta molécula no sítio ativo da enzima.

Tabela 2: Com as interações intermoleculares observadas para as soluções de *docking* em PPAR- γ , juntamente com seus respectivos scores. L.H.: Ligação de Hidrogênio. C.H.: Contatos Hidrofóbicos.

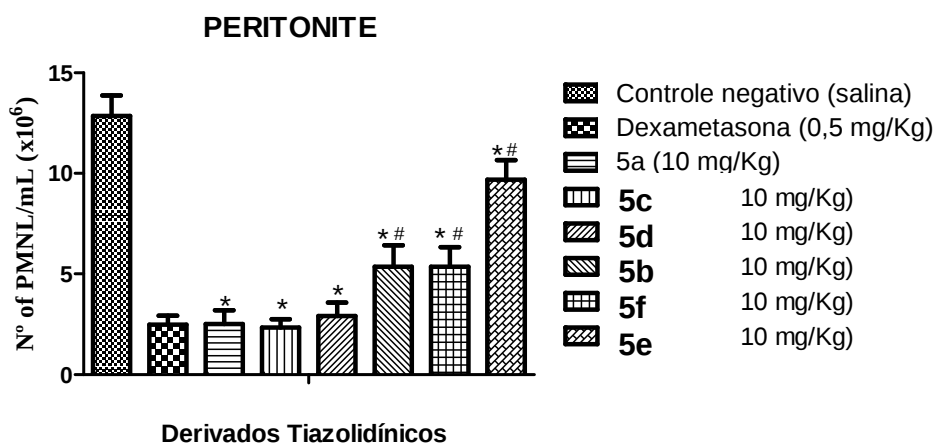
Resíduos	8a	8b	8c	8d	8e	8f	8g	Rosiglitazona
LEU270				C.H.				
CYS285	L.H.			L.H.	L.H.	L.H.	L.H.	L.H.
GLN286		L.H.	L.H.	L.H.	L.H.	L.H.	L.H.	L.H.
PHE287				C.H.				
SER289	L.H.							
SER342	L.H.	L.H.		L.H.		L.H.		L.H.
GLU343	L.H.							
TYR473	L.H.	L.H.	L.H.	L.H.	L.H.	L.H.	L.H.	L.H.
Docking SCORES	66,55	63,22	62,15	74,91	62,03	71,48	70,60	68,04

7.3. Parte Biológica

7.3.1. Peritonite Induzida por Carragenina

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

Todos os derivados tiazolidínicos sintetizados e testados, com exceção do (5e), se mostraram eficientes na inibição da migração celular *in vivo* em teste de peritonite induzida por carragenina e os compostos (5c), (5a) e (5d) foram os agentes anti-inflamatórios mais ativos neste teste. Apresentaram uma atividade anti-inflamatória de 81,8%, 80,6% e 77,4%, respectivamente. Estes resultados estão expressos no Gráfico 1 e na Tabela 3.



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

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

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

Gráfico 1: Percentual de inibição de migração de células polimorfonucleares

Tabela 3: Número de PMNL (média $\pm$ desvio padrão) e percentual de inibição da inflamação pelos derivados Tiazolidínicos (**5a**), (**5c**); (**5d**); (**5b**); (**5f**); (**5e**), no teste da peritonite induzida por carragenina.

Tratamento	Dose (mg/Kg)	PMNL ($\times 10^6$ cél/ml)	Inibição %
Controle	-	$12,86 \pm 1,0$	-
Dexametasona	0,5	$2,48 \pm 0,4$	80,7
5a	10	$2,4 \pm 0,7^*$	80,6
5c	10	$2,34 \pm 0,4^*$	81,8
5d	10	$2,9 \pm 0,7^*$	77,4
5b	10	$5,36 \pm 1,1^*$	58,3
5f	10	$5,36 \pm 1,0^*$	58,3
5e	10	$9,7 \pm 0,9^*$	24,6

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

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

Contudo, a variação da posição do átomo de flúor (posição 6 pela 2) no anel benzílico parece não exercer forte influencia no resultado, haja em vista que o derivado (**5d**) foi responsável por 77,4% de inibição da migração de PMN.

Já a análise sobre a influência que os substituintes do anel benzilidênico exercem sobre a atividade anti-inflamatória revelou que todos os derivados que apresentaram melhor resposta possuem substituintes na posição 4. Também foi observado que a substituição de um átomo de bromo por um uma metóxila na posição 3 do anel benzilidênico foi responsável por um leve aumento da resposta

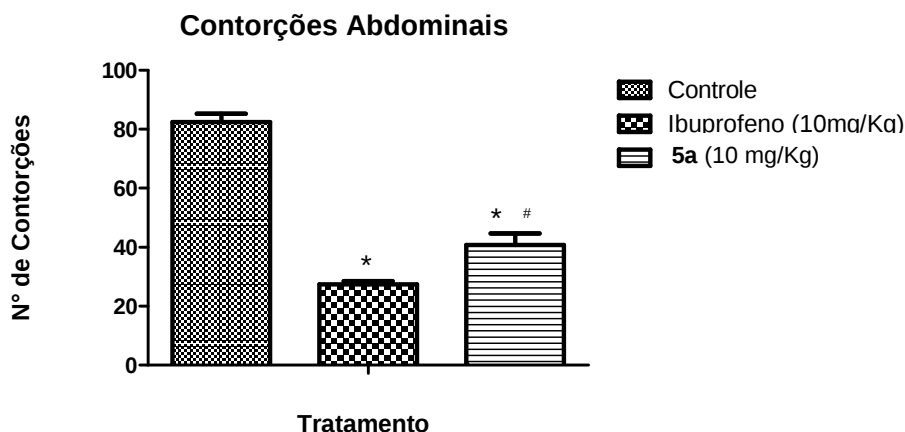
anti-inflamatória, demonstrando o importante papel deste substituinte na atividade anti-inflamatória.

É possível ainda, observar que o fato dos derivados (5b) e (5e) não apresentarem substituintes na posição 4 do anel benzilidênico ressalta que a presença de um substituinte nesta posição seja responsável por elevar seu potencial como agente anti-inflamatório. Porém, embora o derivado (5f), apresente um grupo metóxila nesta mesma posição, gera a hipótese de que a presença de um substituinte na posição 2 do anel benzilidênico possa desfavorecer a atividade anti-inflamatória.

7.3.2. Contorções Abdominais Induzidas por Ácido Acético

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

O composto (5a) foi selecionado para a realização desse teste e comparado frente a ação do ibuprofeno, AINE clássico utilizado no tratamento de distúrbios inflamatórios. Os resultados estão expressos no Gráfico 2 e Tabela 4.



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

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

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

Gráfico 2: Número contorções abdominais

Tabela 4: Número de contorções abdominais (média $\pm$ desvio padrão) e percentual de inibição do derivado tiazolidínico (**5a**), no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético.

Tratamento	Dose (mg/Kg)	PMNL (x 10 ⁶ cél/ml)	Inibição %
Controle	-	82,4 $\pm$ 2,9	-
Ibuprofeno	10	27,4 $\pm$ 1,1*	66,7
5a	10	40,8 $\pm$ 3,8*	50,5

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

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

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

7.3.3. Determinação dos Níveis de Óxido Nítrico

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

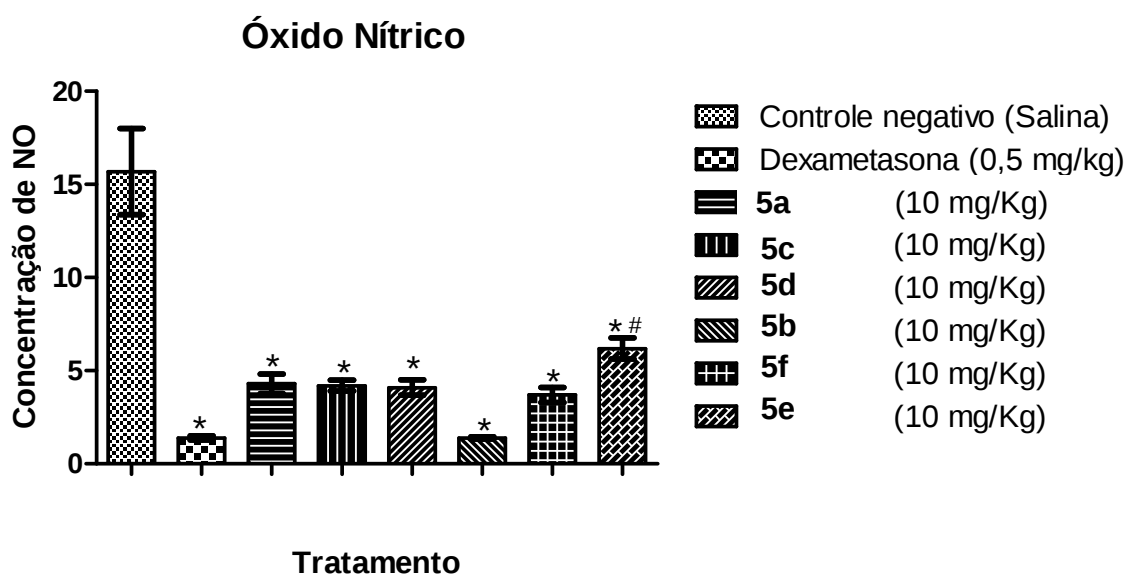


Gráfico 3: Concentração dos níveis de óxido nítrico

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

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

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

O composto (**5b**) revelou-se o mais ativo da série. Para este teste a presença de um único substituinte na posição 3 do anel benzilidênico pode estar relacionado a essa resposta elevada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

8. Conclusões

Neste trabalho foram sintetizado uma série de compostos pertencentes à classe das tioxoimidazolidinas (**8a-g**) e tiazolidínicos (**5a-e**) na tentativa de contribuir de forma positiva na atividade anti-inflamatória, visto que outros trabalhos na literatura mostraram êxito com os mesmos substituintes.

Os compostos foram sintetizados através de eficientes metodologias de síntese e purificação, apresentando rendimentos entre 36-87%. Todos foram caracterizados através de suas propriedades físico-químicas, bem como por métodos espectroscópicos convencionais (RMN¹H, RMN¹³C e IV) e espectrometria de massas para os compostos tioxoimidazolidínicos (**8a-g**). Os espectros de RMN e IV apresentaram-se consistentes com as respectivas estruturas.

Com relação a atividade anti-inflamatória apenas os derivados tiazolidínicos (**5a-f**) foram avaliados. Observamos que os derivados tiazolidínicos (**5a**), (**5b**), (**5c**), (**5f**) e (**5d**) se mostraram eficazes em inibir a migração celular *in vivo* em teste de peritonite induzida por carragenina e os compostos (**5a**), (**5c**) e (**5d**) foram os mais ativos da série e mostraram-se significativamente eficientes. Os derivados tiazolidínicos reduziram significativamente os níveis de NO, sendo o composto e (**5b**) o mais eficiente da série. E o derivado (**5a**) apresentou-se eficaz no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético.

REFERÊNCIAS

9. Referências

ABBAS AK, LICHTMAN AH, PILLAI S. Cellular and molecular immunology. 7th ed. Philadelphia, PA: **Elsevier Saunders**; 2012.

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

AMERICAN SOCIETY OF HOSPITAL P, drug information. Bethesda, MD: **American Society of Health-System Pharmacists, Inc**; 2010.

BARROS, C.D.; AMATO, A.A.; OLIVEIRA, T.B.; IANNINI, K.B.R.; SILVA, A.L.; SILVA, T.G.; LEITE, E.S.; HERNANDES, M.Z.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; NEVES, F.A.R.; PITTA, I.R. Synthesis and anti-inflammatory activity of new arylidene-thiazolidine-2,4-diones as PPAR α ligands. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v.18. p.3805–11. 2010.

BARTELS A.L., K.L. LEENDERS, Cyclooxygenase and neuroinflammation in Parkinson's disease neurodegeneration, **Curr. Neuropharmacol**. 62-68. 8. 2010.

BENNETT WM, HENRICH WL, STOFF JS. The renal effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: summary and recommendations. **Am J Kidney Dis**. 56-62. 8. 1996

BERGER J, MOLLER DE. The mechanisms of action of PPAR's. **Annu Rev Med**;53: 409–35. 2002

BERNARDI A, ZILBERSTEIN ACCV, JÄGER E, CAMPOS MM, MORRONE

WHITEHOUSE, M.W. Some biochemical and pharmacological properties of anti-inflammatory drugs, **progress in Drug Research**, ,8, 321. **1965**

BILITY, M.T., ZHU, B., KANG, B.H., GONZALEZ, F.J., PETERS, J.M.,. Ligand Activation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-beta/{delta}(PPAR{beta}/{delta}) and Inhibition of Cyclooxygenase 2 (COX2) Enhances Inhibition of Skin Tumorigenesis. **Toxicol. Sci.** 113, 27–36. 2010

CAIN D, KONDO M, CHEN H, KELSOE G. Effects of acute and chronic inflammation on B-cell development and differentiation. **J Invest Dermatol**;129(2):266–77. 2009

CANDELARIO-JALIL E., B.L. FIEBICH, Cyclooxygenase inhibition in ischemic brain injury, **Curr. Pharm. Des.** 1401-1418. 14. 2008

CHACKO, B.K., SCOTT, D.W., CHANDLER, R.T., PATEL, R.P., 2011. Endothelial surface Nglycansmediate monocyte adhesion and are targets for anti-inflammatory effects ofperoxisome proliferator-activated receptor c ligands. **J. Biol. Chem.** 286, 38738–38747. 2011

CHANDRASEKHARAN NV, DAI H, ROOS KL, EVANSON NK, TOMSIK J, ELTON TS, COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. **ProcNatlAcadSci USA.** 13926-31; 21; 2002.

CHARLIER C., C. MICHAUX, EUR. **J. Med. Chem.** 38, 645. 2003

CONAGHAN PG. A turbulent decade for NSAIDs: update on current concepts of classification, epidemiology, comparative efficacy, and toxicity. **Rheumatol Inter.** 1491-502. 32 (6) 2012.

COUTO, J.A. **Novos Compostos 5-(4-metil-sulfonil-benzilideno)-imidazolidínicos e tiazolidínicos: Síntese, Elucidação Estrutural e Atividade Antiinflamatória.** 2006. (Mestrado em Biotecnologia de Produtos Bioativos) Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brasil.

COUTO, J.A; SARAIVA, K.L.A.; BARROS, C.D.; UDRISAR, D.P.; PEIXOTO, C.A.; VIEIRA, J.S.B.C.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; Wanderley, M.I. Effect of chronic treatment with Rosiglitazone on Leydig cell steroidogenesis in rats: *In vivo* and *ex vivo* studies. **Reproductive Biology and Endocrinology**. v. 8. n.13. p.1-9. 2010.

DA COSTA LEITE, L.F.; MOURÃO, R.H.V.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; HERNANDES, M.Z.; NEVES, F.A.R.; VIDAL, S.; BARBE, J.; PITTA, I.R.; Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies of arylidene-thiazolidinediones with potential hypoglycemic and hypolipidemic activities, **European Journal of Medicinal Chemistry**. v.42. p.1263-71. 2007.

DANNHARDT G., W. KIEFER, Cyclooxygenase inhibitors e current status and future prospects, **Eur. J. Med. Chem.** 109-126. 36. 2001.

DAVÌ G, FALCO A. Oxidant stress, inflammation and atherogenesis. **Lupus**;14 (9):760–4. 2005

DAVIES NM, GOOD RL, ROUPE KA, YANEZ JA. Cyclooxygenase-3: axiom, dogma, anomaly, enigma or splice **J Pharm Pharm Sci.** 217-26 9;7(2), 2004

DESAI, N.C.; DODIYA, A.; SHIHORY, N. Synthesis and antimicrobial activity of novel quinazolinone–thiazolidine–quinoline compounds. **Journal of Saudi Chemical Society**. 2011.

DI PAOLA, R., ESPOSITO, E., MAZZON, E., PATERNITI, I., GALUPPO, M., CUZZOCREA, S., selective PPAR-beta/delta agonist, contributes to the resolution of inflammation after gut ischemia/reperfusion injury. **J. Leukoc. Biol.** 88, 291–301. 2010

DUFTON, N., PERRETTI, M., Therapeutic anti-inflammatory potential of formylpeptide receptor agonists. **Pharmacol. Ther.** 127, 175–188. 2010

DURRENBERGER, P.F., GRUNBLATT, E., FERNANDO, F.S., MONORANU, C.M., EVANS, J., RIEDERER, P., REYNOLDS, R., DEXTER, D.T., Inflammatory Pathways in Parkinson's Disease; A BNEMicroarray Study. **Parkinsons Dis.** 21471. 2012.

EIKELENBOOM, P., HOOZEMANS, J.J., VEERHUIS, R., VAN EXEL, E., ROZEMULLER, A.J., VAN GOOL, W.A.,. when and how chronic inflammation increases the risk of developing late-onset **Alzheimer's disease.** **Alzheimers Res. Ther.** 4, 15. 2012

EREN G., S. UNLU, M.T. NUNEZ, L. LABEAGA, F. LEDO, A. ENTRENA, E. BANOGLU, G. COSTANTINO, M.F. Sahin, **Bioorg. Med. Chem.** (18) 6367. 2010.
ESSEX MN, ZHANG RY, BERGER MF, UPADHYAY S, PARK PW. Safety of celecoxib compared with placebo and non-selective NSAIDs: cumulative meta-analysis of 89 randomized controlled trials. **Expert Opin Drug Safety.** 465-77. 12 (4) 2013

FAJAS, L., DEBRIL, M.B., AUWERX, J. PPAR gamma: an essential role in metabolic control. **Nutr. Metab. Cardiovasc.**, 64–69. 11. 2001

FLOWER R.J., The development of COX-2 inhibitors, **Nat. Rev. Drug. Discov.** 179e191. 2003

FRANKS, A.L., SLANSKY, J.E. Multiple associations between a broad spectrum of autoimmune diseases, chronic inflammatory diseases and cancer. **Anticancer Res.** 32, 1119–1136. 2012

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

FITZGERALD GA. Prostaglandins, Aspirin, and Related Compounds. In: Goldman L, Ausiello D, editors. Cecil Textbook of Medicine: **Elsevier Science Health Science div**; 2003

FRÖDE TS, MEDEIROS YS. Myeloperoxidase and adenosine-deaminase levels in the pleural fluid leakage induced by carrageenan in the mouse pleurisy model. **Mediat Inflamm**;10(4):223–7.2001

GOSEPATH J, BRIEGER E. GLETSOU E, MANN W J. Expression and localization of cyclooxygenases (Cox-1 and Cox-2) in nasal respiratory mucosa. Does Cox-2 play a key role in the immunology of nasal polyps. **J Invest Allergol Clin Immunol**: 114-118. 14: 2004

HARIRFOROOSH S, JAMALI F. Renal adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Expert Opin Drug Saf.* 669-81. 8. (6). 2009.

HAZRA, S., PEEBLES, K.A., SHARMA, S., MAO, J.T., DUBINETT, S.M., The Role of PPARgamma in the Cyclooxygenase Pathway in Lung Cancer. **PPAR Res.** 2008.

HEBEDA, C.B., TEIXEIRA, S.A., TAMURA, E.K., MUSCARA, M.N., DE MELLO, S.B., MARKUS, R.P., FARKSY, S.H., Nitric oxide modulates lipopolysaccharide-induced endothelial platelet endothelial cell adhesion molecule expression via interleukin-10. **Clin. Exp. Immunol.**, 172–179. 165. 2011.

HONG C., TONTONNOZ P.; Coordination of inflammation and metabolism by ppar and lxr nuclear receptors. **Curr Opin Genet Dev**, v. 18, p1-7. 2008

HOUSEKNECHT, K.L.; COLE, B.M.; STEELE, P.J. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) and its ligands: A review. **Domestic Animal Endocrinology**. v.22. p.1–23. 2002.

HSIN-HSIUNG TAI B, HOON CHO A,C,. Synthesis and SAR of thiazolidinedione derivatives as 15-PGDH inhibitors Ying Wua, **Bioorganic & Medicinal Chemistry** 1428–1433; 18; 2010.

IWASAKI A, MEDZHITOV R. Regulation of adaptive immunity by the innate system. **Science**;327(5963):291–5. 2010

JAMALI F. Pharmacokinetics of enantiomers of chiral non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Eur J Drug Metab Pharmacokinet**. 1-9. 1. 1988

Ji, R.R., XU, Z.Z., STRICHARTZ, G., SERHAN, C.N., Emerging roles of resolvins in the resolution of inflammation and pain. **Trends Neurosci**. 34, 599–609. 2011.

JOSHUA D. ROSENBLAT A,B, DANIELLE S. CHA A, RODRIGO B. MANSUR A,C,D, ROGER S. McIntyre a. A review the interactions between inflammation and mood disorders. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, 23–34; 2014.

JUNGBAUER, A., MEDJAKOVIC, S.,. Anti-inflammatory properties of culinary herbs andspices that ameliorate the effects of metabolic syndrome. **Maturitas** 71, 227–239.2012

KARALIS, K.P., GIANNOGONAS, P., KODELA, E., KOUTMANI, Y., ZOUMAKIS, M., TELI, T., Mechanisms of obesity and related pathology: linking immune responses to metabolic stress. **FEBS J.** 276, 5747–5754. 2009

KNIGHTS KM, WINNER LK, ELLIOT DJ, BOWALGAHA K, MINERS JO. Aldosterone glucuronidation by human liver and kidney microsomes and recombinant UDP-glucuronosyltransferases: inhibition by NSAIDs. **Britj Clin Pharmacol.** 402-12. 68(3). 2009.

LEHMANN, J.M.; MOORE, L.B.; SMITH-OLIVER, T.A.; WILKISON, W.O.; WILLSON, T.M.; KLIEWER, S.A. An anti-diabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor- γ . **J Biol Chem.** v.270. p.12953–6. 1995.

LIU, X.F.; ZHENG, C.J.; SUN, L.P.; LIU, X.K.; PIAO,H.R. Synthesis of new chalcone derivatives bearing 2,4-thiazolidinedione and benzoic acid moieties as potential anti-bacterial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry.** v.46. p.3469-73. 2011.

MAGALHÃES, L.R. **Síntese e Avaliação das Atividades Anti-inflamatória e Antinociceptiva de Derivados 5-benzilideno-3-(fenil-benzil)-tiazolidina-2,4-dionas.** 2007.(Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) Laboratório de Tecnologia Farmacêutica - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil

MAREK L. KOWALSKI, MD, DONALD D. STEVENSON, Classification of Reactions to Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs **Immunol Allergy Clin N A** 135–145. 33. 2013

MCADAM B.F., F. CATELLA-LAWSON, I.A. MARDINI, J.A. LAWSON, G.A. FITZGERALD, Systemic biosynthesis of prostacyclin by cyclooxygenase (COX)-2: the human pharmacology of a selective inhibitor of COX-2, **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** .272-277. 96. 1999.

MCCARBERG B, TENZER P. Complexities in the pharmacologic management of osteoarthritis pain. **Current medical research and opinion**. 2013.

MCCORMACK, P.L., Celecoxib: a review of its use for symptomatic relief in the treatment of osteoarthritis, rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. **Drugs** 71, 2457–2489. 2011

MCGETTIGAN P, HENRY D. Use of non-steroidal anti-inflammatory drugs that elevate cardiovascular risk: an examination of sales and essential medicines lists in low-, middle-, and high-income countries. **PLoS medicine**. 10(2): 2013.

MEADE EA, SMITH WL, DEWITT DL. Differential inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase (cyclooxygenase) isozymes by aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. **J Biol Chem**. 25;268(9):6610-4. 1993

MEYER, S., VOGT, T., LANDTHALER, M., BERAND, A., REICHLE, A., BATAILLE, F., MARX, A.H., MENZ, A., HARTMANN, A., KUNZ-SCHUGHART, L.A., WILD, P.J., Cyclooxygenase 2 (COX2) and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPARG) Are Stage-Dependent Prognostic Markers of Malignant Melanoma. **PPAR**, 2009.

MILLER AH, MALETIC V, RAISON CL. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. **Biol Psychiatry** 5(9):732–41, 2009

MOURÃO R.H.; SILVA, T.G.; SOARES, A.L.M.; VIEIRA, E.S.; SANTOS, J.N.; LIMA, M.C.A.; LIMA, V.L.M.; GALDINO, S.L.; BARBE, J.; PITTA, I.R. Synthesis and Biological Activity of Novel Acridinylidene and Benzyldiene thiazolidinediones. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 40. p. 1129–33. 2005.

MÜLLER N., COX-2 inhibitors as antidepressants and antipsychotics: clinical evidence, **Curr. Opin. Investig. Drugs** 31-42. 11. 2010.

NISSEN S.E., Cox-2 inhibitors and cardiovascular disease: considerable heat, but not much light, **Eur. Heart J**. 2631-2633. 33. 2012

PANCIONE, M., FORTE, N., SABATINO, L., TOMASELLI, E. PARENTE, D., FEBBRARO, A., COLANTUONI, V.,. Reduced beta-catenin and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma expression levels are associated with colorectal cancer metastatic progression: correlation with tumor-associated macrophages, cyclooxygenase 2, and patient outcome. **Hum. Pathol**. 40, 714–725. 2009.

PARK, Y.S., LILLEHOJ, E.P., KATO, K., PARK, C.S., KIM, K.C., PPARc inhibits airway epithelial cell inflammatory response through a MUC1-dependent mechanism. **Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol**. 302, 679–687. 2012

PENNING T.D., J.J. TALLEY, S.R. BERTENSHAW, J.S. CARTER, P.W. COLLINS, S. DOCTER, M.J. GRANETO, L.F. LEE, J.W. MALECHA, J.M. MIYASHIRO, R.S. ROGERS, D.J. ROGIER, S.S. YU, G.D. ANDERSON, J.N. COGBURN, S.A. GREGORY, C.M. KOBOLDT, W.F. PERKINS, K. SEIBERT,

A.W. VEENHUIZEN, Y.Y. ZHANG, P.C. ISAKSON, Synthesis and biological evaluation of the 1,5-diarylpyrazole class of cyclooxygenase-2 inhibitors: identification of 4-[5-(4-methylphenyl)-3- (trifluoromethyl)-1H-pyrazol-1-yl] benzenesulfonamide (SC-58635, celecoxib), **J. Med. Chem.** 1347-1365. 40. 1997

PEPPA M, KRANIA M, RAPTIS SA. Hypertension and other morbidities with Cushing's syndrome associated with corticosteroids: a review. **Integr Blood Press Control** 7–16, 4, 2011

PEREIRA, D.T.M. **Síntese, Comprovação Estrutural e Atividade Antiinflamatória de Compostos Tiazolidinônicos-3,5-Dissubstituídos.** 2007. (Doutorado em Ciências Biológicas) Departamento de Antibióticos – Universidade Federal de Pernambuco. Recife, Brasil.

PERRETTI, M., D'ACQUISTO, F., Annexin A1 and glucocorticoids as effectors of the resolution of inflammation. **Nat. Rev. Immunol.** 9, 62–70. 2009

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

PODDUBNYY D, SONG IH, SIEPER J. A systematic comparison of rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis: non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Clin Exp Rheumatol.** 148-51. 2009.

PRASIT P., Z. WANG, C. BRIDEAU, C.-C. CHAN, S. CHARLESON, W. CROMLISH, D. ETHIER, J.F. EVANS, A.W. FORD-HUCHINSON, J.Y. GAUTHIER, R. GORDON, J. GUAY, M. GRESSER, S. KARGMAN, B. KENNEDY, Y. LEBLANC, S. LEGER, J. MANCINI, G.P. O'NEIL, M. OUELLET, M.D. PERCIVAL, H. PERRIER, D. REINDEAU, I. RODGER, P.

TAGARI, M. THERIAN, P. VICKERS, E. WONG, L.-J. XU, R.N. YOUNG, R. ZAMBONI, S. BOYCE, N. RUPNIAK, M. FORREST, D. VISCO, D. PATRICK, The discovery of rofecoxib, [MK 966, Vioxx, 4-(4'-methylsulfonylphenyl)-3-phenyl-2(5H)-furanone], an orally active cyclooxygenase-2-inhibitor, **Bioorg. Med. Chem.Lett.** 1773-1778. 9. 1999

RADOGNA F, DIEDERICH M, GHIBELLI L. Melatonin: a pleiotropic molecule regulating inflammation. **Biochem Pharmacol**;80(12):1844–52 15. 2010

RAO P, KNAUS EE. Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond. **J Pharm Pharm Sci.** 81-110. 11 (2) 2008.

ROBERTS LJ, MORROW JD. Analgesic-Antipyretic and Antiinflammatory Agents and Drugs Employed in the Treatment of Gout. **Biochem Pharmacol** 2001.

SOSTRES, C., GARGALLO, C.J., ARROYO, M.T., LANAS, A. Adverse effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. *Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 24, 121–132. 2010

SUN, W.H., CHEN, G.S., OU, X.L., YANG, Y., LUO, C., ZHANG, Y., SHAO, Y., XU, H.C., XIAO, B., XUE, Y.P., ZHOU, S.M., ZHAO, Q.S., DING, G.X., Inhibition of COX-2 and activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma synergistically inhibits proliferation and induces apoptosis of human pancreatic carcinoma cells. **Cancer Lett.** 275, 247–255. 2009.

SZÉLES L, TÖRÖCSIK D, NAGY L. PPAR γ in immunity and inflammation: cell types and diseases. **Biochim Biophys Acta** 1014–30; 8; 2007;

THOMAS, G.; **Química Medicinal – Uma Introdução**, 1a ed., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2003

WARNER TD, GIULIANO F, VOJNOVIC I, BUKASA A, MITCHELL JA, VANE JR. Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: a full in vitro analysis. **ProcNatlAcadSci USA**. 7563-8. 96 (13). 1999.

WAGNER W, KHANNA P, FURST DE. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, Disease-Modifying Antirheumatic Drugs, Nonopioid Analgesics, & Drugs Used in Gout. In: Katzung BG, editor. **Basic & Clinical Pharmacology**: 2003.

WILSON, T.M.; COBB, J.E.; COWAN, D.J.; WIETHE, R.W.; CORREA, I.D.; PRAKASH, S.R.; BECK, K.D.; MOORE, L.B.; KLIEWER, S.A.; LEHMANN, J.M. The structure activity relationship between peroxisome proliferator-activated receptor- γ agonism, and anti-hyperglycemic activity of thiazolidinediones. **J Med Chem**.v.39. p.665–8. 1996.

ZIDAR N, ODAR K, GLAVAC D, JERSE M, ZUPANC T, STAJER D. Cyclooxygenase in normal human tissues--is COX-1 really a constitutive isoform, and COX-2 an inducible isoform. **J Cell Mol Med**. 3753-63. 2009

Activity Anti-Inflammatory and *in silico* study of new Thiazolidinedione Derivatives

Received 8th May 2014

Accepted 2014

Published 2014

LAUDELINA R. DE MAGALHÃES
IANE BEZERRA VASCONCELOS ALVES
EVERALDO DOS SANTOS
VINÍCIUS BARROS RIBEIRO DA SILVA
LUIZ CARLOS APOLINÁRIO DA SILVA
ANEKÉCIA LAURO DA SILVA
LEIDIANE CARLA LIRA DE OLIVEIRA
ANNE CECÍLIA NASCIMENTO DA CRUZ
BRUNO IRAQUITAN MIRANDA DA SILVA
LÚCIA FERNANDA C. DA COSTA LEITE
MARCELO HERNANI ZALDINI
IVAN DA ROCHA PITTA
TERESINHA GONÇALVES DA SILVA
MARIA DO CARMO ALVES DE LIMA

Original Research Article

ABSTRACT

Aims: Evaluation of the anti-inflammatory properties of new thiazolidine-2,4-diones derivatives.

Study Design: Study the effects of new thiazolidine-2,4-diones derivatives on the inflammatory process.

Place and Duration of Study: Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), between June 2011 and July 2012.

Methodology: Compounds thiazolidine-2,4-diones were tested for anti-inflammatory activity by air pouch model. Swiss albino mice were used for the study. Air cavities were produced by subcutaneous injection of 2.5 mL of sterile air into the intrascapular area of the back. An additional 2.5 mL of air was injected into the cavity every 3 days to keep the space open. Seven days after the initial air injection, 1 mL of a 1% solution of carrageenan dissolved in saline was injected directly into the pouch to produce an inflammatory response.

The compounds thiazolidine-2,4-diones and standard piroxicam were tested at doses of 3 mg/kg body weight. The total number of polymorphonuclear leukocytes (PMNL) was counted using an improved.

Results: The results support the use of these derivatives in inflammatory process. Among the compounds tested the ones that showed a greater effect in inhibiting the migration of neutrophils were the 3a, 3b, 3c, 3d and 3e. The anti-inflammatory effects showed by 3a-j were promising, probably due to the duality of action on PPAR alpha and gamma.

Conclusion: In conclusion, this study has shown that the thiazolidine derivatives do possess significant anti-inflammatory effects in laboratory animals. The exact mechanism and the bioactive principles responsible for these actions remain to be explained.

Keywords: Thiazolidinedione; molecular modeling; anti-inflammatory properties

1. INTRODUCTION

Thiazolidine-2,4-diones have been extensively studied owing to their involvement in the regulation of various physiological processes such as cell proliferation, angiogenesis, inflammation, and glucose metabolism [1]. These compounds show significant antidiabetic [2], antimicrobial [3], antichagasic [4,5,6], anti-HIV [7], anti-inflammatory [8], antiatherosclerotic [9] and anticancer [10,11,12] activities.

The inflammatory response involves the sequential release of mediators and the recruitment of circulating leukocytes, which become activated at the inflammatory site and release further mediators. This response is self-limiting and resolves

through the release of endogenous anti-inflammatory mediators and the clearance of inflammatory cells. The persistent accumulation and activation of leukocytes is a hallmark of chronic inflammation. Current approaches to the treatment of inflammation rely on the inhibition of pro-inflammatory mediator production and of mechanisms that initiate the inflammatory response [1]. However, the mechanisms by which the inflammatory response resolves might provide new targets in the treatment of chronic inflammation. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) are members of the intracellular hormone receptors family and act as ligand-activated transcription factors [2]. The three receptors, PPAR α , PPAR δ e PPAR γ , are encoded by different genes but show substantial amino acid similarity, especially within the DNA and ligand binding domains. Synthetic PPAR α ligands such fibrates (eg. Fenofibric acid) are used in patients to lower triglyceride-rich lipoproteins [3]. Some Thiazolidine-2,4-dione derivatives (TZDs) such as rosiglitazone, pioglitazone and troglitazone were clinically and commercially available as antidiabetic drugs in the treatment of type 2 diabetes acting via PPAR γ . These three thiazolidines share a common thiazolidine-2,4-dione structure that is responsible for the majority of their pharmacological effects, including anti-inflammatory ones [13].

Recently, there has been a great deal of interest in the involvement of PPAR in inflammation [4]. We were the first to report that mice with deficient PPAR α presented a increased inflammatory response induced by leukotriene B₄ and arachidonic acid. There are evidences from *in vitro* and *in vivo* studies demonstrating that PPAR α agonists may present anti-inflammatory activity. Fenofibrate e gemfibrozil inhibit the production of interleukin IL-6 e prostaglandins (PG) and the expression of cyclooxygenase (COX)-2 genes induced by IL-1 β in the smooth muscle cells [5]. Other PPAR α agonists, clorofibrate and WY-14643, also inhibit the expression of genes for IL-6 and IL-8 in human keratinocytes irradiated with ultraviolet light. *In vivo* studies have given further support to the inhibitory effects of PPAR α agonists on cytokines production and also demonstrated that they inhibit the edema and cell influx into the skin in experimental models of dermatitis. PPAR α agonists inhibit the edema and thermal allodynia induced by carrageenan in rats [6]. The variety of the biological activities attributed to the thiazolidine derivatives motivated us to use them as prototypes on the synthesis of the 5-arylidene-3-(4-phenyl-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione series. According to previous knowledge of the distinct pharmacophoric subunits of the series 5-arylidene-3-(4-phenyl-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione employing methodological strategies of medical chemistry, the purpose of this work was to evaluate ten new bioactive thiazolidinic derivatives substituted on the position 3 and 5 by the 4-phenyl-benzyl and arylidene, respectively [7]. In particular, we investigated the anti-inflammatory and activities by using the air pouch model and peritonitis induced by carrageenan.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Chemical

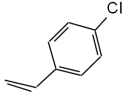
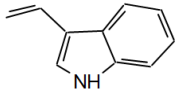
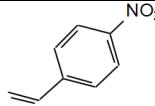
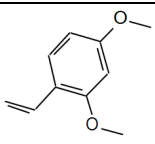
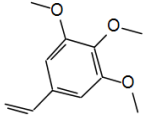
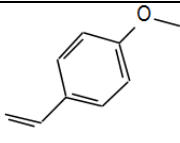
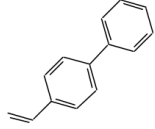
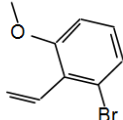
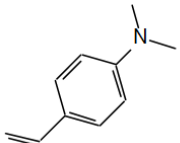
The derivatives 5-arylidene-3-(4-phenyl-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione (3a-3j) were synthesized and provided by the Research Center on Therapeutic Innovation of the Federal University of Pernambuco, Brazil (Table 1). The carrageenan and piroxicam were purchased from Sigma. The compounds tested and the standard drugs were dissolved in saline solution containing tween 80 (9:1; v/v).

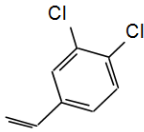
2.2 Biological Activity

Compounds 3a-j were tested for anti-inflammatory activity by air pouch model, as previously described [11, 12]. All experimental procedures described below were approved by the Animal Care Committee of the Universidade de Federal de Pernambuco (processo nº 001046/207-42). Swiss albino mice of either sex weighing between (25-30 g) were used for the present study. They were housed in plastic cages (6 per cage) and maintained in a light and humidity controlled environment. Food and water were allowed ad libitum. For 8 h prior to an experiment, the mice were deprived of food but not water. Air cavities were produced by subcutaneous injection of 2.5 mL of sterile air into the intrascapular area of the back. An additional 2.5 mL of air was injected into the cavity every 3 days to keep the space open.

Table 1. Structure of new thiazolidine-2,4-diones derivatives used in this study

Compound	Radicals	Yield (%)
3-(4-phenyl-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione	-	85

5-(4-chloro-benzylidene)-3-(4-phenyl-benzyl)-thiazolidine-2,4- dione (3a, R= 4-Chloro)		89
3-(4-phenyl-benzyl)-5-(indol-3-yl-methylene)-thiazolidine-2,4-dione (3b, R= 5-indole)		75
5-(4-nitro-benzylidene)-3-(4-phenyl-benzyl)-thiazolidine-2,4- dione (3c, R= 4-nitro)		56
5-(2,4-dimethoxy-benzylidene)-3-(4-phenyl-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione (3d, R= 2,4-dimethoxy)		46
5-(3,4,5-trimethoxy-benzylidene)-3-(4-phenyl-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione (3e, R= 3,4,5-trimethoxy)		74
5-(4-methoxy-benzylidene)-3-(4- phenyl-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione (3f, R= 4-methoxy)		84
5-(4-phenyl-benzylidene)-3-(4-phenyl-benzyl)-thiazolidine-2,4- dione (3g, R= 4-phenyl)		63,5
5-(2-methoxy-5-bromo-benzylidene)-3-(4-phenyl-benzyl)- thiazolidine-2,4-dione (3h, R= 2- methoxy-5-bromo)		79
5-(4-N,N-dimethylamine- benzylidene)-3-(4-phenyl-benzyl)- thiazolidine-2,4-dione (3i, R=4-N-dimethyl-amine)		56

5-(3,4-dichloro-benzylidene)-3-(4-phenyl-benzyl)-thiazolidine-2,4- dione (3j, R= 3,4-dichloro)		39
--	---	----

Seven days after the initial air injection, 1mL of a 1% solution of carrageenan (Sigma) dissolved in saline was injected directly into the pouch to produce an inflammatory response. The doses were chosen according to previously published data by our group using similar compounds [13]. The compounds 3a-3j and standard piroxicam in the doses 3 mg/kg or vehicle (water/Tween 80, 95:5 v/v) were administered orally 1h before injection of carrageenan (1 mL; 1% w/v in saline) into the air pouch. After 6h of injection of carrageenan, mice were killed and pouches washed thoroughly with 3 mL of phosphate buffer solution (PBS) containing 50mUI/mL heparine. The total number of polymorphonuclear leukocytes (PMNL) was counted using an improved.

2.3 Docking

The structural optimization of the 5-arylidene-3-(4-phenyl-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione (3a-3j), and piroxicam were initially obtained using the AM1 method [14] implemented at the BioMedCache program BioMedCACHe version 6.1, [Copyright ©2000-2003 Fujitsu Limited, Copyright©1989-2000, Oxford Molecular Ltd.[10] using default values for the convergence criteria. The target structures used in the docking studies were taken from the RCSB Protein Data Bank (13) under the PDB code 1K7L for the peroxisome proliferator activated receptor - alpha (PPAR α) protein co-crystallized with 2-(1-methyl-3-oxo-3-phenyl-propylamino)-3-{4-[2-(5-methyl-2-phenyl-oxazol-4-yl)-ethoxy]-phenyl}-propionic acid (544) and the PDB code 2HWQ for the peroxisome proliferator activated receptor - gamma (PPAR γ) protein co-crystallized with the [(1-{3-[(6-benzoyl-1-propyl-2-naphthyl)oxy]propyl}-1h-indol-5-yl)oxy]acetic acid (DRY). It should be remarked that the certification of these proteins as possible targets for the anti-inflammatory activity was based in the literature [15]. The structure of only one monomer per protein was chosen as target for docking studies. The Gold 4.0 Software was used for these computations, taking the ligand flexibility (main torsions) into account during the calculations [16]. The protein active site, in each case, was defined as all residues within a radius of 5 Å from any atom of the co-crystallized ligand, respectively. The theoretical binding profile proposed for these ligands with PPAR α and PPAR γ was determined as the highest (most positive) scored among 10 possible solutions for each ligand

generated according to the GOLD Docking Score function. Additionally, each one of the co-crystallized ligands was submitted to a re-docking procedure in order to certify the quality of the docking protocol.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The results are expressed as mean $\pm$ S.E.M. The statistical analysis was performed by analysis of variance (one-way ANOVA) followed by Tukey's Multiple Comparison Test. Results obtained are described in Table 2 and 2.1.

The number of animal was 6 in each group. The probability values were calculated using one way ANOVA followed by Tukey's Multiple Comparison Test: *P < 0.05 vs. control; #P < 0.05 vs. piroxicam; piroxicam vs. 3j = NS.

The most stable docking score for the 5-arylidene-3-(4-phenyl-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione (**3a-3j**) besides co-crystallized ligands 544 and DRY, and Piroxicam, (standard drug with anti-inflammatory activities) were shown in Table 3 for the two investigated targets. The docking values are in agreement with experimental ones. The structure of the 3d ligand showed a high affinity value with the target PPAR α in accordance with the *in vivo* activity (Table 3). The ligand 3d, also, shows high affinity for the PPAR γ target by silico approach, i.e., with high docking scores. The docking scores for Piroxicam is smaller than all compounds 3a-j studied for PPAR α and PPAR γ .

Table 2. Number of polymorphonuclear leukocytes (average $\pm$ standard error) found in the air pouch six hours after the induction of the inflammation

Compounds – Dose (3mg/Kg)	Molar Concentration	Nº of PMNL/mL (x106)	Percentage (%) of cellular migration inhibition
------------------------------	---------------------	----------------------	---

3a	7,398 mMols/kg	3.60 ± 0.06*#	91.3
3b	7,31 mMols/kg	13.0 ± 1.17*#	68.5
3c	7,211 mMols/kg	11.1 ± 0.17*#	73.1
3d	6,96 mMols/kg	5.1 ± 0.10*#	87.6
3e	6,68mMols/kg	10.0 ± 1.33*#	75.8
3f	7,481 mMols/kg	31.2 ± 0.35*#	24.4
3g	6,711 mMols/kg	36.0 ± 0.31*#	12.8
3h	6,251 mMols/kg	21.0 ± 1.67*#	49.1
3i	7,246 mMols/kg	27.6 ± 0.13*#	33.2
3j	7,41 mMols/kg	19.2 ± 0.12*NS	53.5
Piroxicam	9,40 mMols/kg	17.4 ± 0.07*NS	57,9
Control		41.3 ± 0.57	

Table 2.1. *In vivo* characterization of 3a-e derivatives

Compounds – Dose (3mg/Kg)	ED50 (mg)	pED50
3a	0.2095	6.6790
3b	0.1498	6.8245
3c	0.1366	6.8645
3d	0.0811	7.0910
3e	0.0870	7.0604

Table 3. The most stable docking score for the 5-arylidene-3-(4-phenyl-benzyl)-thiazolidine-2,4- dione (3a-3j), piroxicam, DRY and 544 ligands

Compounds	Docking score PPAR α (1K7L)	Docking score PPAR γ (2HWQ)
3a	67.60	63.98
3b	69.02	67.96
3c	60.11	62.10
3d	69.99	64.74
3e	68.03	67.06
3f	67.35	59.89
3g	70.15	63.82
3h	69.78	64.37
3i	62.75	61.83
3j	69.29	67.13
Piroxicam	48.34	45.00
DRY	-	75.00
544	80.46	

In order to investigate the molecular reasons of the docking scores observed through the *in silico* studies, a detailed analysis of the polar interactions (hydrogen bonds) for the docking ligands with its respective targets could be seen in Table 4, where are shown the distances between the donor and acceptor atoms involved in polar interaction between the compounds and the targets, after docking.

One can see in Fig. 1 and 2 the interesting results found between the docking scores for PPARs target and the PPARs *in vivo* inhibition (at 1 μ M concentration), revealing that the compounds that presented higher *in vivo* inhibition also presented higher affinities (higher docking scores) with the PPARs target, observed through the *in silico* studies. Fig. 3 provides the relationship between the Gold docking score and the pED50 values to the compounds 3a-e in the PPAR α

and PPAR γ targets. The values of anti-inflammatory activity to all compounds and ED50 of 3a-e are shown in Table 2.

To compare the binding pattern of the compounds 3a-j and Piroxicam with the crystallographic ligand (544), in PPAR α , the Fig. 4 shows the conformations of the docking solutions presented in Table 2 alongside the co-crystallized ligand 544. The compound that produced the best result (higher docking score) in docking analysis, the compound 3d, was analyzed in detail along the crystallographic structure of ligand 544 in PPAR α , and the results of this comparison are illustrated in Fig. 5 (Figs. 4, 5 and 6, were generated using PYMOL v0.99 – DELANO [17]).

Fig. 6 shows that compound 3d forms hydrogen bonds with THR279, SER280, TYR314 and TYR464 in the PPAR α binding site with measured distances 2.85, 3.41, 2.98 and 3.20 Å, respectively. Notably, “544”, co-crystallized with PPAR α , also forms important hydrogen bonds with SER280, TYR314, HIS440 and TYR464, whereas the Piroxicam forms hydrogen bonds with THR279, LEU331 and ALA333 (Table 4).

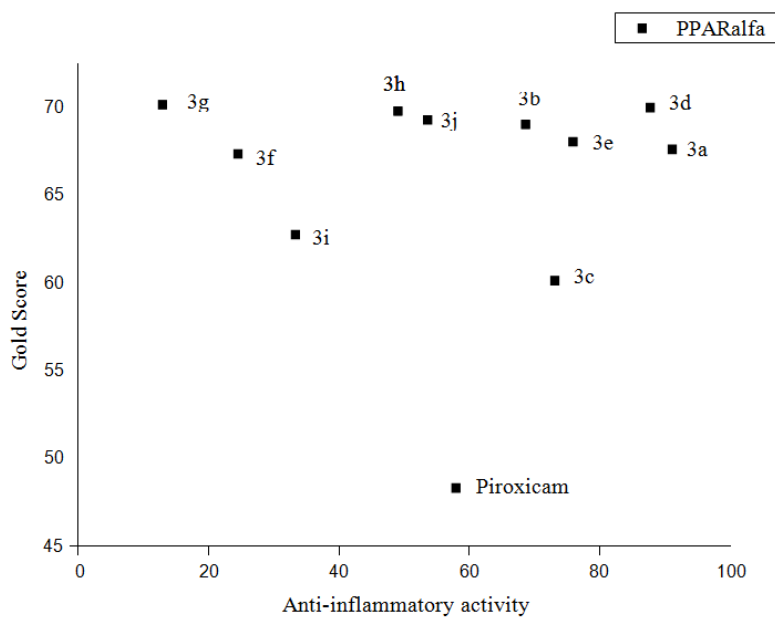


Fig. 1. Docking results and the *in vitro* inhibition for the PPAR α target

Table 4. Comparison of the polar interactions obtained after the docking calculations using PPAR α and PPAR γ as targets. Each value represents the distance, in Å, between the donor and the acceptor atoms involved in the polar interaction. The program used for this analysis was the Pymol, under internal default condition for setup

Compound	Residue of 1K7L target							Residue of 2HWQ target					
	HR279	HIS440	ALA333	SER280	TYR314	TYR464	LEU331	SER289	ARG288	TYR327	HIS449	TYR473	GLN286
3a	3.12			-	-	-		2.61					
3b	-			-	-	-		-	-				
3c	2.93			3.42	3.15	3.30		-	-				2.86 and 2.74
3d	2.85			3.41	2.98	3.20		2.43	-	3.21	3.36		
3e	-			-	3.28	3.06		-	3.45 and 3.49				
3f	2.93			-	-	-		-	-				
3g	-		2.52	-	-	-		-	-				
3h	-			-	-	-		-	-	3.21			
3i	-			-	-	-		-	-				

3j	-		-	-	-		2.74	-
Piroxicam	2.57	3.04	-	-	-	1.89	1.96 and 3.27	2.23
DRY	-		-	-	-			
544		2.82	2.72	2.69	2.60		-	-

The co-crystallized ligand DRY did not show polar interactions, in active site of 2HWQ, when used the Pymol software or hidrofobic bind with the Ligant Explorer.

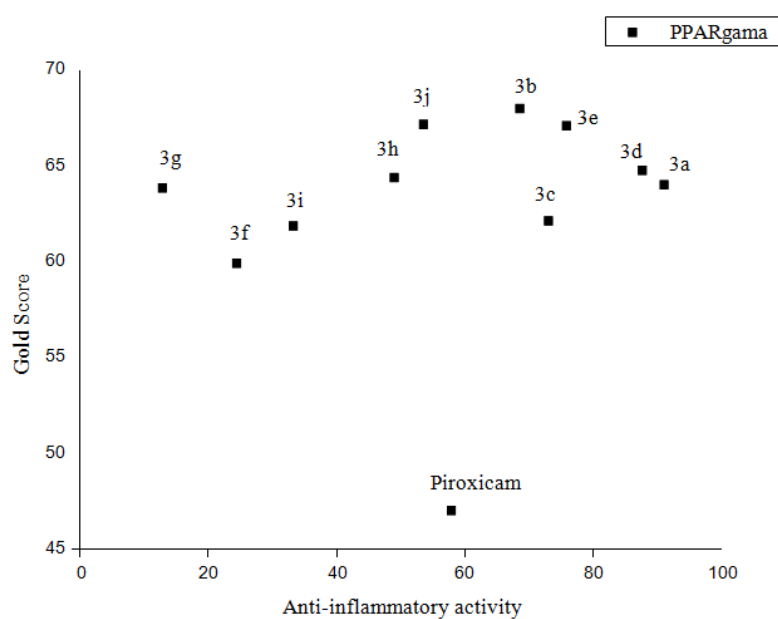


Fig. 2. Docking results and the in vivo inhibition for the PPAR γ target.

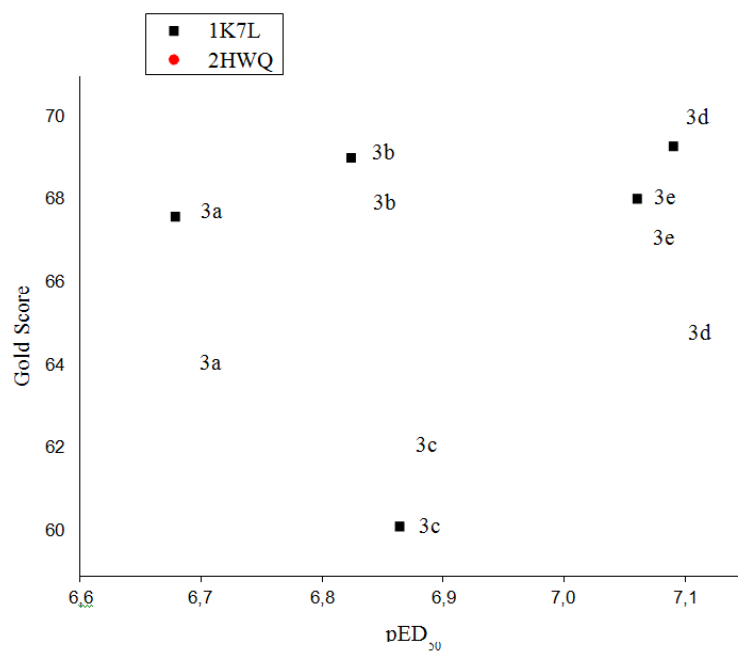


Fig. 3. Relationship between the Gold docking score and the pED₅₀ values to

the compounds GQ-24 (3a), GQ-28 (3b), GQ-32 (3c), GQ-36 (3d) and GQ-38 (3e) for the PPAR α and PPAR γ targets

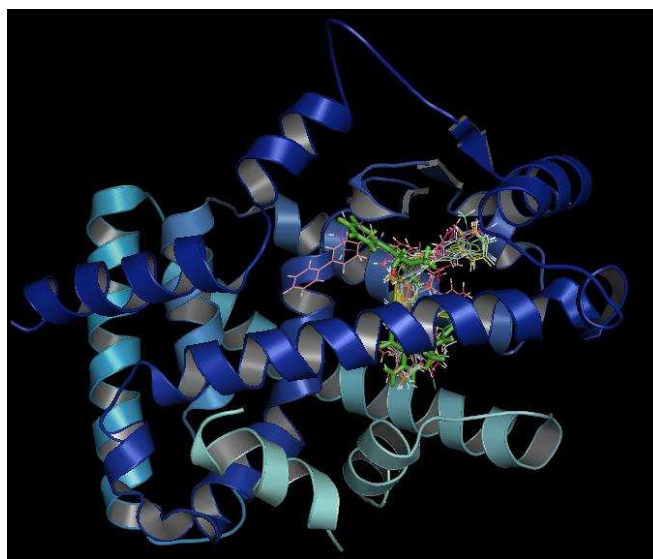


Fig. 4. Superimposed docking conformations of compounds 3a-j (lines) and Piroxicam (sticks), alongside the co-crystallized ligand 544 (green sticks) in active site of PPAR α

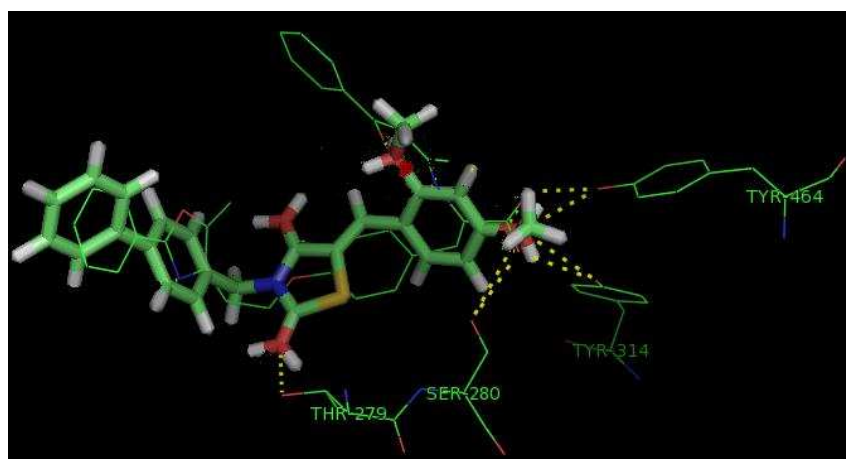


Fig. 5. Docking solution for compound GQ36 (3d) (sticks) alongside the co-

crystallized ligand “544” (lines) in active site of PPAR α

To compare the binding pattern of the compounds 3a-j and Piroxicam with the crystallographic ligand (DRY), in PPAR γ , the Fig. 6 shows the conformations of the docking solutions presented in Table 1 alongside the co-crystallized ligand DRY. After the optimization of the arylidene thiazolidinadiones using the AM1 method, there was a relationship with the results obtained by Leite [18], confirming that the Z isomer as the most stable one, for all the compounds. An in silico study using GOLD program was performed to dock the compounds 3a-j into the active site of the enzyme in order to investigate the molecular characteristic of the heterocyclic derivatives that could be possibly associated with the inhibition of the PPAR α and PPAR γ target. As PPARs α and γ were involved in inflammation resolution, and earlier docking studies in PPAR α and PPAR γ and reduction on plasmatic levels of glucose and triglycerides were observed to similar thiazolidine compounds [19], we could infer that results of inhibition on thiazolidine compounds, could be related to PPAR activation. The compounds 3a-j of the class thiazolidine-2,4-dione-3,5-disubstituted, were assayed for evaluation of anti-inflammatory activity in the air pouch model induced by carrageenan in mice. Piroxicam were standard drug used. The results obtained in air-pouch model are illustrated in Table 3. Between the most active derivatives in the dose of 3 mg, there are the following compounds: 3d (2,4-dimethoxy, 87,6% of inhibition, pED50 0,0811), and 3e (3,4,5-trimethoxy, 66% of inhibition, pED50 0,087). It should be remarked that the compounds 3d and 3e contain methoxy in the position 2,4 and 6 of group benzyl ring. The compound 3a and 3c contains a chlorine atom in position 4 and a nitro group in position 4 of the benzyl ring, respectively, while the compound 3b contains indole-3-yl-methylene group in a position 5 of heterocyclic ring showed higher values for the pED50, therefore lower activity. Among the compounds tested the ones that showed a greater effect in inhibiting the migration of neutrophils were the 3a, 3b, 3c, 3d and 3e. These results are in accordance with Napimoga [20] which showed that the endogenous agonist of PPAR γ , 15d-PGJ2, reduces the migration of neutrophils mediating the suppression of expression of ICAM-1 in endothelial cells, but that is not linked to decreased production of cytokines and chemokines or CD11a in neutrophils. However, this action is dependent on the signaling pathways of NO by reducing the polymerization of F-actin in neutrophils. In humans, treatment with PPAR γ agonists reduces the circulating level of proteins that serve as markers of inflammation [21]. The ATDZs are described in the literature as PPAR γ agonists. The fibrates are PPAR α agonist and the glitazone have gamma action. The anti-inflammatory effects showed by 3a-j were promising, probably due to the duality of action on PPAR alpha and gamma.

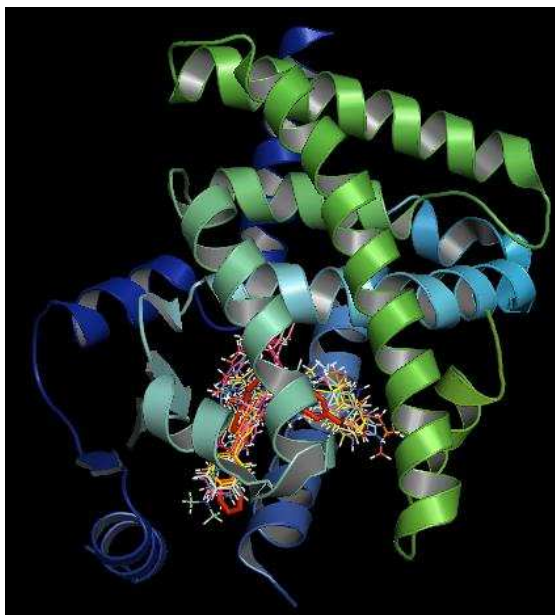


Fig. 6. Superimposed docking conformations of compounds 3a-j (lines) and Piroxicam (lines), alongside the co-crystallized ligand DRY (red sticks) in active site of PPAR γ

4. CONCLUSION

Molecular docking calculations followed by a number of in vivo biological assays were used to identify novel anti-inflammatory agents among the class of 2,5-disubstituted thiazolidine and acting through a PPAR inhibition mechanism. The results strongly suggest that the mechanism of action of the derivatives may be linked partly to PPARs. In conclusion, this study has shown that the thiazolidine derivatives do possess significant anti-inflammatory effects in laboratory animals at the doses of 3 mg/kg for inflammation assays. The results support the use of these derivatives in inflammatory process. The exact mechanism and the bioactive principles responsible for these actions remain to be explained.

COMPETING INTERESTS

The authors have declared that no competing interests exist.

CONSENT

The present study did not involve patients.

ETHICAL APPROVAL

All authors hereby declare that "Principles of laboratory animal care" (NIH publication No. 85-23, revised 1985) were followed, as well as the ethical principles of the Brazilian Society of Laboratory Animal Science (SBCAL). All experiments have been examined and approved by the committee for ethics in Animal Research of the UFPE (process number 001046/207-42).

REFERENCES

1. Barros LA, Oliveira RL, Moraes Filho J, Justino CHS, Mateus LAF. Analysis of the parasitism by *Contracaecum* sp. and *Eustrongylides* sp. In cacharas, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766) (Pisces: Pimelodidae) from Cuiabá river, Mato Grosso, Brazil, R. bras. Ci. Vet. 2004; 16: 58 - 61.
2. Mourão RH. Synthesis and Biological Activity of Novel Acridinylidene and Benzylidene thiazolidinediones. European Journal of medicinal chemistry. 2005; 40:1129 – 1133.
3. Gouveia FL, Oliveira RMB, Oliveira TB, Silva IM, Nascimento SC, Sena KXFR, Albuquerque JFC. Synthesis, antimicrobial and cytotoxic activities of some 5-aryliden-4-thioxo-thiazolidine-2-ones. Eur J Med Chem. 2008; 44(5): 2038 - 2043.
4. Du X, Guo C, Hansell E, Doyle P, Caffrey C, Holler T, Mckerrrow J, Cohen FJ. Synthesis and structure-activity relationship study of potent trypanocidal thio semicarbazone inhibitors of the trypanosomal cysteine protease cruzain. Med. Chem. 2002; 45: 2695–2703.
5. Cohen FE, Du X, Guo C Mckerrrow JH. U.S. Patent 6 897 240. 2004.
6. Moreira TLB, Barbosa AFS, Veiga-Santos P, Henriques C, Henriques-Pons A, Galdino SL, Lima MCA, Pitta IR, Souza W, Carvalho TMU. Effect Of Thiazolidine Lpsf Sf29 On The Growth And Morphology Of Trypanosoma Cruzi. International Journal Of Antimicrobial Agents (Print). 2013; 41: 183-187.

7. Rawai RK, Tripathi R, Katti SB, Pannecouque C, De Clerq E. Design, synthesis, and evaluation of 2-aryl-3-heteroaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as anti-hiv agents. *Bioorg Med Chem*. 2007; 15: 1725–1731.
8. Uchôa FT, Silva TG, Lima MCA, Galdino SL, Pitta IR, Costa TD. Preclinical pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of thiazolidinone PG15: an anti-inflammatory candidate. *J Pharm Pharmacol*. 2009; 61: 339 – 45.
9. Soares e Silva, AK, De Oliveira CTD, Santos Rocha SW, Dos Santos FOG, Santos BS, Donato MAM, Raposo C, Santos ACO, Lima MCA, Galdino SL, Pitta IR, Souza JRB, Peixoto CA. Effect of new thiazolidine derivatives LPSF/GQ-02 and LPSF/GQ-16 on atherosclerotic lesions in LDL receptor-deficient mice (LDLR^{-/-}). *Cardiovascular Pathology*, v. 22, p. 81-90, 2013
10. Chandrappa S, Benaka Prasad SB, Vinaya K, Kumar ACS, Thimmegowda NR, Rangappa KS. Synthesis and in vitro antiproliferative activity against human cancer cell lines of novel 5-(4-methyl benzylidene)-thiazolidine-2,4-diones. *Invest New Drugs*. 2008; 26: 437–444.
11. Pitta MGR, Souza ES, Barros FWA, Moares Filho MO, Pessoa CO, Hernandez MH, Lima MCA, Galdino SL, Pitta IR. Synthesis And In Vitro Anticancer Activity Of Novel Thiazacridine Derivatives. *Medicinal Chemistry Research (Print)*. 2012; 21: 3326.
12. Barros FWA, Bezerra DP, Ferreira PMP, Cavalcanti BC, Silva TG, Pitta MGR, Lima MCA, Galdino SL, Pitta IR, Costa-Lotufo LV, Moraes MO, Burbano RR, Guecheva TN, Henriques JAP, Pessoa C. Inhibition Of Dna Topoisomerase I Activity And Induction Of Apoptosis By Thiazacridine Derivatives. *Toxicology And Applied Pharmacology*. 2013;5: 123 – 133.
13. Barros CD, Amato AA, Oliveira TB, Iannini KBR, Silva AL, Silva TG, Leite ES, Hernandez MZ, Lima MCA, Galdino SL, Neves FAR, Pitta IR. Synthesis and anti-inflammatory activity of new arylidene-thiazolidine-2,4-diones as PPAR ligands. *Bioorg Med Chem*. 2010; 18: 3805-3811.
14. Soares E Silva AK, Torres DOC, Rocha SWS, Gomes FOS, Silva BS, Donato MAM, Raposo C, Santos ACO, Lima MCA, Galdino SL, Pitta IR, Souza JRB, Peixoto CA. Effect Of New Thiazolidine Derivatives LPSF/Gq-02 And LPSF/Gq-16 On Atherosclerotic Lesions In Ldl Receptor-Deficient Mice (Ldlr^{-/-}). *Cardiovascular Pathology*. 2013; 22: 81-90.
15. Lehmann JM, Lenhard JM, Oliver BB, Ringold GM, Kliewer SA. Peroxisome Proliferator-activated Receptors α and β Are Activated by Indomethacin and Other Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs. *The Journal Of Biological Chemistry*. 1997; 272:3406–3410.
16. Jones G, Willett P, Glen RC, Leach AR, Taylor R. Development and Validation of a Genetic Algorithm for Flexible Docking *Journal of Molecular Biology*. 1997; 267: 727-748. and HERMES http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/gold_suite/
17. DeLano WL. The PyMOL Molecular Graphics System (2002). DeLano Scientific, San Carlos, CA (USA), <http://pymol.sourceforge.net>.
18. Leite LFCC, Mourão RHV, Lima MCA, Galdino SL, Hernandez MZ, Neves FAR, Vidal S, Barbe J, Pitta IR. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies of arylidene-thiazolidinediones with potential. *Eur. J. Med. Chem*. 2007; 42:1263-1271.

19. Blanquart C, Barbier O, Fruchart JC, Staels B, Glineur CJ. Peroxisome proliferator- activated receptors: regulation of transcriptional activities and roles in inflammation. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2003; 85: 267-273.
20. Napimoga MH, Souza GR, Cunha TM, Ferrari LF, Clemente-Napimoga JT, Parada CA, Verri WA, Cunha FQ, Ferreira SH. 15d-Prostaglandin J2 inhibits inflammatory hypernociception: involvement of peripheral opioid receptor. *J. Pharmacol, Exp. Ther.* 2008; 324 (1): 313 – 21.
21. Moller DE, Berger JP. Role of PPARs in the regulation of obesity-related insulin sensitivity and inflammation. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 2003;3:17 - 21.