



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE BIOCIÊNCIAS

NÚCLEO DE PESQUISA EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

JEANN FABIANN BRANCO JÚNIOR

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
IMUNOMODULADORA DE NOVOS DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS EM
CÉLULAS MONONUCLEARES DE PACIENTES GOTOSOS**

Recife – PE

2017

JEANN FABIANN BRANCO JÚNIOR

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
IMUNOMODULADORA DE NOVOS DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS EM
CÉLULAS MONONUCLEARES DE PACIENTES GOTOSOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Inovação Terapêutica.

Área de concentração: Farmácia

Orientador: Dr. Ivan da Rocha Pitta

Co-Orientadora: Dra. Marina Galdino da Rocha Pitta

Recife – PE

2017

Catálogo na fonte

Elaine Barroso

CRB 1728

Branco Júnior, Jeann Fabiann

Planejamento, síntese e avaliação da atividade imunomoduladora de novos derivados tiazolídínicos em células mononucleares de pacientes gotosos. / Jeann Fabian Branco Júnior - Recife: O Autor, 2017.

164 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Ivan da Rocha Pitta

Coorientadora: Marina Galdino da Rocha Pitta

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.
Centro de Biociências. Inovação Terapêutica, 2017.

Inclui referências e apêndices

1. Gôta (doença) 2. Tiazolidina 3. Testes de toxicidade I. Pitta, Ivan da Rocha (orient.) II. Pitta, Marina Galdino da Rocha (coorient.) III. Título

616.7

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2017-624

JEANN FABIANN BRANCO JÚNIOR

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
IMUNOMODULADORA DE NOVOS DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS EM
CÉLULAS MONONUCLEARES DE PACIENTES GOTOSOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Inovação Terapêutica.

Aprovada em: 29/09/2017.

Banca Examinadora

Dra. Marina Galdino da Rocha Pitta

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Assinatura: _____

Dr. Douglas Carvalho Francisco Viana

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Assinatura: _____

Prof. Dr. Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Assinatura: _____

Prof. Dr. Carlos Roberto Weber Sobrinho

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, amigos e companheiros de vida, Jeann e Leila Branco, por estarem sempre ao meu lado em todos os momentos. Sendo eles mais alegres, tristes ou confusos sei que vocês estarão lá. Obrigado.

Aos meus avós Mércia Branco (*in memorian*), Edileide Siqueira e Getúlio Mendes, por sempre me apoiarem e acreditarem que tudo isso era possível.

À Maria Cecília, minha quase irmã, não só pelo apoio dentro do LPSF, mas pela inestimável amizade ao longo dos anos que se fez essencial para a realização deste trabalho.

À Artur Alves, meu amigo-irmão, pelo apoio incondicional e pelos conselhos, os quais eu preciso escutar mais.

À Thuanny Maryna, pela ajuda diária no laboratório, por todos os momentos de diversão e de reconforto, mas principalmente, por aprendermos juntos a valorizar o que realmente importa.

À Adson Belém por, juntamente com Thuanny Maryna, sempre discordar de mim e contribuir para me fazer uma pessoa melhor. Obrigado pelo carinho, amor e paciência envolvidos nessa amizade.

À Kamila Vilar, não só por me auxiliar nos experimentos e estar sempre disposta a ajudar, mas por ser essa amiga/parceira que a vida me deu de presente e com a qual o assunto (seja ele qual for) nunca acaba ao longo do caminho para casa.

À Profa. Dra. Maíra Pitta, à Profa. Dra. Michelly Pereira e ao Prof. Dr. Moacyr Rego, do Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêuticas (LINAT), por toda a ajuda diante das dificuldades por mim enfrentadas ao longo do mestrado. Agradeço imensamente a mobilização de todos vocês para que tudo transcorresse bem. Obrigado.

À Profa. Dra. Márcia Bezerra e ao Prof. Dr. Cláudio Gabriel, do Laboratório de Biofísica de Membranas e Células Troncos (LBM-CT), por todos os ensinamentos no início da graduação, que guardo comigo até hoje e me fizeram chegar até aqui. Obrigado pela orientação, amizade e por serem estas pessoas maravilhosas que eu tanto estimo.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Orientador Prof. Dr. Ivan Pitta, do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos (LPSF), pela confiança e apoio durante o projeto.

À Dra. Marina Pitta, do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos (LPSF), por todas as orientações e conhecimento que me foi passado nesses últimos anos, além da sua paciência extraordinária.

À Profa. Dra. Maíra Pitta, Dr. Moacyr Rego e, em especial, Profa. Dra. Michelly Pereira, do Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêuticas (LINAT), por suas contribuições no desenvolvimento deste projeto e do seu indispensável apoio na realização e análise dos testes biológicos.

Ao Dr. Thiago Lins, Msc. Kamila Vilar, Msc. Maria Andreza e Eduardo Davi, do Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêuticas (LINAT), pela inestimável ajuda nos testes biológicos, conselhos e, claro, pela amizade criada durante este período.

Ao querido amigo Hernando Filho, Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos (LPSF), pela ajuda, disponibilidade e paciência na síntese e caracterização dos compostos.

À Maria Cecília, Renatha Danielle, Tacylla Lima e Vanessa Soares pela amizade, pelo apoio nos experimentos e pelos momentos inesquecíveis que passamos juntos. São vocês que fazem ou colaboraram para fazer do LPSF um local tão especial.

À Adson Belém, Antônio Félix, Lucas Sousa, Lucas Tavares e Wanessa Sena por tornarem o dia-a-dia entediante e estressante das aulas e do laboratório mais alegre e divertido.

À Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica (PPGIT) por juntos contribuírem com o desenvolvimento técnico e científico de Pernambuco

À Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Inovação Farmacêutica (INCT-IF) pelo auxílio financeiro.

À Paulo Germano pela disponibilidade, dedicação, eficiência e, não menos importante, bom humor na resolução dos nossos problemas diários na pós-graduação.

Estrela

Trem do desejo
Penetrou na noite escura
Foi abrindo sem censura
O ventre da morena terra
O orvalho vale a flor
Que nasce desse prazer
Nesse lampejo de dor
Meu canto é só pra dizer
Que tudo isso é por ti
Eu vi, virei estrela!

Uma jangada à deriva, à céu aberto
Leva os corações despertos
A sonhar com terras livres
Veio a manhã e eu parti
Mas quando cheguei aqui
Os astros podem contar
No dia em que me perdi
Foi que aprendi a brilhar
Eu vi, virei estrela!

Trem do desejo!!

Vander Lee

RESUMO

Definida como uma artropatia inflamatória, a gota se desenvolve em cerca de 5% dos pacientes que apresentam hiperuricemia sustentada, levando a deposição dos cristais de monourato de sódio (MSU) nos tecidos articulares seguido de um processo inflamatório local. A principal característica da doença são seus ataques agudos de artrite desencadeados pela inflamação, os quais são tratados com anti-inflamatórios de uso bastante limitado devido aos seus efeitos adversos. Por sua vez, o Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissomos- γ (PPAR- γ) está relacionado com o controle do processo inflamatório nesses pacientes, atuando como modulador negativo, o que contribui para o desenvolvimento de moléculas agonistas do PPAR- γ , como as Tiazolidinas, como possível tratamento alternativo dos ataques agudos. Baseado nisso, foram desenvolvidos 13 derivados tiazolidínicos da série 3,5-(dimetilbenzil)-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB) com potencial anti-inflamatório através de 4 etapas reacionais: 1-Ciclização; 2-*N*-alquilação; 3-Condensação de Knoevenagel; 4-Adição de Michael. A etapa de *N*-alquilação teve sua metodologia otimizada, passando de 24h de reação em solvente prótico para 2h em solvente aprótico, mantendo o rendimento. Tais compostos tiveram sua toxicidade avaliada em células mononucleares de voluntários sadios pela técnica de MTT nas doses de 10 μ M e 50 μ M, os quais não foram tóxicos. Contudo, alguns deles exibiram baixa solubilidade (LPSF/JB-2, 4, 5 e 7), sendo retirados dos testes posteriores. Dentre as moléculas restantes, foram selecionadas cinco (LPSF/JB-6, 9, 11, 12 e 13) com maior potencial terapêutico para realização dos testes de secreção das citocinas IL-1 β e IL-6 pela técnica de ELISA. Para isso, foi utilizado sobrenadante de células mononucleares de pacientes gotosos, recrutados no HC-UFPE, tratadas com LPSF/JBs nas doses de 25 μ M, 50 μ M e 75 μ M e cultivadas por 24h à 37°C e 5% de CO₂. Neste contexto, o LPSF/JB-12 (R₁=2-Br), que exibe um grupo volumoso na posição *orto*, se mostrou como o mais promissor anti-inflamatório dentre os compostos, uma vez que inibiu consideravelmente IL-1 β nas concentrações de 25 (71,1pg/mL), 50 (62,27pg/mL) e 75 μ M (52,86pg/mL) e IL-6 (134,3pg/mL) com 50 μ M, podendo ser considerado um bom candidato a fármaco imunomodulador.

Palavras-chave: Gota. Imunomodulação. Tiazolidina. Inflamação.

ABSTRACT

Gout is defined as a inflammatory arthropathy and it develops in approximately 5% of patients who present sustained hyperuricemia, leading to deposition of monosodium urate (MSU) crystal in the joint tissues and followed by a local inflammatory process. The main characteristic of the disease are its acute attacks triggered by inflammation, which are treated with anti-inflammatories of very limited use due to their adverse effects. On the other hand, the Peroxisome-Proliferator Receptor (PPAR- γ) is related to the control of the inflammatory process in these patients, acting as a negative modulator, which contributes to the development of PPAR- γ agonist molecules, such as Thiazolidines, as possible alternative treatment of acute attacks. Based on that, were developed 13 derivatives on the 3,5-(dimethylbenzyl)-thiazolidine-2,4-dione (LPSF/JBs) series with anti-inflammatory potential through four reactional steps: 1- Cyclization; 2- *N*-alkylation; 3- Knoevenagel's condensation; 4- Michael addition. The *N*-alkylation step had its optimized methodology, going from 24h of reaction in protic solvents to only 2h in aprotic solvent, maintaining the yield. These compounds had their toxicity evaluated in mononuclear cells of healthy volunteers by the MTT technique at doses of 10 μ M and 50 μ M, which were non-toxic. However, some of them exhibited low solubility (LPSF/JB-2, 4, 5 and 7) and were withdrawn from subsequent tests. Among the remaining molecules, five (LPSF/JB-6, 9, 11, 12 and 13) with greater therapeutic potential were selected to perform IL-1 β e IL-6 cytokines secretion tests with mononuclear cells from gouty patients by ELISA technique. For this purpose, mononuclear cells supernatant from gouty patients, recruited from HC-UFPE, treated with LPSF / JBs at 25 μ M, 50 μ M and 75 μ M, were cultured for 24 h at 37 ° C and 5% CO₂. In this context, LPSF/JB-12 (R1 = 2-Br), which exhibits a voluminous group in the *ortho* position, was the most promising anti-inflammatory among the compounds, since it inhibited considerably IL-1 β at concentrations of 25 μ M (71.1pg / mL), 50 (62.27pg / mL) and 75 μ M (52.86pg / mL) and IL-6 (134.3pg / mL) with 50 μ M, could be considered a good candidate for immunomodulator drug.

Keywords: Gout. Immunomodulation. Thiazolidine. Inflammation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Prevalência de gota de acordo com a idade (a) e o sexo (b) dos pacientes. 28
- Figura 2 – Proteínas de membrana que atuam no processo de reabsorção e excreção do ácido úrico. 31
- Figura 3 – Via de sinalização para expressão e secreção de IL-1 β e IL-18 por macrófagos ativados por cristais de monourato de sódio (MSU) em pacientes gotosos. 33
- Figura 4 – Via metabólica do ácido úrico e o mecanismo de ação de medicamentos e moléculas candidatas a fármacos. 38
- Figura 5 – Estrutura química dos derivados tiazolidínicos disponíveis no mercado (Roziglitazona e Pioglitazona) e estrutura geral dos derivados tiazolidínicos 3,5-diaril substituídos (LPSF/JBs). 41
- Figura 6 – Estrutura química da Tiazolidina-2,4-diona. 44
- Figura 7 – Estrutura química do composto LPSF/JB-1. 45
- Figura 8 – Estruturas de ressonância da Benzonitrila, demonstrando o motivo do grupamento Nitrila ser considerado um forte grupo retirador de elétrons. 61
- Figura 9 – Secreção de IL-1 β produzida por PBMCs de pacientes portadores de gota (n=9) mantidas em cultura por 24 horas. Legenda: * ou ** indica significância estatística na comparação entre os grupos testados e o grupo estimulado com MSU. # ou ## indica significância estatística na comparação entre os grupos testados e o grupo estimulado com MSU + Colchicina. Foi considerado $p > 0,05$ como valor significativo. C: célula; MSU: monourato de sódio (0,5 mg/mL); Colch.: colchicina (2,5 μ M); MP: metilprednisolona (100 μ M). 80
- Figura 10 – Secreção de IL-1 β produzida por PBMCs de voluntários saudáveis (n=4) mantidas em cultura por 24 horas. Legenda: C: célula; MSU: monourato de sódio (0,5 mg/mL); Colch.: colchicina (2,5 μ M); MP: metilprednisolona (100 μ M). 81
- Figura 11 – Secreção de IL-6 produzida por PBMCs de pacientes portadores de gota (n=9) mantidas em cultura por 24 horas. Legenda: * indica significância estatística na comparação entre os grupos testados e o grupo estimulado com MSU onde foi considerado $p > 0,05$ como valor significativo. C: célula; MSU: monourato de sódio (0,5 mg/mL); Colch.: colchicina (2,5 μ M); MP: metilprednisolona (100 μ M). 82
- Figura 12 – Estrutura química dos derivados tiazolidínicos LPSF/JB avaliados no ensaio de expressão de citocinas. 84

Figura 13 – Espectro de RMN 1H do LPSF/JB-1.	97
Figura 14 – Espectro de RMN 13C do LPSF/JB-1.	98
Figura 15 – Espectro de IV do LPSF/JB-1. Deformação axial das ligações C=O do anel Tiazolidínico, 1751 cm-1; Deformação axial da ligação CH2 do anel Tiazolidínico, 1467 cm-1; Deformação angular simétrica de CH3, 1377 cm-1; Deformação axial C-N, 1221 cm-1; Deformação angular de CH de aromático fora do plano de 852, 789 e 663 cm-1 (anel meta-substituído).	99
Figura 16 – Espectro de Massas do LPSF/JB-1 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 225 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M+) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 160 m/z (100%), 132 m/z (30%), 119 m/z (48%), 146 m/z (15%) e 207 m/z (13,5%).	100
Figura 17 – Cromatograma do LPSF/JB-1 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 100%, de acordo com a área do pico.	101
Figura 18 – Espectro de RMN 1H do LPSF/JB-2.	102
Figura 19 – Espectro de RMN 13C do LPSF/JB-2.	103
Figura 20 – Espectro de IV do LPSF/JB-2. Deformação axial de CH de aromático, 3013 cm-1; Deformação axial das ligações C=O do anel Tiazolidínico, 1735 cm-1; Deformação angular simétrica de CH3, 1380 cm-1; Deformação axial C-N, 1222 cm-1; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 814 cm-1 (anel para-substituído) e 860, 746, 687 cm-1 (anel meta-substituído).	104
Figura 21 – Espectro de Massas do LPSF/JB-2 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 337 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M+) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 119 m/z (100%), 148 m/z (78%) e 91 m/z (22%).	105
Figura 22 – Cromatograma do LPSF/JB-2 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 97,14%, de acordo com a área do pico.	106
Figura 23 – Espectro de RMN 1H do LPSF/JB-3.	107
Figura 24 – Espectro de RMN 13C do LPSF/JB-3.	108
Figura 25 – Espectro de IV do LPSF/JB-3. Deformação axial de OH de fenol, 3364 cm-1; Deformação axial das ligações C=O do anel Tiazolidínico, 1731 cm-1; Deformação angular simétrica de CH3, 1381 cm-1; Deformação axial C-N, 1220 cm-1; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 826 cm-1 (anel para-substituído) e 903, 745, 696 cm-1 (anel meta-substituído).	109

Figura 26 – Cromatograma do LPSF/JB-3 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 99,75%, de acordo com a área do pico.	110
Figura 27 – Espectro de RMN 1H do LPSF/JB-4.	111
Figura 28 – Espectro de RMN 13C do LPSF/JB-4.	112
Figura 29 – Espectro de IV do LPSF/JB-4. Deformação axial de CH de aromático, 3015 cm^{-1} ; Deformação axial das ligações C=O do anel Tiazolidínico, 1737 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH ₃ , 1378 cm^{-1} ; Deformação axial C-N, 1218 cm^{-1} ; Deformação axial da ligação Clorobenzil (Cl-Ar), 1084 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 833 cm^{-1} (anel para-substituído) e 856, 744, 687 cm^{-1} (anel meta-substituído).	113
Figura 30 – Espectro de Massas do LPSF/JB-4 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 357 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M ⁺) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 119 m/z (100%), 359 m/z (8%) (referente à molécula contendo o isótopo ³⁷ Cl), 170 m/z (10%), 168 m/z (28%) e 91 m/z (12%).	114
Figura 31 – Cromatograma do LPSF/JB-4 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 100%, de acordo com a área do pico.	115
Figura 32 – Espectro de RMN 1H do LPSF/JB-5.	116
Figura 33 – Espectro de RMN 13C do LPSF/JB-5.	117
Figura 34 – Espectro de IV do LPSF/JB-5. Deformação axial de CH de aromático, 3015 cm^{-1} ; Deformação axial das ligações C=O do anel Tiazolidínico, 1737 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH ₂ no plano, 1486 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH ₃ , 1378 cm^{-1} ; Deformação axial C-N, 1220 cm^{-1} ; Deformação axial da ligação Bromobenzil (Br-Ar), 1073 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 815 cm^{-1} (anel para-substituído) e 854, 744, 686 cm^{-1} (anel meta-substituído).	118
Figura 35 – Espectro de Massas do LPSF/JB-5 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 403 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M ⁺) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 119 m/z (100%), 401 m/z (15%) (correspondendo ao composto contendo o isótopo ⁸¹ Br), 214 m/z (17%), 212 m/z (17%), 91 m/z (11%), 89 m/z (11%).	119
Figura 36 – Cromatograma do LPSF/JB-5 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 98,25%, de acordo com a área do pico.	120
Figura 37 – Espectro de RMN 1H do LPSF/JB-6.	121

Figura 38 – Espectro de RMN ^{13}C do LPSF/JB-6.	122
Figura 39 – Espetro de IV do LPSF/JB-6. Deformação axial de CH de aromático, 3005 cm^{-1} ; Deformação axial das ligações C=O do anel Tiazolidínico, 1735 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH_2 no plano, 1461 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH_3 , 1373 cm^{-1} ; Deformação axial C-N, 1229 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 830 cm^{-1} (anel para-substituído) e 749 e 686 cm^{-1} (anel meta-substituído), sendo a banda próxima de 880 cm^{-1} sobreposta por outros sinais.	123
Figura 40 – Espectro de Massas do LPSF/JB-6 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 353 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M^+) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 164 (100%), 149 m/z (34%), 119 m/z (99%) e 91 m/z (18%).	124
Figura 41 – Cromatograma do LPSF/JB-6 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 100%, de acordo com a área do pico.	125
Figura 42 – Espectro de RMN ^1H do LPSF/JB-7.	126
Figura 43 – Espectro de RMN ^{13}C do LPSF/JB-7.	127
Figura 44 – Espetro de IV do LPSF/JB-7. Deformação axial de CH de aromático, 3016 cm^{-1} ; Deformação axial das ligações C=O do anel Tiazolidínico, 1737 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH_3 , 1380 cm^{-1} ; Deformação axial de CF_3 , 1272 cm^{-1} ; Deformação axial C-N, 1229 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 829 cm^{-1} (anel para-substituído) e 859 , 747 e 686 cm^{-1} (anel meta-substituído).	128
Figura 45 – Espectro de Massas do LPSF/JB-7 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 407 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M^+) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 119 m/z (100%), 218 m/z (29%), 91 m/z (12%).	129
Figura 46 – Cromatograma do LPSF/JB-7 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 100%, de acordo com a área do pico.	130
Figura 47 – Espectro de RMN ^1H do LPSF/JB-8.	131
Figura 48 – Espectro de RMN ^{13}C do LPSF/JB-8.	132
Figura 49 – Espetro de IV do LPSF/JB-8. Deformação axial de NH de anel heterocíclico, 3314 cm^{-1} ; Deformação axial de CH de aromático, 3003 cm^{-1} ; Deformação axial das ligações C=O do anel Tiazolidínico, 1722 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH_2 no plano, 1462 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH_3 , 1389 cm^{-1} ; Deformação axial C-N, 1232 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 846 , 741 e 665 cm^{-1} (anel meta-substituído).	133

Figura 50 – Espectro de Massas do LPSF/JB-8 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 362 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M⁺) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 173 m/z (100%), 129 m/z (19%), 119 m/z (48%), 91 m/z (17%).

Figura 51 – Cromatograma do LPSF/JB-8 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 100%, de acordo com a área do pico.

Figura 52 – Espectro de RMN 1H do LPSF/JB-9.

Figura 53 – Espectro de RMN 13C do LPSF/JB-9.

Figura 54 – Espectro de IV do LPSF/JB-9. Deformação axial de CH de aromático, 3017 cm⁻¹; Deformação axial da ligação C≡N, 2232 cm⁻¹; Deformação axial das ligações C=O do anel Tiazolidínico, 1740 cm⁻¹; Deformação angular simétrica de CH₃, 1343 cm⁻¹; Deformação axial C-N, 1217 cm⁻¹; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 828 (anel para-substituído) e 859, 747 e 687 cm⁻¹ (anel meta-substituído).

Figura 55 – Espectro de Massas do LPSF/JB-9 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 348 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M⁺) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 119 m/z (100%), 159 m/z (24%), 91 m/z (15%).

Figura 56 – Cromatograma do LPSF/JB-9 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Figura 57 – Espectro de RMN 1H do LPSF/JB-11.

Figura 58 – Espectro de RMN 13C do LPSF/JB-11.

Figura 59 – Espectro de IV do LPSF/JB-11. Deformação axial de CH de aromático, 3016 cm⁻¹; Deformação axial das ligações C=O do anel Tiazolidínico, 1736 cm⁻¹; Deformação angular simétrica de CH₃, 1379 cm⁻¹; Deformação axial de anéis monoflorados, 1290 cm⁻¹; Deformação axial C-N, 1239 cm⁻¹; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 833 (anel para-substituído) e 862, 740 e 687 cm⁻¹ (anel meta-substituído).

Figura 60 – Espectro de Massas do LPSF/JB-11 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 341 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M⁺) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 119 m/z (100%), 152 m/z (47%), 91 m/z (13%).

Figura 61 – Cromatograma do LPSF/JB-11 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 100%, de acordo com a área do pico.

Figura 62 – Espectro de RMN 1H do LPSF/JB-12.	146
Figura 63 – Espectro de RMN 13C do LPSF/JB-12.	147
Figura 64 – Espectro de IV do LPSF/JB-12. Deformação axial de CH de aromático, 3033 cm^{-1} ; Deformação axial das ligações C=O do anel Tiazolidínico, 1738 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH_2 , 1462 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH_3 , 1376 cm^{-1} ; Deformação axial C-N, 1216 cm^{-1} ; Deformação axial do grupo bromobenzil, 1066 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 755 (anel orto-substituído) e 855, 755 (bandas sobrepostas) e 656 cm^{-1} (anel meta-substituído).	148
Figura 65 – Espectro de Massas do LPSF/JB-12 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 403 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M^+) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 119 m/z (100%), 401 m/z (9%) (pico referente ao composto com isótopo ^{79}Br), 322 m/z (30%), 214 m/z (10%), 212 m/z (10%).	149
Figura 66 – Cromatograma do LPSF/JB-12 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 100%, de acordo com a área do pico.	150
Figura 67 – Espectro de RMN 1H do LPSF/JB-13.	151
Figura 68 – Espectro de RMN 13C do LPSF/JB-13.	152
Figura 69 – Espectro de IV do LPSF/JB-13. Deformação axial de CH de aromático, 3083 e 3023 cm^{-1} ; Deformação axial das ligações C=O do anel Tiazolidínico, 1751 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH_3 , 1375 cm^{-1} ; Deformação axial C-N, 1197 cm^{-1} ; Deformação axial do grupo Clorobenzil, 1062 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 740 (anel orto-substituído) e 869, 783 (bandas sobrepostas) e 705 cm^{-1} (anel meta-substituído).	153
Figura 70 – Espectro de Massas do LPSF/JB-13 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 391 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M^+) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 119 m/z (100%), 356 (22%), 202 (10%) e 91 (13%).	154
Figura 71 – Cromatograma do LPSF/JB-13 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 100%, de acordo com a área do pico.	155
	156
Figura 72 – Espectro de RMN 1H do composto LPSF/JB-14.	
Figura 73 – Espectro de RMN 13C do composto LPSF/JB-14.	157
Figura 74 – Espectro de IV do LPSF/JB-14. Deformação axial das ligações N-C(=O) do anel Tiazolidínico, 1721 cm^{-1} ; Deformação axial das ligações C(=O)-S do anel Tiazolidínico, 1675 cm^{-1} ; Deformação C-H de anéis aromáticos	

dissubstituídos no plano, 1587 e 1521 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH_3 , 1375 cm^{-1} ; Deformação axial C-N de amina terciária, 1332 cm^{-1} ; Deformação angular das ligações C(=O)-S do anel Tiazolidínico, 1130 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 808 cm^{-1} (anel para-substituído). 158

Figura 75 – Espectro de Massas do LPSF/JB-14 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 366 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M^+) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 177 m/z (100%) (clivagens α e β), 164 (18%) (estrutura não identificada), 118 (14%) (íon tropílio rearranjado) e 91 (8%) (íon tropílio). 159

Figura 76 – Cromatograma do LPSF/JB-14 obtido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). O produto apresentou 97,95% de pureza. 160

Figura 77 – Espectro de RMN¹H do composto LPSF/JB-20. 161

Figura 78 – Espectro de RMN¹³C do composto LPSF/JB-20. 162

Figura 79 – Espectro de IV do LPSF/JB-14. Deformação angular NH de amina secundária aromática, 3363 cm^{-1} ; Deformação axial das ligações N-C(=O) do anel Tiazolidínico, 1733 cm^{-1} ; Deformação axial das ligações C(=O)-S do anel Tiazolidínico, 1661 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH_3 , 1371 cm^{-1} ; Deformação angular das ligações C(=O)-S do anel Tiazolidínico, 1130 cm^{-1} ; Deformação axial Br-Ar, 1061 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 882, 796 e 697 cm^{-1} (anel meta-substituído). 163

Figura 80 – Cromatograma do LPSF/JB-20 obtido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). O produto apresentou 100% de pureza. 164

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Rota de síntese geral para obtenção dos derivados Tiazolidínicos	47
Esquema 2 - Mecanismo de reação hipotético de ciclização para obtenção da Tiazolidina-2,4-diona	54
Esquema 3 - Mecanismo de Reação hipotético de N-alquilação para obtenção do LPSF/JB-1	55
Esquema 4 - Mecanismo de reação hipotético de Condensação de Knoevenagel obtenção dos Ésteres de Cope.	56
Esquema 5 - Mecanismo de reação hipotético de Adição de Michael para obtenção dos LPSF/JBs.	57
Esquema 6 - Mecanismo de reação hipotético da Condensação alternativa para obtenção do LPSF/JBs-14 e LPSF/JB-20.	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais moléculas que estão em fase de testes clínicos (Arhalofenato, Topiroxostat) ou foram aprovadas para comercialização recentemente (Lenizurad) e algumas classes de moléculas que estão em testes pré-clínicos.	39
Tabela 2 - Características físico-químicas dos compostos LPSF/JBs sintetizados	59
Tabela 3 – Viabilidade celular de PBMCs de voluntários sadios (n=3) após exposição aos derivados Tiazolidínicos LPSF/JBs na dose de 10 μ M e 75 μ M.	78

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Estrutura geral dos Ésteres de Cope com seus respectivos substituintes	45
Quadro 2 - Estrutura geral dos derivados Tiazolidínicos 3,5-dissubstituídos com seus respectivos substituintes	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACR	Colégio Americano de Reumatologia
AINEs	Anti-inflamatórios Não Esteróides
ArH	Hidrogênios pertencentes ao anel fenílico
AU	Ácido Úrio
AUS	Ácido Úrico Sérico
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CDCl ₃	Clorofórmio Delterado
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
Colch	Colchicina
COX-2	Cicloxygenase
DAMPs	Padrão Molecular Associado a Danos
DMSO-d ₆	Dimetil Sulfóxido Delterado
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
FDA	Administração de Drogas e Alimentos, <i>Food and Drugs Admnistration</i>
FM	Fórmula Molecular
GC-MS	Cromatografia Gasosa Acoplada ao Esoectrômetro de Massas
I	Efeito Indutivo Retirador de Elétrons
IL	Interleucina
ICAM-1	Molécula de Adesão Itercelular-1
IRC	Insuficiência Renal Crônica
IV	Infravermelho
KOH	Hidróxido de Potássio
KBr	Brometo de Potássio
M	Efeito Mesomérico Retirador de Elétrons

M ⁺	Massa Molecular Ionizada
MSU	Monourado de Sódio
MP	Metilpredinizona
OAT	Transportador de Ânions Orgânicos
PF	Ponto de Fusão
PGZ	Pioglitazona
PM	Peso Molecular
PPAR- γ	Receptores Ativadores de Proliferação de Peroxissomos γ
Prz	Grau de Pureza dos Compostos
Rdt	Rendimento
RGZ	Rozigitazona
RF	Fator de Retenção
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
Sn2	Substituição Nucleofílica de Segunda Ordem
TDU	Terapia de Diminuição de Uratos
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
TNF	Fator de Necrose Tumoral, <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TZD	Tiazolidina
URAT-1	Transportador de Ácido Úrico 1
VCAM	Molécula de Adesão Celular Vascular
XO	Xantina Oxidase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	OBJETIVOS	25
2.1	Geral	25
2.2	Específicos	25
3	REVISÃO DE LITERATURA	26
3.1	EPIDEMIOLOGIA DA GOTA E COMORBIDADES RELACIONADAS	26
3.2	FISIOPATOLOGIA DA GOTA	29
3.2.1	Patogênese	29
3.2.2	Processo inflamatório da gota	32
3.3	TRATAMENTO DA GOTA E NOVAS ABORDAGENS TERAPÊUTICAS	34
3.3.1	Farmacoterapia padrão	34
3.3.2	Inovação e desenvolvimento no tratamento da gota	37
3.4	AS TIAZOLIDINAS E SEU POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO	40
4	MATERIAIS E MÉTODOS	43
4.1	SÍNTESE ORGÂNICA E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL	43
4.1.1	Materiais e equipamentos	43
4.1.2	Metodologia de síntese	44
4.1.2.1	Tiazolidina-2,4-diona (TZD)	44
4.1.2.2	Ésteres de Cope (LPSF/IPs)	44
4.1.2.3	3-(3,5-dimetilbenzil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-1)	45
4.1.2.4	Derivados Tiazolidínicos (LPSF/ JBs)	46
4.1.3	Rotas de síntese	47
4.1.4	Análise estrutural	48
4.2	ENSAIOS BIOLÓGICOS	49
4.2.1	Aspectos éticos	49
4.2.2	Seleção de voluntários	49
4.2.3	Coleta de sangue	50
4.2.4	Isolamento das PBMCS	50
4.2.5	Ensaio de citotoxicidade	50
4.2.6	Preparação dos cristais MSU	51
4.2.7	Cultura para avaliação de citocinas	51
4.2.7	Dosagem de citocinas por ELISA	51

4.2.8 Análise estatística	52
5 RESULTADOS	53
5.1 SÍNTESE ORGÂNICA E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL	53
5.1.1 Mecanismos de reação	53
5.1.1.1 Primeira etapa reacional - Ciclização	53
5.1.1.2 Segunda etapa reacional – <i>N</i> -alquilação da Tiazolidina.....	54
5.1.1.3 Terceira etapa reacional – Condensação de Knoevenagel (LPSF/IPs).....	55
5.1.1.4 Quarta etapa reacional – Adição de Michael (LPSF/JBs).....	56
5.1.1.5 Terceira etapa reacional (Alternativa) – Condensação (LPSF/JBs)	57
5.1.2 Caracterização estrutural	58
5.1.3 Análise Estrutural	59
5.1.3.1 Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹ H).....	59
5.1.3.2 Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ¹³ C).....	61
5.1.3.3 Espectrofotometria de Infravermelho (IV)	62
5.1.3.4 Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (GC-MS)	63
5.1.3.5 Caracterização Estrutural Individual	64
5.2 ENSAIOS BIOLÓGICOS	78
5.2.1 Ensaio de toxicidade	78
5.2.1 Secreção de citocinas	79
6 DISCUSSÃO	83
7 CONCLUSÃO	87
REFERÊNCIAS	88
APÊNDICE A – ESPECTROS DE RMN ¹H E ¹³C, IV, GC-MS E HPLC	97

1 INTRODUÇÃO

Considerada uma das doenças mais antigas relatadas pelo homem (2640 A.C), a Gota é uma artropatia crônica caracterizada por promover dores intensas, calor, rubor e edema nas articulações de pacientes com hiperuricemia sustentada, sendo mais incidente em homens acima de 40 anos. Tais sintomas são resultado da deposição de cristais de Monourato de Sódio (MSU) no tecido articular e periarticular, gerando um grande processo inflamatório local. Contudo, mesmo sendo conhecida há tanto tempo, a Gota continua sendo pouco compreendida, não havendo cura até a presente data (SCHLEE et al, 2017a). Recentemente, com o aumento da incidência nos últimos 50 anos e grande probabilidade de aumento nos próximos anos, muito tem sido investido no aprofundamento dos conhecimentos relativos à doença e na busca de tratamentos mais eficazes (KUO et al, 2015).

A deposição de cristais MSU nos tecidos se dá devido aos níveis elevados de ácido úrico (AU) na corrente sanguínea, oriundo do metabolismo de purinas (Adenina e Guanina), ao ponto de ultrapassar seu limiar de saturação (6,8 mg/dL) e levar a formação de cristais (CHOI et al, 2005; DAY et al, 2016; LI et al, 2017). Em meio a via metabólica das purinas a enzima determinante para a formação de AU é a Xantina Oxidase (XO), que atua convertendo a hipoxantina em xantina e esta em ácido úrico. O aumento excessivo dos seus níveis séricos pode ser decorrente de uma alimentação rica em vísceras, peixes brancos e alguns grãos, uso de medicamentos (Ex. quimioterápicos) ou por alterações genéticas que proporcionem a superatividade enzimática ou baixa excreção de AU, levando a hiperuricemia e/ou gota (SCHLEE et al, 2017a).

Os pacientes gotosos podem apresentar 4 estágios da doença ao longo da vida: 1- Assintomático, onde o paciente apresenta apenas elevação dos níveis de ácido úrico sérico (AUS); 2- Ataques agudos de artrite, com inflamação das articulações e duração de 7-10 dias; 3- Período intercrítico, quando já houve ataques agudos, mas após o evento o paciente não apresenta sintomas; 4- Gota crônica, com formação de tofos e danos severos aos tecidos articulares. O estágio 4 é bem mais frequente em pacientes não tratados, bem como os ataques agudos que interrompem o período intercrítico (SCHLEE et al, 2017b).

Apesar da falta de consenso das organizações de saúde ao redor do mundo em relação ao tratamento da gota, a Liga Europeia Contra o Reumatismo (EULAR) e o Colégio Americano

de Reumatologia (ACR) sugerem que o tratamento com anti-inflamatórios seja iniciado imediatamente, ou o mais rápido possível, após o início de uma crise de gota aguda. Para tal pode ser utilizado anti-inflamatórios esteroides, não esteroides e/ou colchicina, dependendo das características individuais de cada paciente, os quais também podem ser tratados concomitantemente com inibidores da XO (Alopurinol, Febuxostat) ou por medicamentos que promovam a excreção de AU (Benzbromarona, Probenecida) de acordo com o seu nível sérico e a causa da doença (LI et al, 2017; SCHLEE et al, 2017).

Mas embora os ataques agudos de gota sejam extremamente dolorosos, incapacitantes e os anti-inflamatórios tradicionais sejam de grande importância para minimizar os sintomas, é sabido que este estágio da doença é autolimitado, ou seja, mesmo sem tratamento ele tende a chegar ao fim entre 7-10 dias. Alguns estudos vêm mostrando que este fenômeno está intimamente relacionado ao aumento da expressão do mRNA do Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissomos Gama (PPAR- γ) uma vez que este desempenha um importante papel anti-inflamatório para regulação da resposta imune (CHAWLA et al, 2001; AKAHOSHI et al, 2003; CHANG et al, 2016). Desta forma, o desenvolvimento de moléculas agonistas do receptor PPAR- γ poderia minimizar os sintomas da gota de forma mais eficiente durante um ataque agudo.

Mais conhecidas por sua ação hipoglicemiante (Roziglitazona e Pioglitazona), as Tiazolidinas são uma classe de moléculas que apresentam uma eficiente atividade agonista do PPAR- γ , podendo ser consideradas boas candidatas a fármacos anti-inflamatório. Estudos realizados por BARBOSA e colaboradores (2013) e MA e colaboradores (2010) demonstraram a eficiência dos derivados Tiazolidínicos na diminuição dos níveis de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-6 e TNF- α , sendo a IL-1 β , bem como IL-18, as principais citocinas envolvidas no processo inflamatório da gota (MA et al, 2010; KINGSBURY, CONAGHAN e MCDERMOTT, 2011; BARBOSA et al, 2013). Baseado nisso, o presente trabalho visa o desenvolvimento de novos derivados tiazolidínicos com atividade imunomoduladora para o tratamento da gota, avaliando sua toxicidade em células saudáveis e a secreção de citocinas em células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) de pacientes gotosos após 24h-48h de cultura celular, para que, com isso possamos contribuir para a saúde e bem-estar da população.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- ✓ Desenvolvimento de novos derivados Tiazolidínicos que possibilitem a inibição da secreção de IL-1 β e IL-6 pelas células mononucleares de pacientes gotosos.

2.2 Específicos

- ✓ Planejamento, síntese e caracterização físico-química dos novos derivados Tiazolidínicos;
- ✓ Elucidação estrutural das moléculas sintetizadas a partir de técnicas espectroscópicas;
- ✓ Avaliação da citotoxicidade dos novos derivados Tiazolidínicos em células mononucleadas do sangue periférico;
- ✓ Avaliação e comparação do efeito inibidor dos novos derivados Tiazolidínicos na produção de citocinas de células mononucleares de pacientes diagnosticados com gota.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 EPIDEMIOLOGIA DA GOTA E COMORBIDADES RELACIONADAS

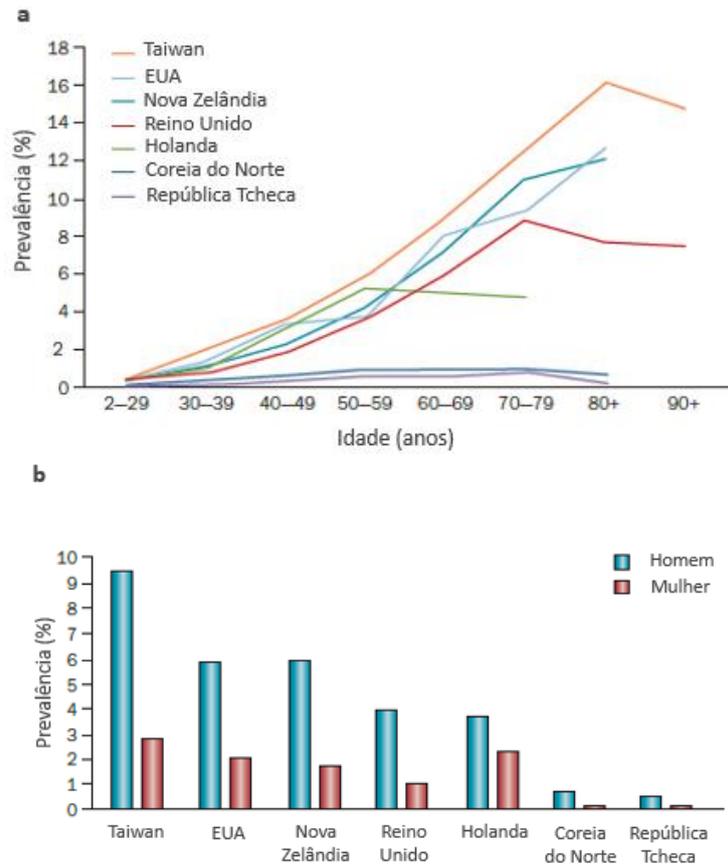
Os números relativos a prevalência e incidência de gota vem crescendo bastante em países desenvolvidos como Estados Unidos (EUA), Inglaterra e países da Oceania ao longo dos últimos 50 anos, mostrando-se fortemente dependentes de fatores como sexo, nível de AUS e, principalmente, idade. Entretanto, fazer um estudo epidemiológico da doença em âmbito mundial é complicado, uma vez que muitos países, principalmente aqueles em desenvolvimento, não disponibilizam dados oficiais sobre o assunto e os estudos existentes a respeito utilizam métodos de amostragem diferentes, o que impossibilita a comparação entre eles. O Brasil, bem como a maior parte da América Latina e África, é um dos países que não apresentam estes dados. Além disso, a maior parte dos estudos utilizam pacientes com gota autorrelatada, ou seja, o paciente afirma ter a doença, mas não há dados oficiais disponíveis sobre seu diagnóstico, o que faz da gota uma doença subnotificada (KUO et al, 2015a; SCHLEE et al, 2017a).

Contudo, mesmo com tamanha dificuldade na coleta de dados comparáveis, a prevalência de gota de forma geral, segundo Schlee e colaboradores (2017), é de 1% para pessoas com idade entre 35-44 anos e de 7% acima de 65 anos, sendo a idade o fator de maior influência no desenvolvimento de gota (Schlee et al, 2017a). Da mesma forma, o gênero é um fator limitante, uma vez que a incidência da doença em homens é de 3-4:1 quando comparado com mulheres (RODDY e DOHERTY, 2010). Além disso, correlacionando gênero com os níveis de AUS é possível constatar que o índice de pacientes com concentração sérica ≥ 8 mg/dL sustentada nos últimos 5 anos é de 4,8 por 1000 pacientes para homens e 2,3 por 1000 para mulheres (Schlee et al, 2017a).

De fato, os países desenvolvidos são aqueles que tem as maiores taxas de prevalência da doença, possivelmente ocasionadas pela dieta desbalanceada com alto consumo de produtos industrializados, sendo bastante relacionada com a condição socioeconômica da população, uma vez que pessoas de renda mais alta, que não realizam trabalhos braçais e/ou que vivem na cidade têm maior risco de desenvolver gota. Dentre os países pesquisados Taiwan é o que apresenta a maior taxa de prevalência de acordo com a idade e com o sexo, sendo Coreia do Sul e República Tcheca aqueles com as menores taxas (Figura 1b). Na Figura 1a é possível

perceber que, independente do sexo, a taxa de prevalência de gota aumenta consideravelmente a partir dos 40 anos, chegando a um platô após os 80 anos (KUO et al, 2015a).

Figura 1 Prevalência de gota nos países desenvolvidos de acordo com a idade (a) e com o sexo (b) dos pacientes.



Fonte: Adaptado de KUO et al, 2015

Outros fatores que vem chamando a atenção nos últimos anos é a relação da gota com grupos étnicos e a hereditabilidade da doença. Estudos realizados nos Estados Unidos e publicados em 2014 mostraram que a população negra tem mais chances de desenvolver gota que a população branca, independente do sexo. Segundo Maynard e colaboradores a incidência geral de gota no grupo pesquisado foi de 8,4 por 10.000 pacientes, sendo 12 por 10.000 para mulheres negras e 5 por 10.000 para mulheres brancas, enquanto que para homens negros a incidência foi de 15,5 por 10.000 e para homens brancos 9,4 por 10.000 (MAYNARD et al, 2014). Tais resultados foram confirmados por Krishnan que mostrou mais uma vez a população negra, sem discriminação de sexo, como a mais susceptível a doença (KRISHNAN, 2014). Os homens, além de possuírem a maior taxa de incidência, também têm grande influência sobre a

hereditabilidade da gota. Segundo estudo realizado em Taiwan por Kuo e colaboradores (2015) a prevalência da gota de origem hereditária é de 37,1% para homens e 17% para mulheres, confirmando a importância dos fatores genéticos para o seu desenvolvimento (KUO, 2015b).

Mas apesar dos inúmeros fatores já citados influenciarem o surgimento da gota, ela também pode funcionar como fator de risco para muitas comorbidades, ou mesmo ser produto da existência delas. As principais comorbidades relacionadas a gota são as doenças cardiovasculares e renais, mas ela também está ligada a doenças metabólicas como obesidade e diabetes. A hiperuricemia, por si só, é capaz de aumentar consideravelmente o risco de hipertensão e, portanto, a gota também contribui para tal. Isso ocorre devido a ação pró-hipertensiva do ácido úrico, que atua no endotélio vascular e renal estimulando o sistema renina-angiotensina e inibindo a síntese de óxido nítrico (NO), além de promover o estreitamento vascular e vasoconstrição pela proliferação de células musculares lisas (PILLINGER, GOLDFARB e KEENAN, 2010). Além disso, a hiperuricemia e/ou gota aumenta a probabilidade de insuficiência cardíaca, fibrilação atrial, acidente vascular cerebral e doença cardíaca coronariana, sendo esta mais severa em pacientes hiperuricêmicos devido a deposição de cristais em forma de placas nas artérias coronarianas (BARDIN e RICHETTE, 2017).

Tal influência sobre as doenças cardiovasculares também pode estar relacionada a ligação entre hiperuricemia e doenças metabólicas. Foi comprovado que a prevalência de hipertrigliceridemia em pacientes gotosos é bem maior que em não gotosos, os quais apresentam 53,7% e 27,9%, respectivamente, aumentando as chances de doenças cardiovasculares. O mesmo acontece com a diabetes tipo 2, a qual é mais prevalente em pacientes com gota (33,1%) [19], uma vez que o excesso de AU leva a resistência à insulina e conseqüentemente à hiperinsulinemia e diabetes tipo 2, podendo levar a obesidade [18]. Mas além de ser produto da hiperuricemia, a obesidade pode ser um dos seus agentes causadores, uma vez que a dieta desses pacientes é bastante desequilibrada e seu estilo de vida sedentário, aumentando os níveis de AUS (MARTILLO et al, 2013).

Em relação as doenças renais, já se sabe que a hiperuricemia e a gota são fatores de risco para a diminuição da função renal, uma vez que a hipertensão gerada pelo ácido úrico contribui para lesão renal e os cristais MSU depositados nos rins podem gerar inflamação intersticial e lesão tubular, levando a insuficiência. Contudo, apesar do número crescente de evidências, ainda se debate bastante a relação das doenças renais com o aumento dos níveis de AUS, já que

limitações metodológicas acabam comprometendo os resultados de alguns trabalhos (PILLINGER, GOLDFARB e KEENAN, 2010; MARTILLO et al, 2013; BARDIN e RICHETTE, 2017).

Tendo em vista o peso que a gota pode ter no desenvolvimento das comorbidades citadas, vale ressaltar que a maioria destes quadros clínicos podem ser revertidos, ou minimizados, a partir da mudança no estilo de vida do paciente (AZEVEDO et al, 2017). Uma dieta baseada na redução do consumo de frutose, especialmente na forma de xarope concentrado, carboidratos e gorduras saturadas acompanhadas pelo aumento da ingestão de fibras e gorduras insaturadas, bem como manutenção do consumo balanceado de proteínas pode ajudar bastante na diminuição dos níveis séricos de ácido úrico, prevenindo novos ataques de gota e proporcionando mais qualidade de vida ao paciente (MARTILLO et al, 2013).

3.2 FISIOPATOLOGIA DA GOTA

3.2.1 Patogênese

A gota é uma doença inflamatória sistêmica ocasionada pela deposição de cristais de Monourato de Sódio (forma ionizada do ácido úrico) nos tecidos, principalmente tecido articular e periarticular, sendo este fenômeno o reflexo de períodos prolongados de hiperuricemia ($AUS \geq 6,8$ mg/dL). Essa deposição desencadeia um processo inflamatório agudo nas articulações devido ao englobamento dos cristais MSU por células fagocíticas, como macrófagos, que através da expressão de quimiocinas ativam neutrófilos, proporcionando edema local, rubor e dor intensa. Contudo, apenas 5% dos pacientes hiperuricêmicos passam a apresentar sintomas de gota, demonstrando que fatores ambientais e genéticos influenciam consideravelmente o desenvolvimento da doença. Além disso, fatores como temperatura e pH de líquidos corporais, dieta, concentração de cátions e nível de desidratação podem promover a precipitação dos cristais, aumentando a probabilidade de ataques de gota (SANTOS, 2016).

Os níveis séricos de ácido úrico são determinados através da diferença entre a produção de AU endógeno ou oriundo da dieta e a sua excreção pelos rins e trato gastrointestinal, responsáveis por 2/3 e 1/3 do total de AU excretado, respectivamente. A elevação do AUS pode se dá pelo aumento da produção ou pela diminuição da excreção do AU, os quais são modulados pela dieta ou por mutações em genes que regulam estas funções (RAGAB, ELSHAHALY e BARDIN, 2017). Uma dieta com alto consumo de carne vermelha, vísceras, peixes brancos,

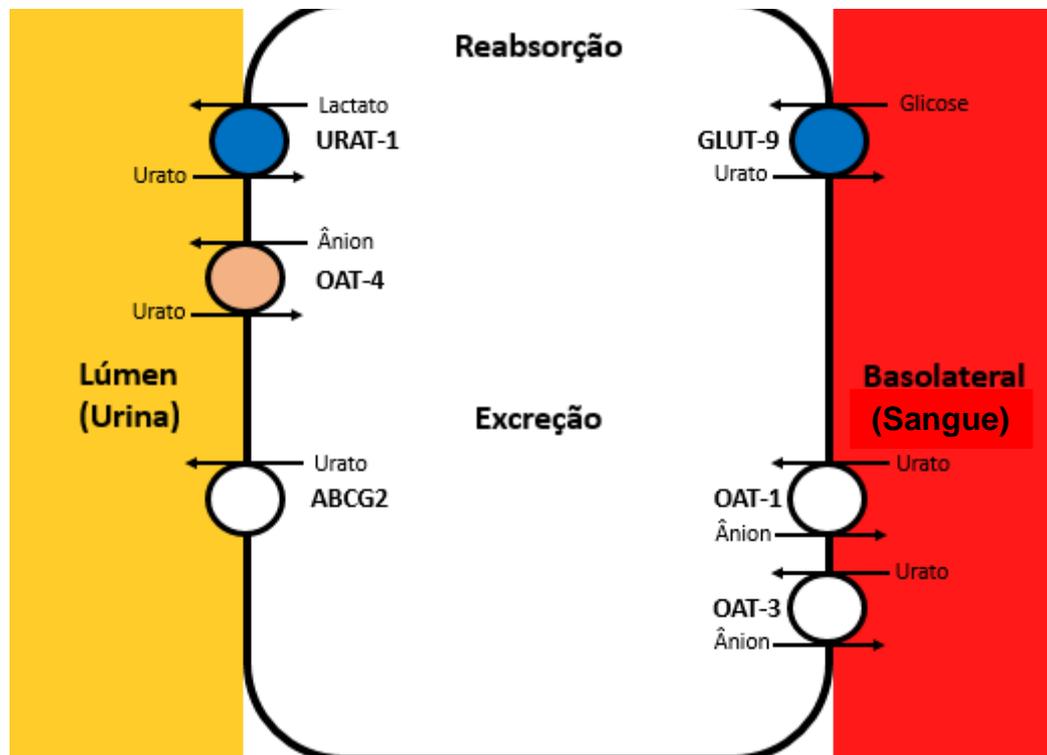
refrigerantes ou alimentos com xarope de frutose concentrado, álcool e grãos como feijão e grão de bico favorecem o aumento do AUS (MARTILLO et al, 2017). Tal resultado também é obtido a partir de mutações em genes envolvidos na via de síntese do ácido úrico como o HPRT1 (codifica a enzima Hipoxantina Guanina Fosforribosil Transferase) e PRPS1 (codifica Fosforribosil Pirofosfato Sintetase), ambas mutações do cromossomo X que levam a hiperuricemia (Figura 3) (REGINATO e OLSENA, 2007; RAGAB, ELSHAHALY e BARDIN, 2017).

Contudo, fatores que aumentam a produção do AU, como dieta e mutações em genes envolvidos na sua via metabólica, são responsáveis por apenas 10% dos casos de gota, sendo os 90% restantes oriundos de doenças renais e alterações genéticas que diminuem a excreção do AU (RAGAB, ELSHAHALY e BARDIN, 2017). É sabido que níveis elevados de AUS é um fator de risco importante no desenvolvimento de doenças renais, principalmente Insuficiência Renal Crônica (IRC), uma vez que ele pode gerar hipertensão arterial e espessamento arteriolar devido ao estímulo à proliferação de células musculares lisas dos vasos, levando a hipertensão glomerular, inflamação e fibrose tubulointersticial (MARAKAMI e SOZIO, 2013; GIORDANO et al, 2015). Entretanto, ainda é muito debatido o papel da IRC como fonte da hiperuricemia, a qual seria causada devido a diminuição da filtração e excreção renal de AU. Apesar da falta de consenso, alguns trabalhos já demonstram que há aumento de AUS em ratos com lesão renal prévia, o que acelera a progressão da doença e leva a insuficiência ou falha renal (JHONSON et al, 2013; MARAKAMI e SOZIO, 2013).

A excreção de urato pelo rim ocorre em 4 etapas: 1-filtração; 2-reabsorção quase completa; 3-excreção; 4-reabsorção pós-excreção, resultando na excreção de apenas 3%-7% do AU. Ao longo do tempo foram descobertas proteínas que participam deste processo, estando presentes nos estágios de reabsorção e excreção, as quais são alvos terapêuticos de certos medicamentos uricosúricos como Benzbromarona e Probenacid. Uma das principais proteínas que atua no estágio de reabsorção é o transportador URAT-1 que está presente na membrana luminal do túbulo proximal, funcionando através da excreção de lactato ou ácido pirazinóico para a urina e reabsorção de uratos para dentro das células tubulares. Outra proteína importante é a GLUT-9, conhecida por ser um transportador de glicose e frutose localizada na membrana basolateral do túbulo proximal, ela também funciona como transportador de uratos, retirando-os da célula e levando-os à corrente sanguínea, o que faz dela uma proteína essencial para a reabsorção (Figura 2). Já as proteínas ABCG2, OAT-1 e OAT-3 atuam no estágio de excreção. Enquanto os OATs citados levam uratos da corrente sanguínea para as células através da membrana

basolateral, a ABCG2 transporta uratos para a urina por meio da membrana luminal (Figura 2). Além destas, existem outras proteínas que atuam de forma auxiliar, melhorando a atividade das proteínas citadas, tais como a OAT-4, que atua na reabsorção pela membrana luminal (LIPKOWITZ, 2012; AZEVEDO et al, 2017).

Figura 2 Proteínas de membrana que atuam no processo de reabsorção e excreção do ácido úrico



Fonte: Adaptado de LIPKOWITZ, 2012

Muitos dos genes que codificam essas proteínas transportadoras podem apresentar alterações no seu *locus*, propiciando a elevação dos níveis de AUS. Até a presente data foram identificados 28 *loci* associados a essas alterações, dos quais 18 foram recentemente descobertos e, por isso, ainda não há dados referentes a eles. Dentre os principais *loci* conhecidos já se sabe que a variante do gene SLC2A9 (o SLC2A9-S), que codifica a proteína GLUT-9, é responsável por 3% da variação nos níveis de urato, uma vez que o gene SLC2A9-S é expresso na membrana luminal e potencializa a reabsorção de urato. A variante Q141K do gene ABCG2, bem como a variante Q146K, diminuem a capacidade de excreção da proteína ABCG2 em até 50%. Como ela está presente, não só nos rins, mas também no trato gastrointestinal, tais variantes também influenciam bastante os níveis de AUS (DALBETH, STAMP e MERRIMAN, 2017).

Modificações genéticas não relacionada aos níveis de AUS também são possíveis, tais como a variante CARD8 C10X (oriundo do gene CARD8), que quando combinada com uma variante associada a IL-1 β , leva a maior atividade do inflamossoma e maior ativação do pré-IL-1 β , gerando piora do processo inflamatório e agravamento das crises agudas de gota (LIPKOWITZ, 2012; DALBETH, STAMP e MERRIMAN, 2017). Apesar destas serem poucas das mutações genéticas que podem influenciar o desenvolvimento da gota, é possível perceber que variante genéticas, bem como doenças renais, podem exercer uma grande influência na sua patogênese, sendo importante até mesmo para determinar a gravidade das crises agudas.

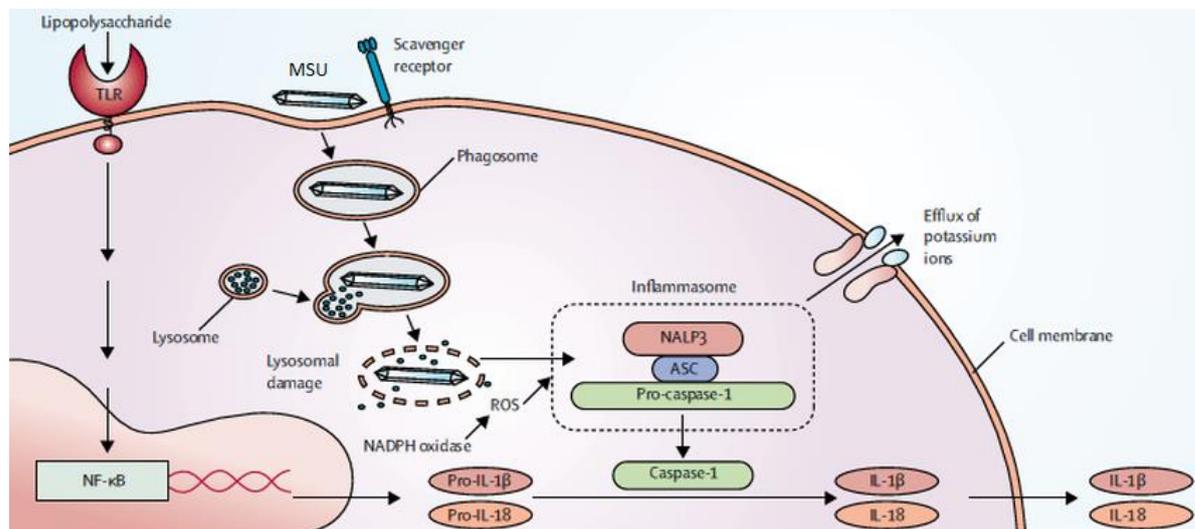
3.2.2 Processo inflamatório da gota

A gota é uma artropatia inflamatória autolimitada caracterizada pelas crises agudas repentinas, na qual o paciente apresenta edema articular e dor intensa ao longo de algumas horas ou dias. Caso a doença não seja tratada, as crises agudas podem ocorrer com maior frequência, levando a erosão óssea, lesão cartilaginosa e cronicidade (com formação de tofos). A grande intensidade da dor se dá devido ao processo inflamatório iniciado pela deposição de cristais MSU, podendo ser desencadeado através de dois mecanismos (SCHLEE et al, 2017b). No primeiro, os cristais MSU depositados são fagocitados por macrófagos, os quais liberam enzimas lisossomais e quimiocinas. No segundo, os cristais podem desestabilizar a membrana celular dos fagócitos devido a sua interação com lipídios e glicoproteínas de membrana, ativando proteínas G, fosfolipase A2, C, D, tirosina quinase e outras, o que leva ao aumento de interleucina-8 (IL-8) nos fagócitos e ativação de neutrófilos (SANTOS, 2016).

Durante uma crise aguda, os macrófagos, bem como os mastócitos, desempenham um papel chave no desencadeamento da inflamação. Antes de uma crise de gota, os macrófagos fagocitam cristais MSU, sendo aqueles mais diferenciados capazes de conter os cristais no seu interior sem induzir inflamação, o que não ocorre com os menos diferenciados, que passam a expressar grande quantidade de mediadores inflamatórios como TNF α , IL-1 β , IL-6 e IL-8, além de proporcionar ativação endotelial. Da mesma forma, os mastócitos contribuem significativamente com a expressão de mais IL-1 β e histamina, gerando vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e atraindo maior quantidade de neutrófilos para o local através de quimiotaxia, os quais são ativados pela IL-8 produzido pelos fagócitos (RAGAB, ELSHAHALY e BARDIN, 2017).

Apesar do influxo de neutrófilos ativados no tecido ser o grande responsável pelo processo doloroso e o contato destes com as células endoteliais ativadas agravar a resposta inflamatória, tudo isso é um reflexo da expressão de citocinas pelos macrófagos e mastócitos após a fagocitose dos cristais MSU. No interior dos fagócitos estes cristais funcionam como padrões moleculares associados a danos (DAMPs) e são reconhecidos por receptores NOD-like (NLR) presentes no citoplasma, sendo o subtipo NLRP3 o principal deles. Após o reconhecimento dos DAMPs ocorre a oligomerização do NLRP3 e formação do inflamassoma (complexo proteico que funciona como plataforma molecular para ativação de caspases), no qual está inserido uma proteína adaptadora semelhante a proteína associada a apoptose contendo um CARD (ASC). Esta, por sua vez, apresenta um domínio recrutador de caspases (CARD), responsável por recrutar a pró-caspase 1 e ativa-la, formando a caspase 1, que conseqüentemente produz IL-1 β e IL-18 ativos através da clivagem da pró-IL-1 β e pró-IL-18, respectivamente (KINGSBURY, CONAGHAN e MCDERMOTT, 2011; RHEE et al, 2013) (Figura 3).

Figura 3 - Via de sinalização para expressão e secreção de IL-1 β e IL-18 por macrófagos ativados por cristais de monourato de sódio (MSU) em pacientes gotosos.



A IL-1 β se consolida como um dos principais atores do processo inflamatório da gota, uma vez que mobiliza neutrófilos da medula óssea para o local da inflamação, aumenta sua vida útil e melhora sua função efetora. Além disso, age em conjunto com a IL-6 para estimular a produção de proteínas de fase aguda pelo fígado, tais como fibrinogênio e proteína C reativa, o que faz da IL-1 β um excelente alvo terapêutico (MISTRY, SAVIC e VAN DER HILST, 2017). Por sua vez a IL-6 também pode ser considerada um importante fator na cronificação da doença, regulando positivamente a expressão de moléculas de adesão por células endoteliais (ICAM-1

e VCAM-1), o que favorece o acúmulo de leucócitos na área inflamada (BARNES, ANDERSON e MOTTS, 2011). Enquanto isso, a IL-18, citocina da mesma família da IL-1 β , age estimulando a produção de INF- γ e de outras citocinas pró-inflamatórias, incluindo a IL-1 β e IL-6, o que faz da IL-18 um importante modulador inflamatório na doença (PÉTRILLI e MARTINON, 2007; GARLANDA, DINARELLO e MANTOVANI, 2013; CLEOPHAS et al, 2017).

Mas ainda que os ataques agudos sejam dolorosos e incapacitantes eles são autolimitados. Isso acontece, provavelmente, devido a limpeza realizada pelos macrófagos no tecido articular, retirando a maior parte dos cristais MSU presentes e expressando TGF- β , que neutraliza a IL-1 β (RAGAB, ELSHAHALY e BARDIN, 2017). Contudo, para que isso aconteça algumas vias anti-inflamatórias são ativadas, como por exemplo a do Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissomos Gama (PPAR- γ). De acordo com Chang e colaboradores (2016), o PPAR- γ , bem como seu coativador PPAR- γ 1 β (gene PPARGC1B) estão altamente expressos em células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) e em células do líquido sinovial de pacientes gotosos durante uma crise aguda, as quais também apresentavam níveis elevados de NLRP3 e IL-1 β (CHANG et al, 2016). A importância desses receptores como moduladores inflamatórios na gota foi comprovado a partir da variante rs45520937 do PPAR- γ 1 β , que proporciona o aumento considerável da expressão de NLRP3 e IL-1 β , podendo até estar relacionada com alterações na síntese de ABCG2 (CHANG et al, 2016; CLEOPHAS et al, 2017). Com isso o PPAR- γ surge como um potencial alvo terapêutico para o tratamento das crises agudas de gota, no qual a atuação de uma molécula agonista pode promover a diminuição da expressão de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , TNF α , IL-6 e IL-8 (NAKAJIMA et al, 2001; PATZER et al, 2008; PETERNITI et al, 2013).

3.3 TRATAMENTO DA GOTA E NOVAS ABORDAGENS TERAPÊUTICAS

3.3.1 Farmacoterapia padrão

A gota pode ser diagnosticada de acordo com a fase clínica em que ela se encontra, se no período de hiperuricemia assintomática, durante ataques agudos, no período intercrítico ou já na fase avançada, chamada de gota crônica tofácea. Tal diagnóstico, bem como a identificação das comorbidades exibidas pelo paciente ou tratamentos paralelos em andamento, são de grande valia para determinação do método terapêutico a ser utilizado (SANTOS, 2016).

Mas apesar da Gota ser uma doença antiga e bastante conhecida, não há um consenso entre os órgãos e institutos de saúde ao redor do mundo de como seu tratamento deve ser realizado, o que causa a emissão de protocolos clínicos conflitantes e falta de padronização no tratamento. O principal ponto discordante é o período em que deve ser iniciada a Terapia de Diminuição de Uratos (TDU), no qual há utilização de medicamentos inibidores da Xantina Oxidase e/ou uricosúricos para diminuição e manutenção do AUS abaixo de 6mg/dL. De acordo com a Sociedade Britânica de Reumatologia (BRS), Profissionais de Saúde Britânicos em Reumatologia (BHPR), Sociedade Japonesa de Gota e Metabolismo de Ácido Nucleico (J-STAGE) e a Sociedade Reumatologica de Long Island (RSLI) não é recomendado o início da terapia TDU durante uma crise aguda devido as mudanças drásticas nos níveis de AUS e risco de piora do quadro inflamatório (LI et al, 2017). Contudo, o Colégio Americano de Reumatologia (ACR), principal autoridade na área, sugere que a TDU pode sim ser iniciada durante uma crise aguda mediante a efetividade do tratamento com anti-inflamatórios (KHANNA et al, 2012).

O principal foco do tratamento da gota é a minimização ou finalização dos sintomas da artrite com o uso de anti-inflamatórios durante uma crise aguda, bem como a prevenção de novos eventos através da diminuição e manutenção dos níveis de AUS por meio da utilização da TDU. Durante o período de hiperuricemia assintomática a farmacoterapia é contraindicada, apenas mudanças no estilo de vida como dieta com restrição de ácido úrico e frutose, além de exercícios físicos podem ser suficientes para manter o AUS abaixo do limite superior (≤ 6 mg/dL) (SCHLESINGER, 2017). Em relação a crise aguda, uma gama de anti-inflamatórios pode ser utilizada visando seu término de forma mais rápida, dentre eles os Anti-inflamatórios Não Esteroides (AINEs), Corticoesteroides, Colchicina e bloqueadores da IL-1 β . Segundo a ACR, com exceção dos bloqueadores de IL-1 β (Canakinumab, Rilonacpt e Anakinra), estes medicamentos são considerados de primeira linha para pacientes em casos de gota leve-moderada, sendo utilizados em monoterapia de acordo com a seguinte ordem de prioridade: AINEs→Colchicina→Corticoesteroides. Em casos mais graves, com dor muito intensa e apresentação poliarticular, podem ser utilizadas terapias combinadas, bloqueador de IL-1 β ou mesmo a pegloticase, uma uricase peguilada indicada para os casos que não respondem a terapia convencional (GRASSI et al, 2014).

Como já citado, é muito comum que os pacientes gotosos apresentem comorbidades como hipertensão, doenças cardiovasculares, diabetes e doenças renais, sendo necessário a adequação do tratamento a estes fatores para evitar efeitos colaterais sérios e agravamento do seu estado

de saúde. No caso dos AINEs, inibidores seletivos ou não seletivos da COX-1 e COX-2, sua administração vem caindo consideravelmente devido aos efeitos colaterais associados a toxicidade gastrointestinal, cardiovascular e renal, não sendo indicado para pacientes hipertensos, diabéticos ou com problemas renais ou gástricos, o que faz deles medicamentos de uso muito restrito (GRASSI et al, 2014). A Colchicina, por sua vez, inibe a quimiotaxia e migração de neutrófilos, produção de superóxido, bem como a proteína NLRP3, presente no inflamassoma, apresentando alta eficiência quando administrada até 24h. Metabolizada no fígado pelas enzimas P-glicoproteína (P-gp) e citocromo P450 (CYP3A4) ela não é indicada para pacientes com insuficiência renal ou hepática grave, sendo necessário descontinuar o tratamento em caso de terapia paralela com inibidores destas enzimas devido ao risco de morte. Contudo pode ser utilizada em pacientes com insuficiência renal leve (TFG=50-80mL/min) a moderada (TGF=30-50 mL/min) mediante ajuste de dose, não havendo restrição para doenças cardiovasculares (GRASSI et al, 2014; LEUNG, HUI e KRAUS, 2015; SCHLESINGER, 2017).

Quando o paciente não responde a terapia com AINEs ou Colchicina ou ela é inviável, é indicado lançar mão dos corticoesteroides. Considerado muitas vezes a única opção para pacientes renais graves, os corticoesteróides podem ser administrados por via oral, intravenosa, intramuscular ou intraarticular, sendo esta de ação mais rápida e efetiva para os casos de dor muito intensa (SANTOS, 2016). Caso nenhuma das opções abordadas até agora sejam efetivas, os bloqueadores de IL-1 β (Anakinra, Rilonacept e Canakinumab) podem ser utilizados e apresentam rápida resolução das crises agudas, mas são tratamentos caros e que aumentam consideravelmente o risco de infecção (NEWCOMB, 2013; SCHLESINGER, 2017).

De acordo com o protocolo clínico que a instituição de saúde siga, a Terapia de Diminuição de Uratos (TDU) pode ser iniciada durante ou depois do término da crise aguda, sendo bastante indicada para o tratamento da Gota crônica. O Alopurinol é o medicamento mais amplamente utilizado na TDU, atuando como inibidor da Xantina Oxidase, ele diminui o AUS a partir da diminuição da sua síntese. Mas apesar de ser comumente utilizado, o Allopurinol pode causar hipersensibilidade (rash cutâneo, Síndrome de Stevens-Johnson e necrólise epidermal tóxica) e não deve ser administrado em pacientes com insuficiência renal, pois são passíveis de acúmulo do seu metabólito ativo Oxipurinol, o qual apresenta alta toxicidade para os rins [44]. Em contrapartida o Febuxostat é um inibidor mais seletivo da Xantina Oxidase e é capaz de manter esta inibição por mais tempo, se mostrando mais eficiente, uma vez que 300mg/dia de Allopurinol equivale a 80mg/dia de Febuxostat (BECKER et al, 2010; SCHLESINGER, 2017).

Além destes, também estão disponíveis os agentes uricosúricos, capazes de inibir canais envolvidos com a reabsorção e excreção de ácido úrico, tais como Probenecida (inibidor do OAT-3) e Benzbromarona (inibidor de URAT-1). Contudo, eles são pouco utilizados devido às inúmeras interações medicamentosas (principalmente o Probenecid) e ao alto risco de cálculo e falha renal, não sendo indicado para pacientes com doenças renais (CHOI et al, 2005).

Apesar do vasto número de opções terapêuticas para o tratamento farmacológico da gota, boa parte deles apresentam muitos fatores limitantes, como toxicidade renal e cardiovascular, o que restringe bastante o uso destes medicamentos, uma vez que a maioria dos pacientes gotosos apresentam hipertensão, doenças renais e/ou cardiovasculares. Baseado nisso, nas últimas duas décadas, muito vem sendo investido na pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos e moléculas candidatas a fármacos na tentativa de suprir as necessidades do tratamento da doença.

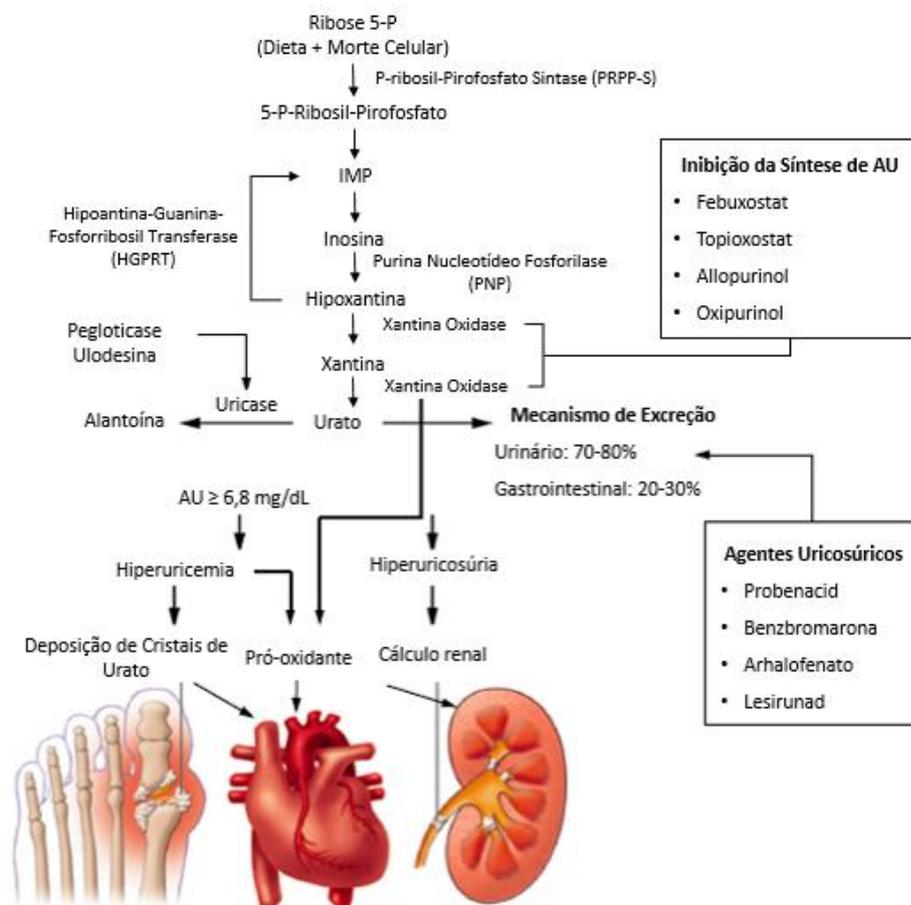
3.3.2 Inovação e desenvolvimento no tratamento da gota

A partir da necessidade de novos medicamentos, alguns avanços foram feitos durante as últimas décadas em relação ao desenvolvimento de novas moléculas candidatas a fármacos, tais como o Lesinurad, medicamento uricosúrico, aprovado para comercialização pelo FDA em 2015, capaz de inibir as proteínas URAT-1 e OAT-4 [47]. Além desta, outras moléculas se encontram em fase de testes clínicos, como o Topiroxostat (CLINICALTRIALS, 2017a), Denosumab (CLINICALTRIALS, 2017b) e Arhalofenato (CLINICALTRIALS, 2017c-f). O Topiroxostat funciona como inibidor seletivo de meia-vida longa (20h) da Xantina oxidase, enquanto o Arhalofenato é uma molécula uricosúrica que inibe os transportadores URAT-1, OAT-4 e OAT-10 (Figura 3) (Tabela 1). Enquanto isso, outras moléculas vem sendo desenvolvidas e abrindo novas possibilidades terapêuticas, por exemplo, a Ulodesina, capaz de inibir a enzima Purina Nucleosídeo Fosforilase (PNP), responsável por uma das primeiras etapas da via de síntese do ácido úrico (Figura 3). Além dela, o KUX-1151 é um duplo inibidor capaz de atuar na XO e na proteína URAT-1, sendo a primeira molécula capaz de atuar na via de síntese e excreção do AU (DIAZ-TORNÉ, PEREZ-HERRERO e PEREZ-RUIZ, 2016).

Contudo, por mais que os avanços sejam claros, a maior parte dos fármacos desenvolvidos até o momento são úteis apenas para a TDU. Existem algumas exceções como Denosumab, que pretende tratar erosões ósseas de pacientes gotosos crônicos, e a Bucillamina, que atua como

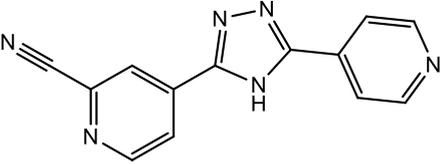
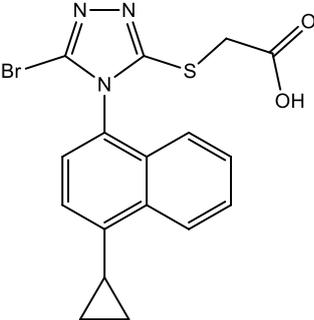
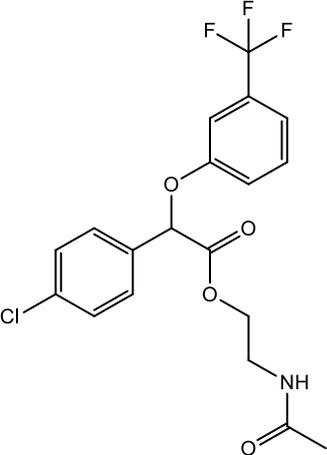
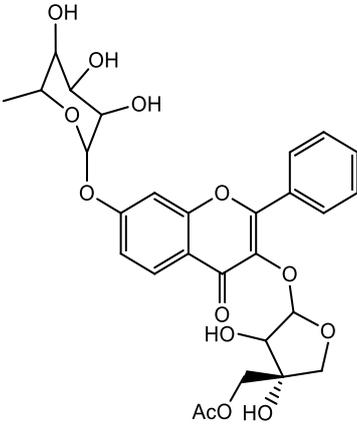
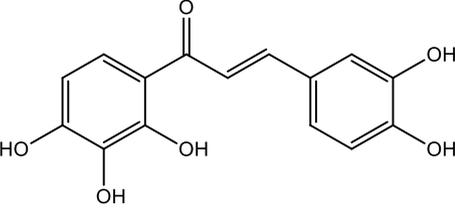
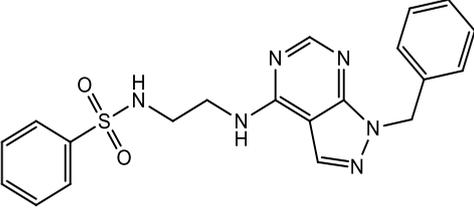
um antioxidante e anti-inflamatório através da inibição da formação do inflamassomo, ambas em estágio de testes clínicos AU (DIAZ-TORNÉ, PEREZ-HERRERO e PEREZ-RUIZ, 2016; ROBERT et al, 2016; CLINICALTRIALS, 2017g). Tal situação também se aplica para as moléculas em fase de testes pré-clínicos, nos quais derivados de flavonoides e chalconas, bem com os clássicos derivados púricos (ou derivados do Allopurinol) vêm sendo bastante explorados e apresentando boa atividade inibitória da XO (Tabela 1) (SPANOU et al, 2012; HOFMANN et al, 2016; LI et al, 2016). O desenvolvimento de novos agentes anti-inflamatórios para o tratamento das crises agudas de gota ainda é muito negligenciado, havendo pouco interesse da sociedade acadêmica de investir até mesmo na fase pré-clínica. Esse fato é bastante preocupante quando se leva em consideração as limitações dos métodos terapêuticos hoje aplicados. Ainda assim, o conhecimento mais aprofundado da fisiopatologia da gota tem proporcionado o descobrimento de novos alvos terapêuticos, dentre eles o PPAR- γ .

Figura 4 Via metabólica do ácido úrico e o mecanismo de ação de medicamentos e moléculas candidatas a fármacos para Terapia de Diminuição de Uratos (TDI).



Fonte: Adaptado de GRASSI *et al*, 2014

Tabela 1 Principais moléculas que estão em fase de testes clínicos (Aralofenato, Topiroxostat) ou foram aprovadas para comercialização recentemente (Lenizurad) e algumas classes de moléculas que estão em testes pré-clínicos.

<p style="text-align: center;">Topiroxostat</p>  <p style="text-align: center;">Inibidor da Xantina Oxidase</p>	<p style="text-align: center;">Lesinurad</p>  <p style="text-align: center;">Inibidor das proteínas URAT-1 e OAT-4</p>
<p style="text-align: center;">Aralofenato</p>  <p style="text-align: center;">Inibidor de URAT-1, OAT-4 e OAT-10</p>	<p style="text-align: center;">Derivado Flavonoide</p>  <p style="text-align: center;">Inibidor Competitivo da Xantina Oxidase</p>
<p style="text-align: center;">Derivados da Chalcona</p>  <p style="text-align: center;">Inibidor da Xantina Oxidase</p>	<p style="text-align: center;">Derivados Púricos</p>  <p style="text-align: center;">Inibidor de Xantina Oxidase</p>

Fonte: BRANCO-JÚNIOR, 2017

Este fator de transcrição pertence à classe dos Receptores Ativados por Proliferador de Peroxissomos (PPARs), que são receptores nucleares relacionados com inúmeras funções biológicas, como a regulação da glicose sérica, diminuição da resistência à insulina e modulação de processos inflamatórios, sendo o PPAR- γ o principal subtipo da classe. Devido

ao seu importante papel na regulação da glicemia, muito tem sido investido no desenvolvimento de moléculas agonistas para explorar o seu potencial antiglicêmico. Contudo, o PPAR- γ também apresenta um grande potencial anti-inflamatório e vem despertando o interesse da comunidade científica para o tratamento de doenças autoimunes como Osteoartrite, Artrite Reumatóide e Gota (GIAGINIS, GIAGINI e THEOCHARIS, 2009).

Segundo estudos, a expressão de PPAR- γ se encontra aumentada durante uma crise aguda de gota, sugerindo que ele pode ser um dos responsáveis pela sua resolução espontânea (POPANITA e NACCACHE, 2010). De acordo com Chang e colaboradores (2016), o coativador do PPAR- γ (PPAR- γ 1 β) está intrinsecamente relacionado com o fim da crise, uma vez que a variante rs45520937 do PPAR- γ 1 β promove o aumento da expressão de NLRP3 e IL-1 β em pacientes gotosos, agravando o processo inflamatório (CHANG et al, 2016). Tal fato foi reforçado por Merriman e Terkeltaub (2017), que consideraram a ativação do PPAR- γ , em conjunto com o aumento do produto de expressão do PPAR- γ 1 β (PGC-1 β), um fator central na regulação do processo inflamatório da artrite gotosa, podendo ser utilizados como alvos terapêuticos (MERRIMAN e TERKELTAUB, 2017). Este fato coloca as moléculas agonistas do PPAR- γ , como as Tiazolidinas, em uma posição de destaque no processo de desenvolvimento de novos candidatos a fármacos anti-inflamatórios para tratamento de crises agudas de gota, uma vez que elas oferecem um mecanismo de ação alternativo e novas vias metabólicas e de eliminação.

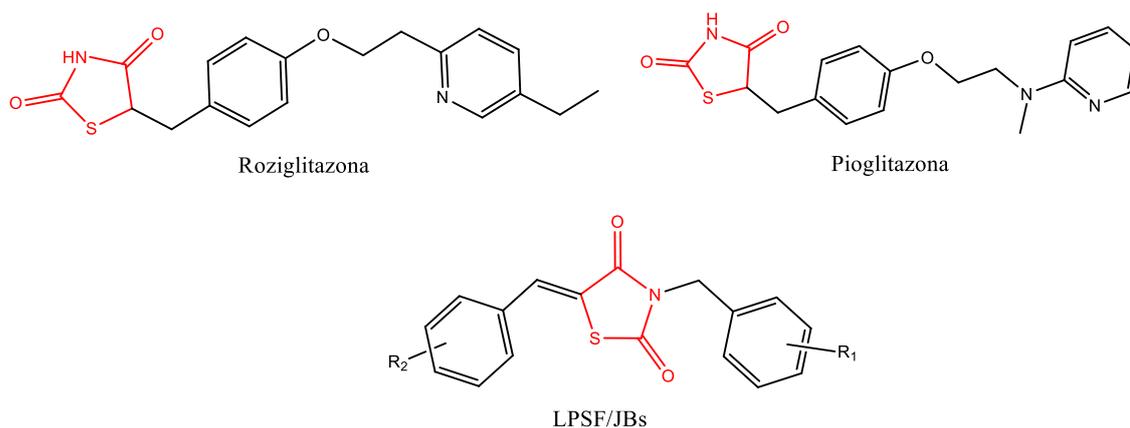
3.4 AS TIAZOLIDINAS E SEU POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO

Em meio a tantas classes de moléculas naturais e sintéticas que funcionam como agonistas do receptor PPAR- γ (RAMANAN et al, 2008; KHARBANDA et al, 2016; MASSARO et al, 2016; WANG et al, 2016), as Tiazolidinas vêm se destacando ao longo do tempo. Esta classe de moléculas é famosa pela sua atividade antiglicêmica e apresenta na sua estrutura química um anel pentamérico heterocíclico com um enxofre na posição 1 e um nitrogênio na posição 3, podendo conter carbonilas na posição 2 e/ou 4 (Figura 5). Os derivados tiazolidínicos disponíveis no mercado (Roziglitazona e Pioglitazona) são tiazolidinedionas, ou seja, apresentam carbonilas nas posições 2 e 4 do anel (Figura 4), sendo indicados para o tratamento de Diabetes Mellitus tipo 2 (POWERS e D'ALESSIO, 2012). Entretanto, pesquisas utilizando modelos experimentais *in vivo* mostraram que a Roziglitazona e a Pioglitazona também podem

atuar como potentes anti-inflamatórios inibindo IL-5, IL-17, IL-8, $\text{INF}\gamma$ e $\text{TNF}\alpha$, além de aumentar a expressão da citocina anti-inflamatória IL-10, reforçando com isso, a possibilidade de utilização dos derivados tiazolidínicos no tratamento da inflamação (KAPLAN et al, 2014; ZHAO et al, 2014; KIM et al, 2005; EL-NAA et al, 2015)

Outro fato importante sobre as Tiazolidinas é que elas podem ser administradas em pacientes com insuficiência hepática e não apresentam restrições para pacientes renais, o que é uma vantagem quando comparadas aos medicamentos utilizados no tratamento padrão da gota (POWERS e D'ALESSIO, 2012). Com isso, cada vez mais as tiazolidinas vêm sendo alvo de investigação para explorar o seu potencial anti-inflamatório, mas não apenas as tiazolidinas 5-substituídas, como no caso da Rosiglitazona e Pioglitazona, mas também as tiazolidinas 3,5-diaril-substituídas. Mesmo apresentando diferenças estruturais que lhe conferem menor polaridade, tais derivados mostraram ser bastante eficazes em estudos realizados por ROCHA-JÚNIOR e colaboradores (2013) e por CARIOU, CHARBONNEL e STAELS (2012), inibindo consideravelmente a expressão de IL-1 β , $\text{TNF}\alpha$, $\text{INF}\gamma$, IL-6, IL-22 e IL-17 (CARIOU, CHARBONNEL e STAELS, 2012; ROCHA-JUNIOR et al, 2013).

Figura 5. Estrutura química dos derivados tiazolidínicos disponíveis no mercado (Rosiglitazona e Pioglitazona) e dos derivados tiazolidínicos 3,5-diaril substituídos (LPSF/JBs)



Fonte: BRANCO-JÚNIOR, 2017

Mas ainda que as tiazolidinas disponíveis comercialmente aumentem o risco de doenças cardiovasculares, as interações realizadas por ligantes em seus respectivos receptores são singulares, apresentando um perfil de ligação único para cada molécula. Com isso, diferentes derivados tiazolidínicos, podem apresentar maior ou menor atividade agonista do PPAR- γ e fazer uso de diferentes vias metabólicas, o que possibilita a minimização dos seus efeitos

adversos (GRETHER et al, 2010). Além disso, suas características estruturais podem proporcionar atividade anti-inflamatória através de vias alternativas, o que lhe confere maior efetividade (CÉSAR et al, 2015).

Nesse contexto, o planejamento e síntese de novos derivados tiazolidínicos 3,5-diari-substituídos com potencial anti-inflamatório pode representar uma nova alternativa para o tratamento da gota, ajudando pacientes impossibilitados de recorrer ao método terapêutico convencional a se tratar de forma eficiente e segura.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 SÍNTESE ORGÂNICA E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL

4.1.1 Materiais e equipamentos

4.1.1.1 Reagentes e solventes

Todos os Reagentes utilizados na síntese dos compostos intermediários e finais são da marca Sigma/Aldrich. Já os solventes utilizados no processo de síntese orgânica e análise qualitativa dos compostos pertencem à Sigma/Aldrich, Acros, Merck, Vetec ou Quimis. Para realizar as cromatografias de camada delgada foram utilizadas placas Merck silicagel 60 F254 de 0,25 mm, sendo reveladas em luz ultravioleta de 254 nm ou 366 nm.

Os solventes, reagentes e intermediários utilizados na realização das etapas reacionais foram: acetato de etila, tolueno, hexano, acetonitrila, água destilada, metanol, etanol, clorofórmio, morfolina, tiouréia, ácido monocloroacético, hidróxido de potássio, brometo de 3,5-dimetilbenzila, cianoacetato de etila, 4-clorobenzaldeído, 4-metoxibenzaldeído, 2-bromobenzaldeído, 4-hidroxibenzaldeído, 4-metilbenzaldeído, 4-(dimetilamino)benzaldeído, indol-3-carboxaldeído, 4-fluorobenzaldeído, 4-bromobenzaldeído, 5-bromo-indol-3-carboxaldeído, 4-(dimetilamino)benzaldeído, 4-(trifluorometoxi)benzaldeído, 2,6-diclorobenzaldeído, 4-formilbenzaldeído, 2-ciano-3-(4-Cloro-fenil)-2-ciano-acrilato de etila (LPSF/IP-4), 2-ciano-3-(4-metoxi-fenil)-acrilato de etila (LPSF/IP-6), 2-ciano-3-(2-bromo-fenil)-acrilato de etila (LPSF/IP-8), 2-ciano-3-(4-hidroxi-fenil)-acrilato de etila (LPSF/IP-11), 2-ciano-3-p-tolil-acrilato de etila (LPSF/IP-15), 2-ciano-3-(4-dimetilamino-fenil)-acrilato de etila (LPSF/IP-16), 2-ciano-3-(indol-3-il-fenil)-acrilato de etila (LPSF/IP-19), 2-ciano-3-(4-fluoro-fenil)-acrilato de etila (LPSF/IP-21), 2-ciano-3-(4-bromo-phenyl)-acrilato de etila (LPSF/IP-30), 2-ciano-3-(4-(trifluorometoxi)penil)-acrilato de etila (LPSF/IP-58), 2-ciano-3-(2,6-diclorofenil)-acrilato de etila (LPSF/IP-61), 2-ciano-3-(4-cianofenil)-acrilato de etila.

4.1.1.2 Equipamentos

Em relação aos equipamentos empregados no processo de síntese e análise qualitativa dos compostos, foram utilizados os seguintes modelos disponíveis no Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica Suelly Galdino (NUPIT-SG): Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear modelo Ascend III 400 MHz (Bruker), Espectrofotômetro de Infravermelho modelo IV Prestige-21 por transformada de Fourier (Shimadzu), Cromatógrafo de Gás acoplado ao

Espectrômetro de Massas modelo GCMS-QP2010 Plus (Shimadzu), Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência modelo LC-20AT (Shimadzu) e Placa Aquecedora Digital (Nova Instruments).

4.1.2 Metodologia de síntese

4.1.2.1 Tiazolidina-2,4-diona (TZD)

Quantidades equimolares de ácido monocloroacético e tiouréia foram diluídos em 20 mL água destilada e adicionados à um balão de fundo redondo de 250 mL. A mistura foi então aquecida à 80°C e mantida sob agitação constante por 18 horas. Em seguida, a solução foi conservada a 4°C por 24h para formação dos cristais, que por sua vez foram purificados através lavagens sucessivas com água destilada.

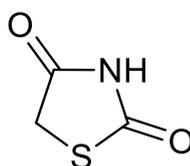
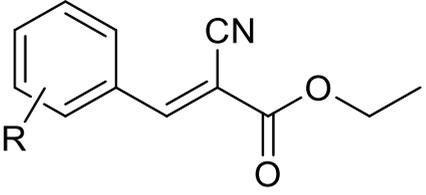


Figura 6 Estrutura química da Tiazolidina-2,4-diona

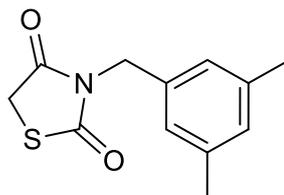
4.1.2.2 Ésteres de Cope (LPSF/IPs)

Em um balão de fundo redondo de 250 ml foram adicionadas quantidades equimolares de aldeídos aromáticos substituídos e cianoacetato de etila na presença de morfolina como catalisador, todos previamente diluídos em tolueno. A solução foi mantida à 60°C por 4h sob agitação constante e refluxo para obtenção dos ésteres de cope. Ao fim deste período o solvente foi retirado com o auxílio do Rotaevaporador e o precipitado foi submetido a recristalização com etanol à 60°C. Os cristais foram filtrados e o filtrado foi mantido sob refrigeração para aumentar o rendimento.

Quadro 1 Estrutura geral dos Ésteres de Cope com seus respectivos substituintes

	R	Código LPSF	R	Código LPSF
	4-CH ₃	JB-2	1H-indol-3-ilmetileno	JB-8
	4-OH	JB-3	4-CN	JB-9
	4-Cl	JB-4	4-F	JB-11
	4-Br	JB-5	2-Br	JB-12
	4-OCH ₃	JB-6	2,6-Cl	JB-13
	4-OCF ₃	JB-7		

4.1.2.3 3-(3,5-dimetilbenzil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-1)

**Figura 7** Estrutura química do composto LPSF/JB-1

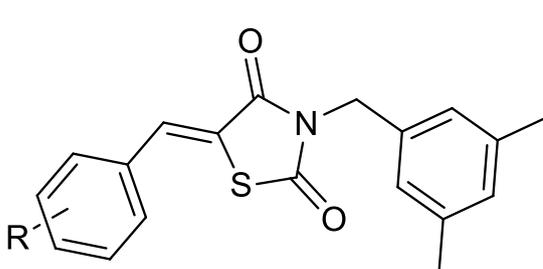
Para otimizar a síntese do LPSF/JB-1 foram realizados vários experimentos com diferentes condições reacionais, sendo as descritas abaixo aquelas que apresentaram os melhores resultados.

Nessa reação foi utilizada uma proporção de 1:1,3:1 TZD/ Brometo de 3,5-dimetilbenzila/Hidróxido de Potássio. A TZD foi adicionada a um béquer contendo 100 mL de acetonitrila, enquanto que o KOH foi adicionado a outro béquer contendo 50 mL de metanol. Após a completa dissolução de ambos as soluções foram misturadas em um balão de fundo redondo de 250 mL e então foi mantida sob agitação constante por 40 minutos à temperatura ambiente. Passado este tempo foi adicionado o brometo de 3,5-dimetilbenzila à solução e o aquecimento foi iniciado, sendo a reação mantida à 60°C por 2 horas sob refluxo. Ao fim deste

período a solução foi filtrada e levada ao Rotaevaporador para a completa retirada dos solventes. Em seguida, foi realizada uma recristalização com etanol à 60°C e os cristais foram filtrados.

4.1.2.4 Derivados Tiazolidínicos (LPSF/ JBs)

Quadro 2 Estrutura geral dos derivados Tiazolidínicos 3,5-dissubstituídos com seus respectivos substituintes

	R	Código LPSF	R	Código LPSF
	4-CH ₃	JB-2	4-CN	JB-9
	4-OH	JB-3	4-F	JB-11
	4-Cl	JB-4	2-Br	JB-12
	4-Br	JB-5	2,6-Cl	JB-13
	4-OCH ₃	JB-6	N(CH ₃) ₂	JB-14
	4-OCF ₃	JB-7	5-Br-1H-indol	JB-20
	1H-indol	JB-8		

Para obtenção dos compostos finais através da reação de adição de Michael, foram diluídos em etanol quantidades equimolares de JB-1 e seus Ésteres de Cope correspondentes, utilizando como catalizador morfolina. A reação foi mantida à 60°C por 2-6 horas sob agitação constante e refluxo. Passado este período os cristais presentes no balão foram filtrados e o solvente foi mantido sob refrigeração para aumentar o rendimento. Os cristais foram purificados através de lavagens sucessivas com etanol ou metanol. Contudo, os compostos LPSF/JB-14 e LPSF/JB-20 não foram obtidos a partir da metodologia descrita anteriormente. Com isso, foi realizada reação de condensação de Knoevenagel, onde o LPSF/JB-1 foi diluído em ácido acético (4ml/mmol) juntamente com a quantidade equimolar dos respectivos aldeídos. Em seguida foi adicionado acetato de amônio (2eq) à solução, funcionando como promotor. Com

isso, a reação foi mantida sob agitação à 110°C por 4h, sendo o produto cristalizado à 4°C e purificado através de lavagens sucessivas com metanol.

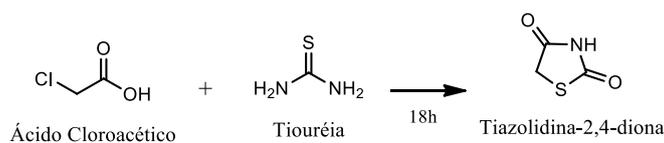
4.1.3 Rotas de síntese

Para obter os derivados Tiazolidínicos foram realizadas 4 etapas reacionais. A primeira delas foi a síntese do anel de tiazolidina-2,4-diona (TZD) através do processo de ciclização entre o ácido monocloroacético e a tiourea diluídos em água. Já a segunda etapa consistiu da substituição nucleofílica (*N*-alquilação) da TZD pelo brometo de 3,5-dimetilbenzila para formar o intermediário 3-(3,5-dimetilbenzil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-1). Como terceira etapa foi realizada uma condensação de Knoevenagel entre o cianoacetato de etila e os aldeídos aromáticos substituídos para formação dos Ésteres de Cope. Finalmente, os derivados Tiazolidínicos foram obtidos através de uma adição de Michael entre o LPSF/JB-1 e os Ésteres de Cope correspondentes. Em relação ao LPSF/JB-14 e LPSF/JB-20, não foi possível obtê-los a partir da reação de adição de Michael, sendo necessário fazer uma reação alternativa de Condensação de Konevenagel utilizando os respectivos aldeídos aromáticos e o intermediário LPSF/JB-1.

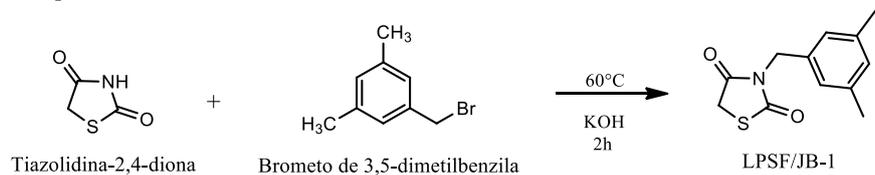
Esquema 1 Rota de síntese geral para obtenção dos derivados tiazolidínicos LPSF/JBs

R	Código LPSF	R	Código LPSF
4-CH ₃	JB-2	1H-indol-3-ilmetileno	JB-8
4-OH	JB-3	4-CN	JB-9
4-Cl	JB-4	4-F	JB-11
4-Br	JB-5	2-Br	JB-12
4-OCH ₃	JB-6	2,6-Cl	JB-13
4-OCF ₃	JB-7		

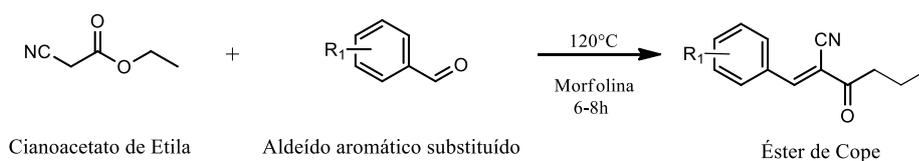
1ª Etapa



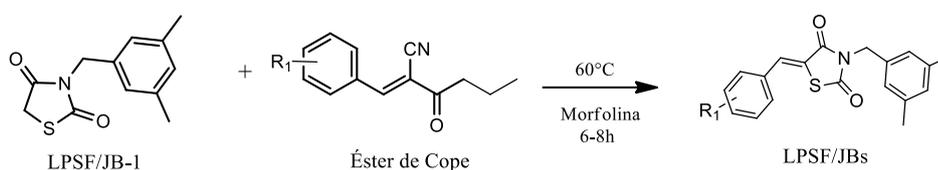
2ª Etapa



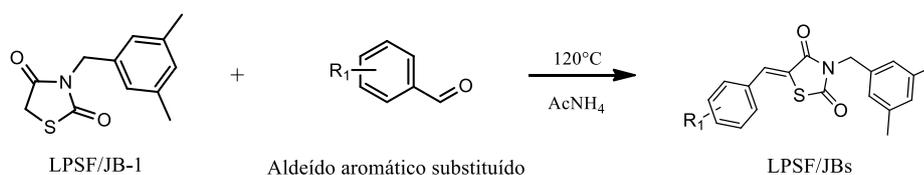
3ª Etapa



4ª Etapa



3ª Etapa Alternativa



4.1.4 Análise estrutural

Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono: Os solventes utilizados para diluir os compostos foram DMSO-d₆ e CDCl₃ em temperatura ambiente. Os principais picos detectados foram oriundos de alcanos, alcenos e anéis aromáticos, bem como de alguns substituintes, tais como nitrila, metila, metoxila, hidroxila, trifluorometoxila e indol.

Espectrofotometria de Infravermelho (IV): Para a análise foram utilizadas pastilhas de KBr a 1%, sendo as principais bandas observadas referentes a: C=O (posição 1 e 2 do nel tiazolidínico), CH₃, CH de alcano e CH de aromático.

Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (GC-MS): O método utilizado para a ionização dos compostos foi o Impacto de Elétrons (EI). O volume e a temperatura de injeção utilizados foi de 5-8 µL e 250-320°C, respectivamente. Para solubilizar os compostos foi utilizado o solvente acetonitrila, sendo aplicado como tempo de corte do solvente o período de 3 minutos.

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE): A análise foi realizada utilizando como fase móvel uma mistura, de concentrações variáveis, de Acetonitrila (ACN) e Metanol (MeOH) e a coluna C18 como fase estacionária. O tempo de cada corrida foi de 20 minutos.

4.2 ENSAIOS BIOLÓGICOS

4.2.1 Aspectos éticos

O projeto foi previamente aprovado pelo comitê de ética em pesquisa em seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE), sob o registro 19646913.0.0000.5208, em nome da Prof. Dra Maira Galdino da Rocha Pitta, do Departamento de Bioquímica.

4.2.2 Seleção de voluntários

Foram incluídos no estudo pacientes maiores de 18 anos que tiveram o diagnóstico de Gota confirmado de acordo com os critérios do American College of Rheumatology⁴⁰ (ACR) (Khanna et al., 2012) e são acompanhados regularmente no Ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas (HC) -UFPE.

O grupo de comparação foi composto de voluntários saudáveis maiores de 18 anos que não apresentavam história clínica ou diagnóstico de gota e que, após leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), concordaram em participar do estudo. Foram excluídos pacientes portadores de outra condição clínica que cause hiperuricemia, tais como doenças mieloproliferativas, anemia hemolítica, psoríase, sarcoidose, insuficiência renal aguda ou crônica, intoxicação alcoólica, cetoacidose diabética, acidose láctica, doença por depósito de glicogênio tipo I, hipo e hiperparatireoidismo, hipotireoidismo, sedentarismo, jejum prolongado ou ainda utilização de drogas como salicilatos em baixas doses, diuréticos

tiazídicos, penicilina e corticosteróides. Além desses, fumantes e indivíduos que tenham ingerido álcool nas últimas 72h também foram excluídos.

4.2.3 Coleta de sangue

A coleta de sangue foi realizada no Ambulatório de Reumatologia do HC-UFPE e no Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêuticas (LINAT) com autorização prévia dos voluntários. Para isso, membros da equipe explicaram o objetivo do estudo e a importância da sua participação. Após a assinatura do TCLE foram coletados 27mL de sangue em tubos de heparina de cada um dos voluntários (n = 7) e pacientes (n=18).

4.2.4 Isolamento das PBMCs

As Células Mononucleares de Sangue Periférico (PBMCs) foram obtidas através da técnica de centrifugação Ficoll-Paque PLUS (GE Healthcare) à 450g por 45 min, aceleração 4, freio 0. Após a formação do anel de PBMCs, este foi colhido e lavado duas vezes seguidas com tampão fosfato-salino (PBS) 1x nas seguintes condições: 350g por 20 min, aceleração 6, freio 4 na primeira lavagem; 350g por 15 min, aceleração 6, freio 4 na segunda lavagem. Terminadas as lavagens, o sobrenadante foi descartado e o precipitado de células foi ressuspensionado em meio RPMI-1640 suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (Gibco), HEPES 10 mM (Gibco) e Penicilina e Estreptomicina 200 U/mL (Gibco) para realização da contagem das células em câmara de Neubauer.

4.2.5 Ensaio de citotoxicidade

O ensaio de toxicidade dos LPSF/JBs foi realizado em PBMCs de voluntários saudáveis (n = 3) em triplicata. Após a separação, as células foram plaqueadas em placas de 96 poços (5×10^5 células/poço) e submetidas às seguintes condições: 1-Células não tratada (Controle negativo); 2-Célula + DMSO 0,1% (veículo); 3-Célula + LPSF/JBs (10 μ M e 75 μ M). Em seguida as células foram incubadas em estufa a 37°C e 5% de CO₂ por 48h. Após este período, foram adicionados às células 20 μ L de Brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT), sendo, em seguida, devolvidas para a estufa por mais 3h. Então, foram

adicionados 130 µL de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) a 20% e, após 24h, a absorbância foi lida em uma leitora de placas (Elx808, Biotek, EUA) no comprimento de onda de 570 nm. A viabilidade foi calculada a partir dos poços tratados apenas com DMSO (0,1%).

4.2.6 Preparação dos cristais MSU

Para preparação de uma solução de MSU (0.03 M, pH 7.5), foi diluído 1g de ácido úrico (Sigma) em 200mL de água contendo 40g de NaOH. O pH foi ajustado para 7,4 utilizando HCl e a solução foi incubada à 60° por 18h. Após este período a solução foi resfriada em temperatura ambiente e armazenada à 4°C para obtenção dos cristais MSU (5-25µm).

4.2.7 Cultura para avaliação de citocinas

Após a separação das PBMCs como descrito anteriormente, as células foram plaqueadas em placas de 24 poços (1x10⁶ cel/mL) e cultivadas por 24h, utilizando como estímulo os cristais MSU sintetizados e como fármacos de referência a Colchicina e o Metilprednisolona (MP). Com isso, as células foram submetidas às seguintes condições: tiveram sua atividade imunomoduladora analisada os compostos LPSF/JB-6, 9, 11, 12 e 13 nas concentrações de 25, 50 e 75µM. Passado o tempo de cultura, as células foram centrifugadas por 1min à 450g, aceleração 6 e freio 4 para coleta do sobrenadante, sendo mantido sob refrigeração (-80°C) até a realização da dosagem de citocinas pela técnica de ELISA sanduiche.

4.2.7 Dosagem de citocinas por ELISA

As citocinas presentes no sobrenadante de cultura dos pacientes foram dosadas através da técnica de ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) sanduiche, seguindo as instruções descritas pelos fornecedores. As citocinas aqui dosadas foram IL-1β (BD Bioscience) e IL-6 (BD Bioscience), obedecendo seus respectivos limites de detecção (3,90-500pg/mL e 4,68-600pg/mL).

4.2.8 Análise estatística

Para os resultados de ELISA foi utilizado o software GraphPad Prism 6 para confecção dos gráficos e análise estatística. Primeiramente, a fim de avaliar a distribuição normal dos grupos amostrais, foi realizado teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Em seguida foi escolhido o teste t estatístico para dados não-paramétricos de Wilcoxon. Foi considerado como estatisticamente significativo o valor de $p > 0,05$ e intervalo de confiança de 95%.

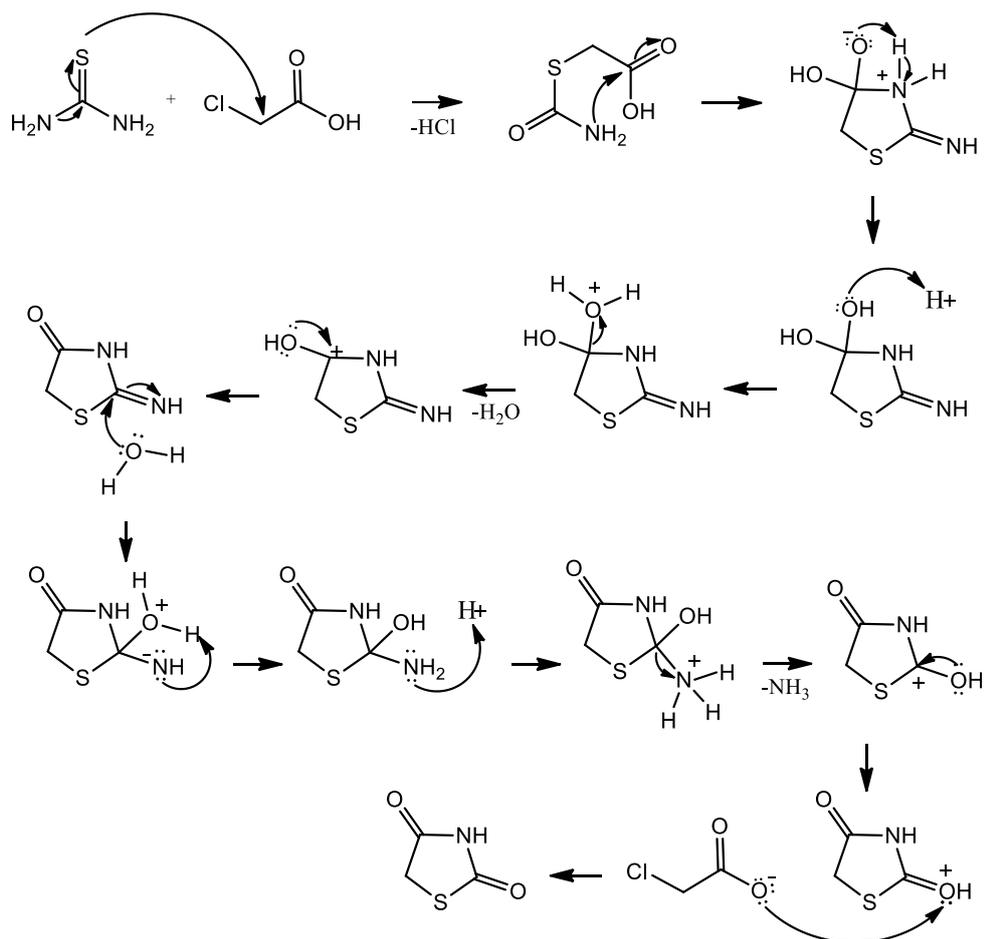
5 RESULTADOS

5.1 SÍNTESE ORGÂNICA E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL

5.1.1 Mecanismos de reação

5.1.1.1 Primeira etapa reacional - Ciclização

A reação tem início quando os elétrons livres do enxofre da tiouréia ataca o carbono α do ácido cloroacético, liberando ácido clorídrico, através de uma reação de substituição nucleofílica de segunda ordem (S_N2). Em seguida, o par de elétrons livres da amina atacam o carbono do ácido carboxílico, que se encontra parcialmente positivo devido a ressonância presente neste grupo funcional, o que leva a ciclização do anel. Entretanto, o Nitrogênio fica com quatro ligações deixando-o com carga formal positiva, e para se estabilizar ele transfere um dos seus prótons para o oxigênio que se encontra com carga formal negativa, formando uma hidroxila. O meio ácido faz com que a hidroxila seja facilmente protonada, havendo liberação de água e formação de uma carbonila na posição 4 do anel. A formação da carbonila da posição 2 se dá devido a um rearranjo intramolecular que possibilita o ataque de uma molécula de água ao carbono 2 do anel, sendo liberada uma molécula de amônia e outra de ácido cloroacético ao fim do processo (Esquema 2). Esta reação teve um rendimento de 82%.

Esquema 2 Mecanismo de reação hipotético de ciclização para obtenção da Tiazolidina-2,4-diona

Fonte: Autor, 2017

5.1.1.2 Segunda etapa reacional – N-alkilação da Tiazolidina

Devido a presença de um átomo eletronegativo como o nitrogênio e dos efeitos de ressonância o anel de Tiazolidina-2,4-diona pode ser considerado um ácido fraco e, por isso, pode reagir com haletos de alquila substituídos em soluções básicas formando sais.

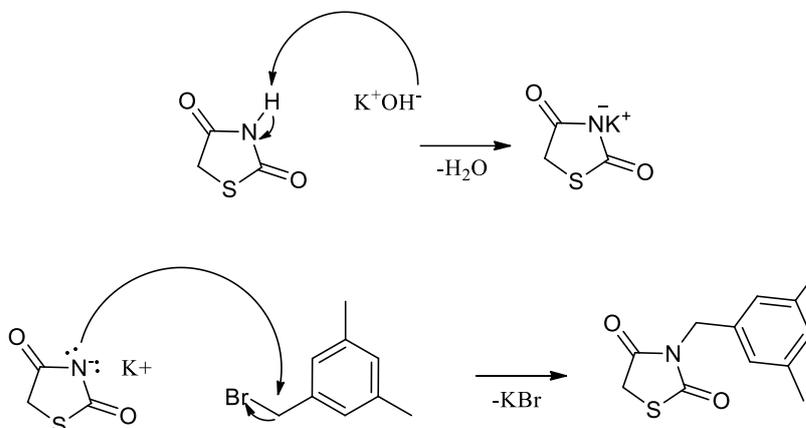
As reações de N-alkilação representadas pelo Esquema 3 também consistem em substituições nucleofílicas de segunda ordem ($\text{S}_\text{N}2$). Desta forma, para ter uma maior celeridade e rendimento da reação é ideal utilizar um solvente aprótico para solubilizar os reagentes, visando a sua não interferência na reação. O solvente aprótico adotado foi a acetonitrila. Contudo, o hidróxido de potássio não solubilizou neste solvente, sendo necessário utilizar um pouco de metanol (solvente prótico) para solubilizar a base e depois mistura-la com a TZD em acetonitrila.

A reação então se inicia quando a base ataca o hidrogênio ácido da Tiazolidina-2,4-diona deixando o nitrogênio com carga formal negativa, o que forma um sal de transição que é

utilizado como nucleófilo forte. Este sal ataca o haleto de alquila formando o intermediário Tiazolidínico substituído na posição 3 e liberando brometo de potássio (KBr) como subproduto.

Esquema 3 Mecanismo de Reação hipotético de *N*-alquilação para obtenção do LPSF/JB-1

Fonte: Autor, 2017.

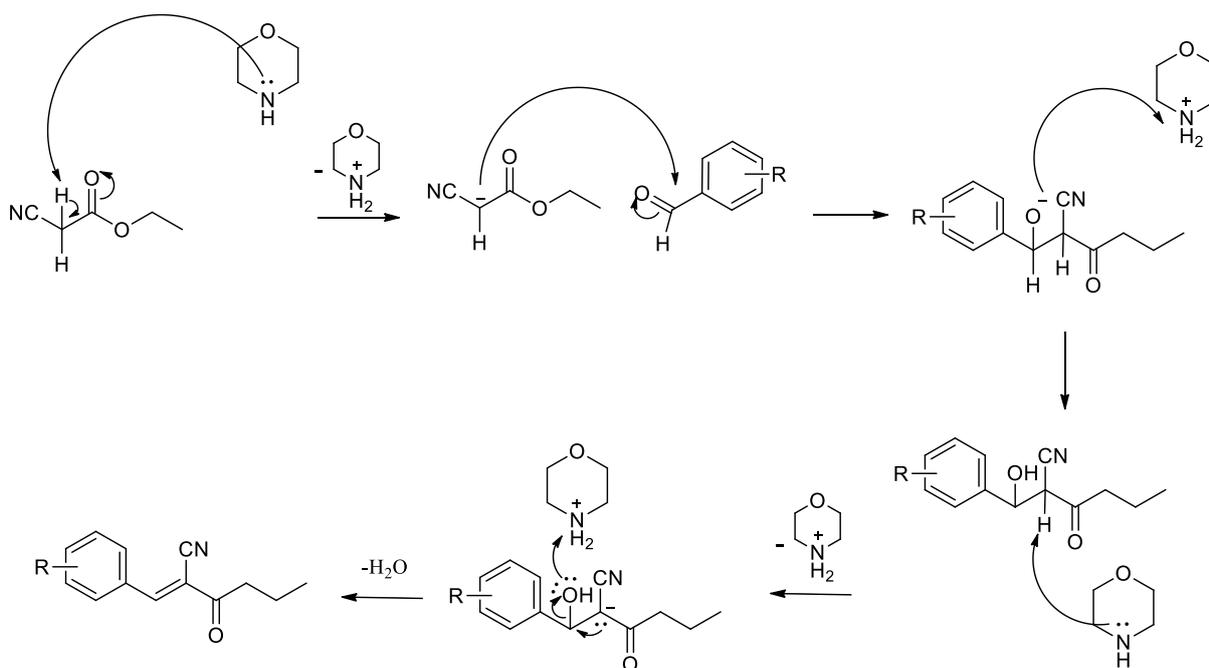


5.1.1.3 Terceira etapa reacional – Condensação de Knoevenagel (LPSF/IPs)

A síntese dos Ésteres de Cope é realizada através da reação entre um aldeído aromático e uma molécula de cianoacetato de etila, consistindo em uma condensação de Knoevenagel descrita no Esquema 4.

O catalizador morfolina arranca um dos hidrogênios ácidos do cianoacetato de etila, que se encontram parcialmente positivos devido à intensa ressonância da molécula, gerando um carbânion e liberando uma molécula de morfolina protonada. O carbânion, por sua vez, ataca o carbono do aldeído que se encontra parcialmente positivo. A molécula formada apresenta um átomo de oxigênio com carga formal negativa que ataca o hidrogênio da morfolina, formando uma hidroxila. Em seguida, a morfolina ataca o hidrogênio ácido da molécula permitindo a formação de uma dupla ligação e a liberação de água, devido ao ataque da hidroxila ao hidrogênio da morfolina.

Esquema 4 Mecanismo de reação hipotético de Condensação de Knoevenagel obtenção dos Ésteres de Cope.



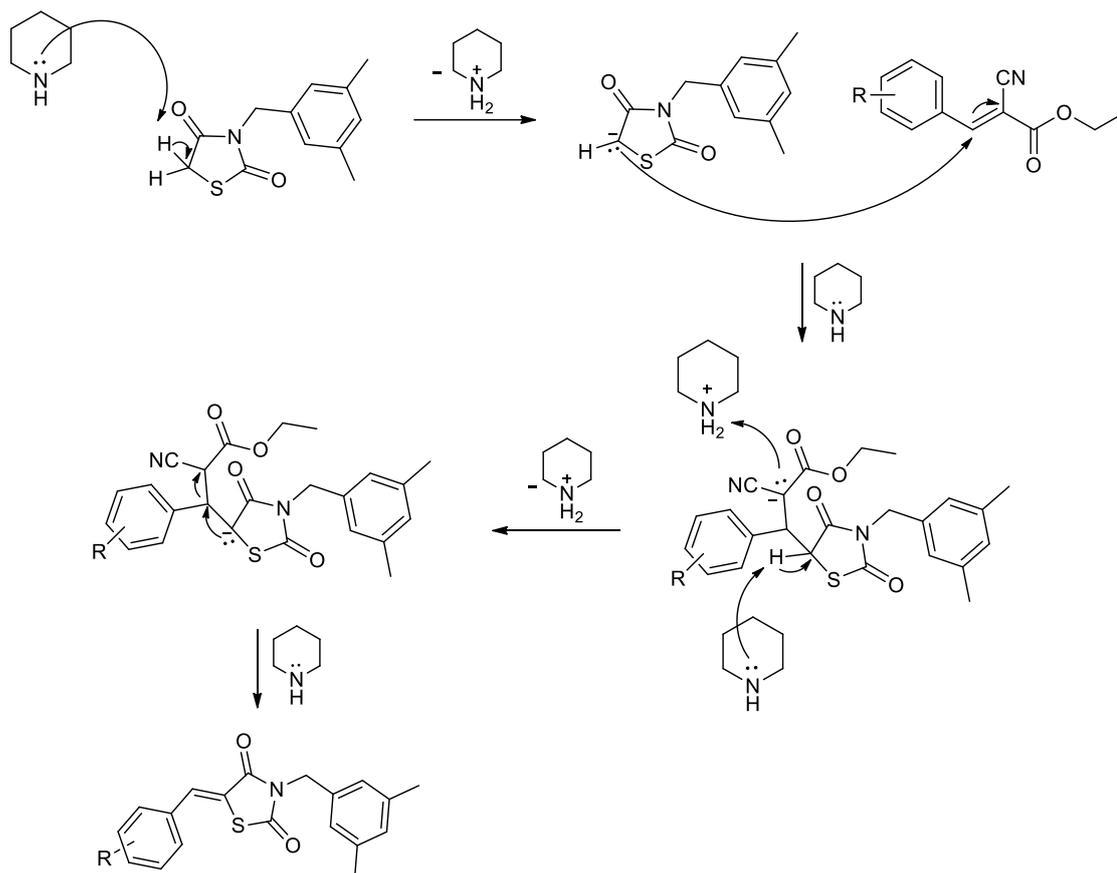
Fonte: Autor, 2017.

5.1.1.4 Quarta etapa reacional – Adição de Michael (LPSF/JBs)

O mecanismo de reação dos derivados Tiazolidínicos se dá através de uma adição de Michael, ou seja, uma reação de adição entre um ânion enolato (Tiazolidina esprotonada) e um composto carbonílico α,β -insaturado (LPSF/IPs), catalisados pela morfolina (Esquema 5).

A reação começa quando a morfolina ataca um dos hidrogênios da posição 5 da tiazolidina, formando um carbânion que logo ataca o carbono β dos LPSF/IPs, que se encontra parcialmente positivo devido à forte ressonância da molécula, seguida da liberação da porção cianoacrilato e formação dos derivados tiazolidínicos.

Esquema 5 Mecanismo de reação hipotético de Adição de Michael para obtenção dos LPSF/JBs.

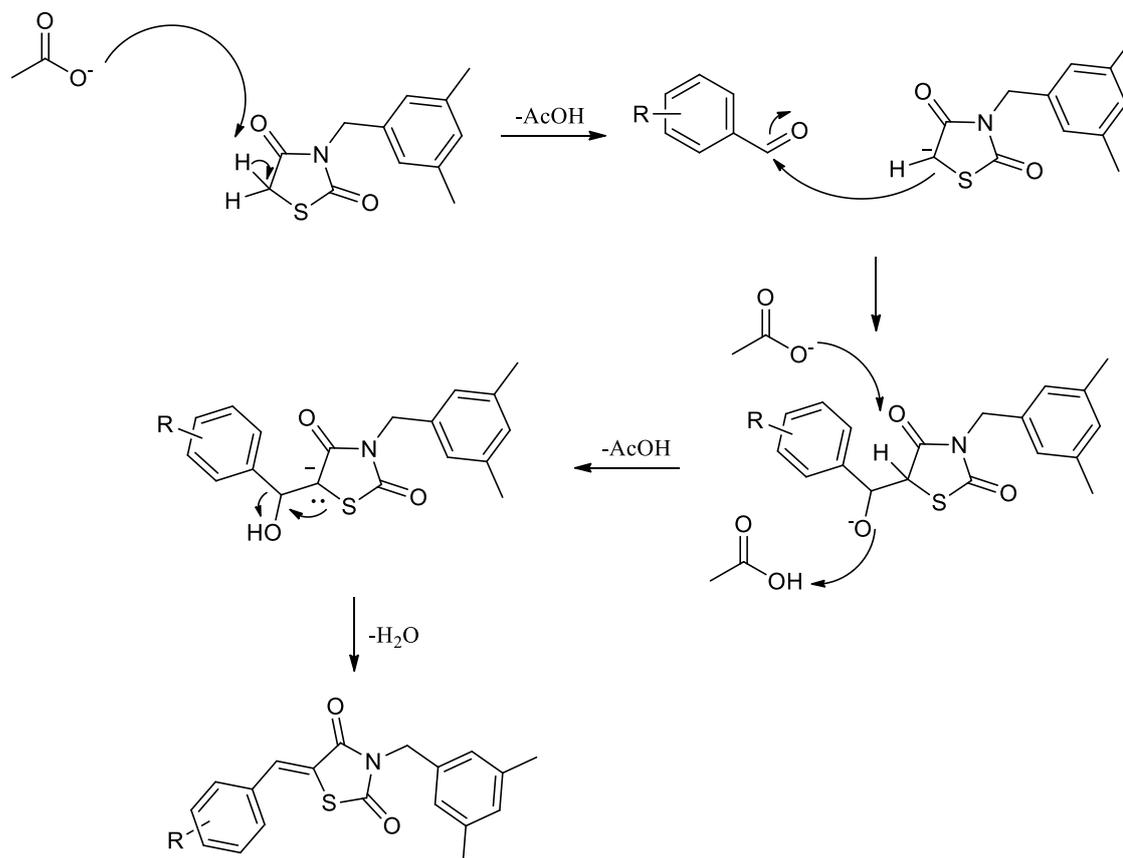


Fonte: Autor, 2017.

5.1.1.5 Terceira etapa reacional (Alternativa) – Condensação (LPSF/JBs)

Devido à grande dificuldade de obtenção do LPSF/JB-14 e LPSF/JB-20 através da reação de adição de Michael, foi utilizada uma reação de condensação alternativa, onde o solvente utilizado foi o ácido acético glacial e no lugar do catalizador morfolina foi utilizado acetato de amônio como promotor. O mecanismo de reação é o mesmo que a metodologia aplicada para obtenção dos LPSF/IPs e segue como ilustrado na Esquema 6.

Esquema 6 Mecanismo de reação hipotético da Condensação alternativa para obtenção do LPSF/JBs-14 e LPSF/JB-20.



Fonte: Autor, 2017.

5.1.2 Caracterização estrutural

Todos os compostos sintetizados tiveram sua estrutura química caracterizada através das técnicas de Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (GC-MS), Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono (RMN ^1H e ^{13}C) e Espectrofotometria de Infravermelho (IV). Com o auxílio do GC-MS foi possível verificar a massa e a pureza dos compostos, com exceção do JB-3, que devido ao seu alto ponto de ebulição não conseguiu ser detectado pelo equipamento. Com isso, o grau de pureza dos compostos foi confirmado através da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (tabela 2). As características físico-químicas dos produtos sintetizados foram listadas abaixo na Tabela 2.

Tabela 2 Características físico-químicas dos compostos LPSF/JBs sintetizados

Produto	F.M	P.M	Rdt (%)	Prz(%)	Pf (°C)	Rf	logP	Cor
JB-1	C ₁₂ H ₁₃ NO ₂ S	235,30	59,45	100	106,8°C	0,73	2,66	Branca
JB-2	C ₂₀ H ₁₉ NO ₂ S	337,11	70,33	97,42	175,6°C	0,88	4,92	Branca
JB-3	C ₁₉ H ₁₇ NO ₃ S	339,09	51,87	99,75	261,0 °C	0,61	4,04	Amarela
JB-4	C ₁₉ H ₁₆ ClNO ₂ S	357,06	97,90	100	218,7 °C	0,88	4,99	Branca
JB-5	C ₁₉ H ₁₆ BrNO ₂ S	401,01	76,90	98,25	219,2°C	0,88	5,26	Branca
JB-6	C ₂₀ H ₁₉ NO ₃ S	353,11	64,44	100	145,8°C	0,77	4,31	Amarela
JB-7	C ₂₀ H ₁₆ F ₃ NO ₃ S	407,08	76,40	100	185,3°C	0,93	5,96	Branca
JB-8	C ₂₁ H ₁₈ N ₂ O ₂ S	362,11	23,37	100	259,0°C	0,70	3,97	Amarela
JB-9	C ₂₀ H ₁₆ N ₂ O ₂ S	348,09	89,19	100	202,6°C	0,90	4,47	Branca
JB-11	C ₁₉ H ₁₆ FNO ₂ S	341,09	66,75	100	198,1°C	0,91	4,59	Amarela
JB-12	C ₁₉ H ₁₆ BrNO ₂ S	401,01	48,03	100	118,4 °C	0,87	5,26	Branca
JB-13	C ₁₉ H ₁₅ Cl ₂ NO ₂ S	391,02	65,78	100	152,6°C	0,91	5,55	Branca
JB-14	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₂ S	366,14	31,62	98	179,4°C	0,8	4,72	Laranja
JB-20	C ₂₁ H ₁₇ BrN ₂ O ₂ S	441,34	30,9	100	240°C	0,5	4,8	Amarela

5.1.3 Análise Estrutural

5.1.3.1 Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN¹H)

A Ressonância Magnética Nuclear é a principal técnica utilizada para caracterização estrutural, uma vez que através de um campo magnético e pulsos de ondas de rádio pode-se, por exemplo, detectar quantos hidrogênios há em uma determinada molécula e qual a sua localização, além de informar quais os tipos de carbono nela presentes. Para isso, basta variar a frequência das ondas de rádio utilizadas. Com esta variação de frequência, a faixa de deslocamento químico na detecção de um elemento para outro também varia, sendo a do hidrogênio de 0-10 partes por milhão (ppm).

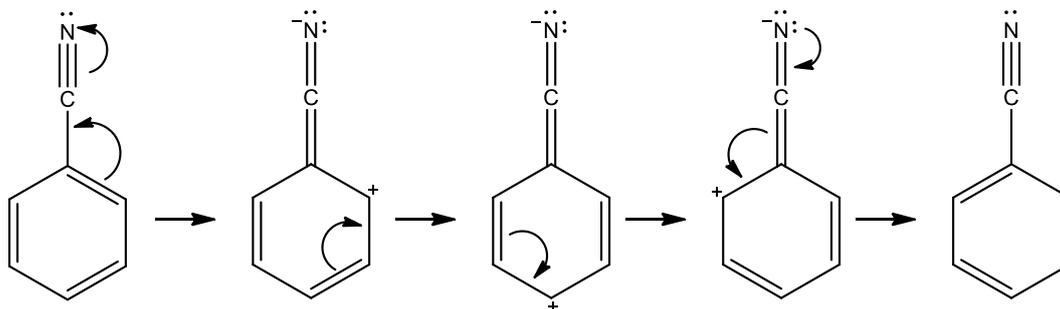
No caso dos JBs, o CH₂ ligado ao Nitrogênio da Tiazolidina, como não contém nenhuma instauração, foi observado abaixo de 5 ppm. Apresentando-se em forma de simpleto em 4,58 ppm (f) no intermediário (LPSF/JB-1) ou na faixa de 4,74-4,83 ppm (f) nos compostos finais (LPSF/JBs).

O intermediário LPSF/JB-1 exibiu um simpleto em 2,23 ppm contendo 6 hidrogênios, o que indica a presença de 2 metilas (a) mais desblindadas que o normal devido a sua ligação a um anel aromático. Um sinal característico desta molécula foi o simpleto contendo dois hidrogênios (CH_2) com deslocamento químico de 4,28 ppm (i), representando os hidrogênios da posição 5 da Tiazolidina. Este sinal não se repete nos compostos finais, uma vez que estes são Tiazolidinas-3,5-substituídas. Dois simpletos, referentes aos hidrogênios do anel aromático oriundo da N-alkilação, se repetem em todas as moléculas. O simpleto com um hidrogênio na posição “b” se apresentou em 6,91 ppm, enquanto aquele que continha 2 hidrogênios na posição “d” apresentou deslocamento químico de 6,85 ppm no LPSF/JB-1 e entre 6,9-7,08 ppm nos LPSF/JBs.

Após a realização da adição de Michael foi possível detectar um sinal característico do metileno ($\text{CH}=\text{C}$) com deslocamento químico na faixa de 7,8-8,2 ppm, variando de acordo com o substituinte. Também foi possível observar sinais referentes a alguns substituintes, tais como: metila (simpleto de 3H na faixa de 2,41 ppm), amina secundária aromática (simpleto de 1H na faixa de 12,32 ppm), hidroxila (simpleto de 1H na faixa de 10,34 ppm), dimetilamina (simpleto de 6H na faixa de 3,04 ppm) e metoxila (simpleto de 3H na faixa de 3,83 ppm).

Em relação aos hidrogênios do anel benzílico, estes não foram detectados em uma faixa fixa devido a influência dos diferentes substituintes. Aquelas moléculas com substituintes na posição 4 do anel benzílico em geral apresentaram dois dupletos com 2 hidrogênios cada, variando a faixa de deslocamento químico de 7,11-7,98 ppm. A molécula que tem a nitrila como substituinte tem esses hidrogênios mais desblindados devido ao efeito fortemente retirador de elétrons que ela exerce por efeito indutivo (I^-) e mesomérico (M^-), o que desativa o anel. Já os compostos com substituintes nas posições 2 ou 2 e 6 do anel apresentaram dupletos e tripletos (ou multipletos) característicos destas moléculas, se apresentando na faixa de 7,26-7,86 ppm.

Figura 8 Estruturas de ressonância da Benzonitrila, demonstrando o motivo do grupamento Nitrila ser considerado um forte grupo retirador de elétrons.



5.1.3.2 Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN^{13}C)

A faixa de deslocamento químico do RMN^{13}C é um pouco diferente da faixa utilizada pelo RMN^1H , variando de 0-200 ppm. Mas assim como no RMN^1H , geralmente aqueles átomos que não apresentam insaturações se mantêm abaixo da metade desta faixa, neste caso, abaixo de 100 ppm. O CH_2 ligado ao Nitrogênio da tiazolidina se apresentou na faixa de 44-45 ppm (f) e se repetiu em todas as moléculas.

Em relação ao LPSF/JB-1 foi possível detectar o sinal característico das metilas (CH_3) (a) na faixa de 20,21 ppm e o sinal característico desta molécula referente ao CH_2 da posição 5 ainda não substituído, que se apresentou na faixa de 33,99 ppm (i). Além disso, foi possível verificar as carbonilas das amidas da Tiazolidina que se apresentaram na faixa de 171,90 ppm (g) e 172,29 ppm (h), demonstrando-se mais blindadas nos compostos finais, onde aparecem próximas de 166 ppm (g) e 167 ppm (h).

No que diz respeito aos compostos finais, o CH (j) de alceno característico das moléculas não apresentou uma faixa de deslocamento químico fixa, variando de 129-161 ppm, de acordo com o substituinte. O carbono quaternário da posição 5 da Tiazolidina (i) também apresentou uma certa variação, ficando entre 120-151 ppm.

Alguns substituintes também foram identificados através desta técnica, tais como: metila (21,54 ppm), dimetilamina (39,97 ppm), metoxila (55,50 ppm), trifluorometoxila (122,55 ppm), nitrila (118,33 ppm) e o indol, que possui oito tipos de carbonos.

5.1.3.3 Espectrofotometria de Infravermelho (IV)

A identificação de grupos funcionais específicos de certas moléculas é de grande importância para ajudar na comprovação da sua estrutura química, e uma técnica que desempenha um papel fundamental nesta área é a Espectrofotometria de Infravermelho (IV). Através dela é possível identificar padrões de absorção que apenas alguns grupos químicos apresentam, bem como a intensidade das suas bandas.

Desta forma foi possível identificar algumas bandas características dos derivados tiazolidínicos, sendo algumas delas específicas de uma única molécula devido ao seu substituinte. As carbonilas do anel tiazolidínico, por exemplo, estão presentes em todos os compostos sintetizados apresentando deformação axial na região de 1750-1700 cm^{-1} , uma região característica de ligação C=O de lactamas de cinco átomos, correspondendo a carbonila da posição 2. As bandas próximas de 1690 são correspondentes a carbonila da posição 4, ligada a um enxofre. Outra banda bastante presente é a das metilas, que apesar de poder apresentar deformação tanto axial quanto angular simétrica ou assimétrica, a banda de deformação angular simétrica foi mais evidente, se apresentando próximo de 1375 cm^{-1} (SILVERSTEIN, 2010).

A banda dos metilenos apareceu em alguns espectros, sendo sobreposta por bandas mais fortes em outros, absorvendo na região próxima a 1465 cm^{-1} . Da mesma forma, alguns espectros apresentaram duas bandas entre 1600-1500 cm^{-1} referente a ao sistema de alcenos conjugados (SILVERSTEIN, 2010). Já a ligação C-N, referente a N-alkilação da Tiazolidina, foi observada em todos os espectros absorvendo entre 1250-1020 cm^{-1} , enquanto que as bandas características de CH de aromáticos absorveram na região de 900-650 cm^{-1} (deformação angular fora do plano) e de 3100-3000 cm^{-1} (deformação axial) (SILVERSTEIN, 2010). As bandas de deformação angular fora do plano são de grande importância, pois através delas podemos saber o tipo de substituição do anel. Aqueles compostos que apresentaram bandas próximas de 690, 780 e 880 cm^{-1} eram *meta*-substituídos; já aqueles com bandas próximas de 750 cm^{-1} ou entre 800-850 cm^{-1} eram *orto* ou *para*-substituídos, respectivamente (PAVIA, 2012).

Algumas moléculas apresentaram bandas específicas, tais como: a nitrila aromática (LPSF/JB-9), que absorve na região de 2240-2222 cm^{-1} ; o clorobenzil (LPSF/JB-4 e LPSF/JB-13), que por estar ligado a um anel aromático absorve entre 1100-1035 cm^{-1} ; o fluoreto de arila (LPSF/JB-11), já que se que trata de um anel monofluorado, absorve na região próxima de 1230 cm^{-1} ; a trifluorometoxila (LPSF/JB-7), que por apresentar três átomos de flúor ligados ao

mesmo carbono absorve fortemente na região de 1350-1120 cm^{-1} ; a hidroxila do fenol (LPSF/JB-3), absorvendo em 3550-3200 cm^{-1} ; O bromobenzil (LPSF/JB-5, LPSF/JB-12 e LPSF/JB-20), que apresenta estiramento forte entre 1075-1030 cm^{-1} ; e a amina do indol (LPSF/JB-8 e LPSF/JB-20), que absorve na região de 3500-3220 cm^{-1} (SILVERSTEIN, 2010; PAVIA, 2012). Contudo, mesmo sendo possível verificar bandas referentes aos haletos de arila através desta técnica, ainda se faz necessário lançar mão da espectroscopia de massas para confirmação desses dados, uma vez que outros sinais podem aparecer nas mesmas regiões.

5.1.3.4 Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (GC-MS)

A Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (GC-MS) é uma técnica bastante útil na identificação do grau de pureza dos compostos sintetizados e, principalmente, na comprovação dos seus respectivos pesos moleculares. Além disso, pode-se identificar alguns elementos que compõe essas moléculas correlacionando a presença e a intensidade dos picos dos isótopos com a sua disponibilidade relativa no meio ambiente.

Desta forma, foi possível identificar a Massa Molecular (MM) de todos os compostos sintetizados, com exceção do LPSF/JB-3 e LPSF/JB-20, que por exibir pontos de ebulição (P.E) muito altos não conseguiram entrar na fase gasosa e, conseqüentemente, serem detectados pelo equipamento. Todos os compostos atingiram um grau de pureza satisfatório (>95%), estando a maioria deles com 100% de pureza (tabela 5). Em decorrência do problema com a análise do LPSF/JB-3 e LPSF/JB-20, a pureza destes compostos foi verificada através da técnica de CLAE.

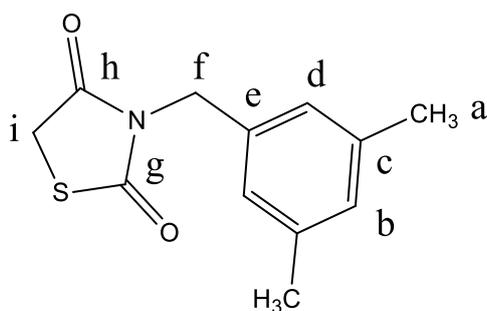
Em relação aos compostos bromados ou clorados foi possível identificar tais elementos na sua estrutura química devido à presença dos picos referentes aos isótopos ^{81}Br e ^{37}Cl , que dispõe de 98% e 32,5%, respectivamente, de abundância relativa e por isso seus picos se apresentaram proporcionais a essas porcentagens.

Uma vez que foi utilizada a técnica de Impacto de Elétrons como método de ionização das moléculas, foi possível avaliar seus respectivos padrões de fragmentação. Os principais picos identificados foram oriundos da formação do íon tropílio dimetil-substituído (mais estável) e do íon tropílio tradicional. Além destes, picos referentes ao íon formado pela

clivagem α e β das ligações do enxofre da tiazolidina também exibiram picos de intensidade considerável, chegando a se apresentar como pico base em alguns espectros.

5.1.3.5 Caracterização Estrutural Individual

3-(3,5-dimetilbenzil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-1)



FM: C₁₂H₁₃NO₂S

MM: 235,3g/mol

PF: 106,8 °C

Rdt: 60%

Rf: 0,73 (n-Hexano/AcOet 7:3)

Cor: Branca

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): δ 2,23 (s, 6H, -CH₃) (a), 4,27 (s, 2H, -CH₂) (i), 4,58 (s, 2H, -CH₂) (f), 6,85 (s, 2H, ArH) (d), 6,91 (s, 1H, ArH) (b).

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): δ 20,83 (CH₃) (a), 33,99 (CH₂) (i), 44,23 (CH₂) (f), 125,29 (CH) (d), 129,06 (CH) (b), 135,47 (C₄, Ar) (c), 137,57 (C₄, Ar) (e), 171,90 (C₄, C=O) (g), 172,29 (C₄, C=O) (h).

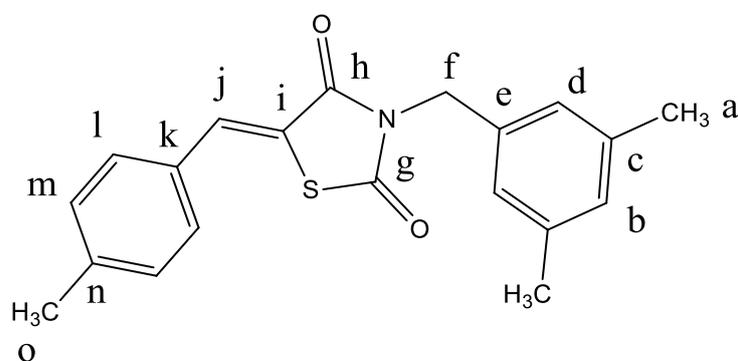
IV

IV (KBr, cm⁻¹): 1751 (C(=O)-N), 1683 (C(=O)-S), 1467 (CH₂), 1377 (CH₃), 1221 (C-N), 1147 (N-C(=O)-S), 852, 789, 663 (*m*-CH-Ar Angular).

GC-MS

GC-MS (EI, m/z): 235 (M^+), 160 (100%), 132 (30,6%), 119 (48,6%), 91 (25%).

3-(3,5-dimetilbenzil)-5-(4-metilbenzilideno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-2)



FM: $C_{20}H_{19}NO_2S$

MM: 337,44g/mol

PF: 175,6 °C

Rdt: 70,33%

Rf: 0,88 (n-Hexano/AcOet 7:3)

Cor: Branca

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, $CDCl_3$)

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, $CDCl_3$): δ 2,30 (s, 6H, $-CH_3$), (a), 2,41 (s, 2H, $-CH_3$), (o), 4,83 (s, 2H, $-CH_2$) (f), 6,94 (s, 1H, ArH) (b), 7,05 (s, 2H, ArH) (d), 7,27 (d, 2H, $J = 7,5$ Hz, ArH) (m), 7,4 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, ArH) (l), 7,89 (s, 1H, $-CH$) (j).

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, $CDCl_3$)

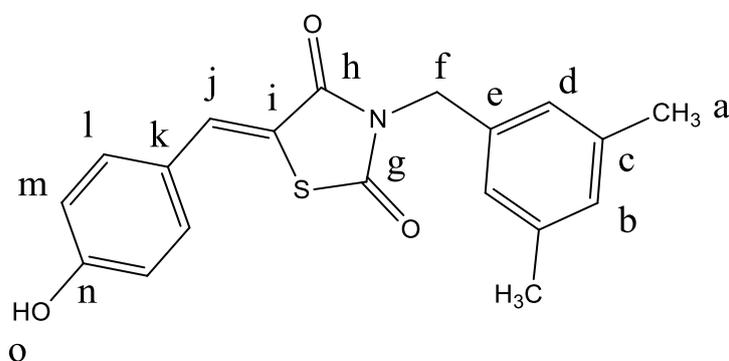
NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, $CDCl_3$): δ 21,21 (CH_3) (a), 21,54 (CH_3) (o), 44,46 (CH_2) (f), 120,28 (C_4 , $C=C$) (i), 126,50 (CH, Ar) (d), 129,83 (CH, Ar) (b), 129,93 (CH, Ar) (m), 130,26 (CH) (l), 130,49 (C_4 , Ar) (k), 134,03 (C_4 , Ar) (n), 135,01 (C_4 , Ar) (c), 138,29 (C_4 , Ar) (e), 141,23 (CH, $C=C$) (j), 166,29 (C_4 , $C=O$) (g), 167,9 (C_4 , $C=O$) (h).

IV

IV (KBr, cm^{-1}): 3013 (CH-Ar Axial), 1735 ($C(=O)N$), 1673 ($C(=O)S$), 1380 (CH_3), 1222 ($C-N$), 1150 ($N-C(=O)-S$), 860 (p-CH-Ar Angular), 814, 746, 687 (*m*-CH-Ar Angular).

GC-MS

GC-MS (EI, m/z): 337 (M⁺), 119 (100%), 148 (78%), 91 (22%).

3-(3,5-dimetilbenzil)-5-(4-hidroxibenzilideno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-3)

FM: C₁₉H₁₇NO₃S

MM: 339,41 g/mol

PF: 261,0 °C

Rdt: 51,87%

Rf: 0,61 (n-Hexano/AcOet 7:3)

Cor: Amarela

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): δ 2,22 (s, 6H, -CH₃), (a), 4,72 (s, 2H, -CH₂) (f), 6,85-6,94 (m, 5H, ArH) (b, d, m), 7,48 (dd, 2H, J= 12 Hz, j= 3Hz, ArH) (l), 7,85 (s, 1H, -CH) (j), 10,34 (s, 1H, -OH) (o).

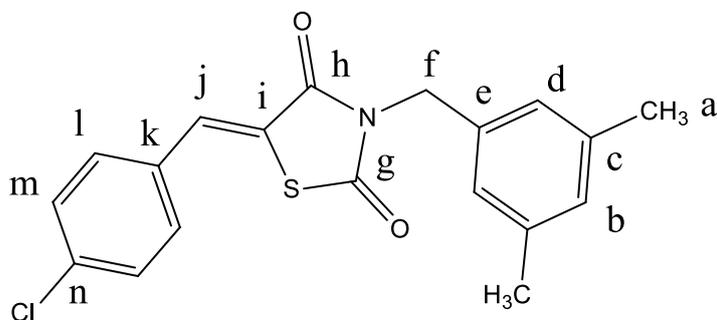
NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): δ 20,83 (CH₃) (a), 44,46 (CH₂) (f), 116,41 (CH, Ar) (m), 123,81 (C₄, C=C) (i), 125,28 (CH, Ar) (d), 129,16 (CH, Ar) (b), 132,65 (CH, Ar) (l), 133,92 (C₄, Ar) (k, n), 135,47 (C₄, Ar) (c), 137,69 (C₄, Ar) (e), 160,22 (CH, C=C) (j), 165,67 (C₄, C=O) (g), 167,40 (C₄, C=O) (h).

IV

IV (KBr, cm⁻¹): 3364 (OH-Ar), 1731 (N-C(=O)), 1666 (C(=O)-S), 1583, 1515 (CH-Ar no plano), 1381 (CH₃), 1220 (C-N), 1145 (N-C(=O)-S), 826 (*p*-CH-Ar angular), 903, 745, 696 (*m*-CH-Ar angular).

5-(4-clorobenzilideno)-3-(3,5-dimetilbenzil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-4)



FM: C₁₉H₁₆ClNO₂S

MM: 357,85g/mol

PF: 218,7 °C

Rdt: 97,9%

Rf: 0,88 (n-Hexano/AcOet 7:3)

Cor: Branca

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, CDCl₃)

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, CDCl₃): δ 2,3 (s, 6H, -CH₃) (a), 4,82 (s, 2H, -CH₂) (f), 6,93 (s, 1H, ArH) (b), 7,03 (s, 2H, ArH) (d), 7,43 (s, 4H, ArH) (l, m), 7,84 (s, 1H, -CH) (j).

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, CDCl₃)

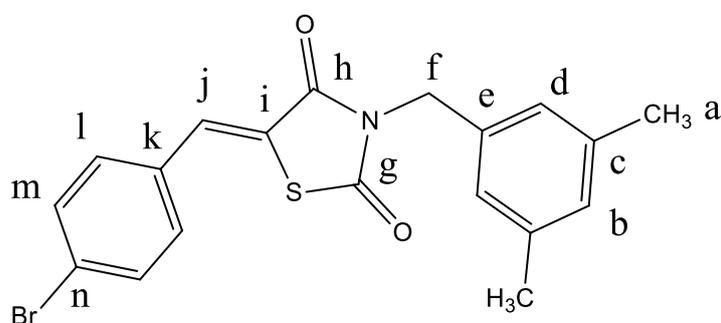
NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, CDCl₃): δ 21,21 (CH₃) (a), 45,31 (CH₂) (f), 122,16 (C₄, C=C) (i), 126,52 (CH, Ar) (d), 129,51 (CH, Ar) (b), 129,92 (CH, Ar) (l), 131,24 (CH, Ar) (m), 131,70 (C₄, Ar) (k), 132,37 (C₄, Ar) (c), 134,82 (e), 136,59 (C₄, Ar) (n), 138,33 (CH, C=C) (j), 165,98 (C₄, C=O) (g), 167,32 (C₄, C=O) (h).

IV

IV (KBr, cm⁻¹): 3015 (CH-Ar Axial), 1737 (C(=O)-N), 1675 (C(=O)-S), 1218 (C-N), 1149 (N-C(=O)-S), 1084 (Cl-Ar), 833 (*p*-CH-Ar angular), 856, 744, 687 (*m*-CH-Ar angular).

GC-MS

GC-MS (EI, m/z): 357 (M⁺), 119 (100%), 359 (8%), 170 (10%), 168 (28%), 91 (12%).

5-(4-bromobenzilideno)-3-(3,5-dimetilbenzil)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-5)

FM: C₁₉H₁₆BrNO₂S

MM: 402,3g/mol

PF: 219,2°C

Rdt: 76,9%

Rf: 0,88 (n-Hexano/AcOet 7:3)

Cor: Branca

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, CDCl₃)

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, CDCl₃): δ 2,3 (s, 6H, -CH₃) (a), 4,83 (s, 2H, -CH₂) (f), 6,94 (s, 1H, ArH) (b), 7,04 (s, 2H, ArH) (d), 7,35 (d, 2H, J= 9Hz, ArH) (l), 7,6 (d, 2H, J= 9Hz, ArH) (m), 7,83 (s, 1H, -CH) (j).

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, CDCl₃)

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, CDCl₃): δ 21,21 (CH₃) (a), 45,22 (CH₂) (f), 122,33 (C₄, C=C) (i), 125,01 (C₄, Ar) (n), 126,53 (CH, Ar) (d), 129,92 (CH, Ar) (b), 131,38 (CH, Ar) (l), 132,11 (C₄, Ar) (c), 132,43 (C₄, Ar) (k), 132,48 (m), 134, 81 (C₄, Ar) (e), 138,33 (CH, C=C) (j), 165,97 (C₄, C=O) (g), 167,27 (C₄, C=O) (h).

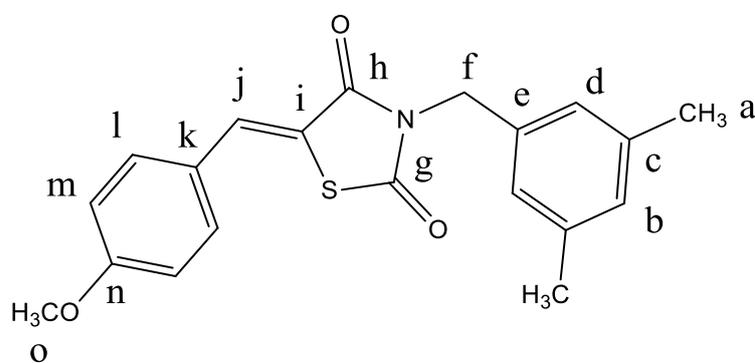
IV

IV (KBr, cm⁻¹): 3015 (CH-Ar axial), 1737 (C(=O)-N), 1675 (C(=O)-S), 1486 (CH₂), 1378 (CH₃), 1220 (C-N), 1073 (Br-Ar), 831 (*p*-CH-Ar Angular), 854, 744, 686(*m*-CH-Ar Angular).

GC-MS

GC-MS (EI, m/z): 403 (M^+), 119 (100%), 401 (15%), 214 (17%), 212 (17%), 91, (11%), 89 (11%).

3-(3,5-dimetilbenzil)-5-(4-metoxibenzilideno)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-6)



FM: $C_{20}H_{19}NO_3S$

MM: 353,43g/mol

PF: 145,8°C

Rdt: 64,4%

Rf: 0,77 (n-Hexano/AcOet 7:3)

Cor: Amarela

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): δ 2,24 (s, 6H, -CH₃) (a), 3,83 (s, 3H, -OCH₃) (o), 4,74 (s, 2H, -CH₂) (f), 6,9 (s, 2H, ArH) (d), 6,92 (s, 1H, ArH) (b), 7,11 (d), 2H, J= 9 Hz, ArH) (m), 7,6 (d, 2H, J= 8,7 Hz, ArH) (l), 7,93 (s, 1H, -CH) (j).

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

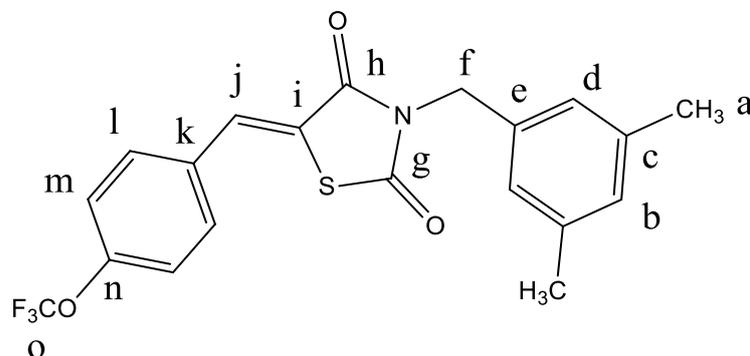
NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): δ 20,83 (CH₃) (a), 44,51 (CH₂) (f), 55,50 (OCH₃) (o), 114,99 (CH, Ar) (m), 117,78 (C₄, Ar) (k), 125,27 (C₄, C=C) (i), 125,38 (CH, Ar) (d), 129,18 (CH, Ar) (b), 132,32 (C₄, Ar) (c), 133,46 (CH, Ar) (l), 135,42 (C₄, Ar) (e) 137,7 (C₄, Ar) (n), 161,23 (CH, C=C) (j), 165,61 (C₄, C=O) (g), 167,33 (C₄, C=O) (h).

IV

IV (KBr, cm⁻¹): 3005 (CH-Ar Axial), 1735 (C(=O)-N), 1675 (C-(=O)-S), 1373 (CH₃), 830 (*p*-CH-Ar), 749, 682 (*m*-CH-Ar).

GC-MS

GC-MS (EI, m/z): 353 (M^+), 164 (100%), 149 (34%), 119 (99%), 91 (18%).

3-(3,5-dimetilbenzil)-5-(4-(trifluorometoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-7)

FM: $C_{20}H_{16}N_2O_2S$

MM: 407,41g/mol

PF: 185,3°C

Rdt: 76,4%

Rf: 0,93 (n-Hexano/AcOet 7:3)

Cor: Branca

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, $CDCl_3$)

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, $CDCl_3$): δ 2,3 (s, 6H, $-CH_3$) (a), 4,83 (s, 2H, $-CH_2$) (f), 6,59 (s, 1H, ArH) (b), 7,03 (s, 2H, ArH) (d), 7,3 (d, 2H, J= 9 Hz, ArH) (m), 7,52 (d, 2H, J= 9 Hz, ArH) (l), 7,87 (s, 1H, $-CH$) (j).

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, $CDCl_3$)

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, $CDCl_3$): δ 21,22 (CH_3) (a), 45,36 (CH_2) (f), 118,59 (CH, ArH) (m), 121,29 (C_4 , $C=C$) (i), 122,55 (C_4 , OCF_3) (o), 126,56 (CH, Ar) (d), 129,97 (CH, Ar) (b), 131,67 (C_4 , Ar) (c), 131,76 (CH, Ar) (l), 132,03 (C_4 , Ar) (k), 134,081 (C_4 , Ar) (e), 138,38 (C_4 , Ar) (n), 150,27 (CH, $C=C$) (j), 165,97 (C_4 , $C=O$) (g), 167,29 (C_4 , $C=O$) (h).

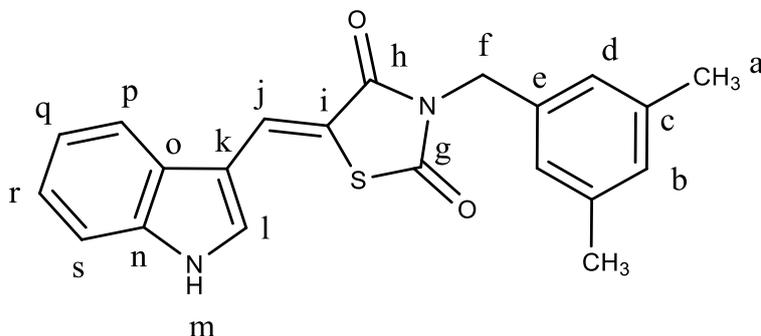
IV

IV (KBr, cm^{-1}): 3016 (CH-Ar Axial), 1737 ($C(=O)-N$), 1674 ($C(=O)-S$), 1380 (CH_3), 1272 (CF_3), 1148 ($N-C(=O)-S$), 829 (*p*-CH-Ar Angular), 859, 747, 686 (*m*-CH-Ar Angular).

GC-MS

GC-MS (EI, m/z): 407 (M^+), 119 (100%), 218 (29%), 91 (12%).

5-((1H-indol-3-il)metileno)-3-(3,5-dimetilbenzil)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-8)



FM: C₂₁H₁₈F₃NO₃S

MM: 362,44g/mol

PF: 259,0°C

Rdt: 23,37%

Rf: 0,70 (n-Hexano/AcOet 7:3)

Cor: Amarela

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): δ 2,23 (s, 6H, -CH₃) (a), 4,74 (s, 2H, CH₂) (f), 6,91 (s, 3H, ArH) (b, d), 7,17 - 7,28 (m, 2H, ArH) (q, r), 7,51 (d, 1H, J= 7,5 Hz, ArH) (s), 7,81 (s, 1H, ArH) (l), 7,91 (d, 1H, J= 7,2 Hz, ArH) (o), 8,21 (s, 1H, -CH) (j), 12,21 (s, 1H, -NH) (m).

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): δ 20,83 (CH₃) (a), 40,41 (CH₂) (f), 110,43 (C₄, Ar) (n), 112,44 (CH, Ar) (l), 113,44 (C₄, Ar) (o), 118,39 (CH, Ar) (q), 121,18 (CH, Ar) (r), 123,15 (CH, Ar) (p), 125,30 (CH, Ar) (d), 126,14 (CH, Ar) (s), 126,79 (C₄, C=C) (i), 129,12 (CH, C=C) (j), 129,16 (CH, Ar) (b), 135,69 (C₄, Ar) (c), 136,23 (C₄, Ar) (k), 137,68 (C₄, Ar) (e), 165,40 (C₄, C=O) (g), 167,20 (C₄, C=O) (h).

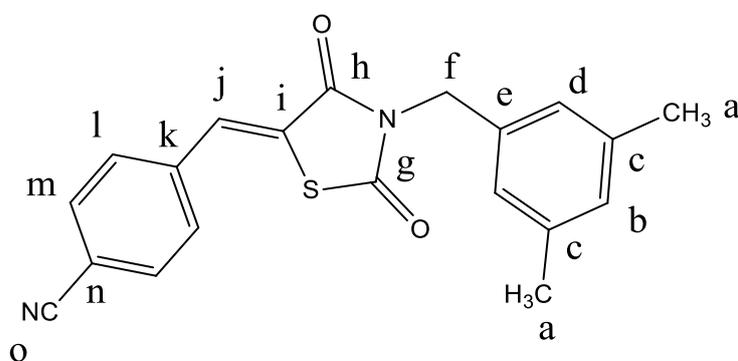
IV

IV (KBr, cm⁻¹): 3314 (NH), 3003 (CH-Ar Axial), 1722 (C(=O)-N), 1655 (C(=O)-S), 1379 (CH₃), 1144 (N-C(=O)-S), 820 (*p*-CH-Ar Angular), 846, 741, 665 (*m*-CH-Ar Angular).

GC-MS

GC-MS (EI, m/z): 362 (M^+), 173 (100%), 129 (19%), 119 (48%), 91 (17%).

4-((3-(3,5-dimetilbenzil)-2,4-dioxotiazolidina-5-ilideno)metil)benzonitrila (LPSE/JB-9)



FM: $C_{20}H_{16}N_2O_2S$

MM: 348,42g/mol

PF: 202,6°C

Rdt: 89,19%

Rf: 0,9 (n-Hexano/AcOet 7:3)

Cor: Branca

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): δ 2,23 (s, 6H, -CH₃) (a), 4,75 (s, 2H, -CH₂) (f), 6,91 (s, 2H, ArH) (d), 6,92 (s, 1H, ArH) (b), 7,80 (d, 2H, J= 9Hz, ArH) (l), 7,98 (s, 1H, -CH) (j), 8,01 (d, 2H, J= 3 Hz, ArH) (m).

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, DMSO-d₆): δ 20,84 (CH₃) (a), 44,79 (CH₂) (f), 112,28 (C₄, Ar) (n), 118,33 (C₄, C≡N) (o), 124,85 (C₄, C=C) (i), 125,32 (CH, Ar) (d), 129,24 (CH, Ar) (b), 130,53 (CH, Ar) (l), 131,25 (CH, Ar) (m), 133,06 (CH, C=C) (j), 135,15 (C₄, Ar) (c), 137,38 (C₄, Ar) (k), 137,74 (C₄, Ar) (e), 165,28 (C₄, C=O) (g), 166,86 (C₄, C=O) (h).

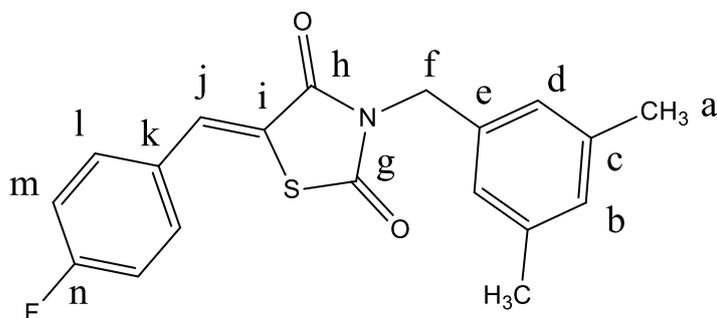
IV

IV (KBr, cm⁻¹): 3017 (CH-Ar Axial), 2232 (C≡N), 1740 (C(=O)-N), 1678 (C(=O)-S), 1343 (CH₃), 1149 (N-C(=O)-S), 828 (*p*-CH-Ar Angular), 859, 747, 687 (*m*-CH-Ar Angular).

GC-MS

GC-MS (EI, m/z): 348 (M^+), 119 (100%), 159 (24%), 91 (15%).

3-(3,5-dimetilbenzil)-5-(4-fluorobenzilideno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-11)



FM: $C_{19}H_{16}FNO_2S$

MM: 341,40g/mol

PF: 198,1°C

Rdt: 66,75%

Rf: 0,91 (n-Hexano/AcOet 7:3)

Cor: Amarela

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, $CDCl_3$)

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, $CDCl_3$): δ 2,3 (s, 6H, $-CH_3$) (a), 4,82 (s, 2H, $-CH_2$) (f), 6,93 (s, 1H, ArH) (b), 7,03 (s, 2H, ArH) (d), 7,47-7,51 (m, 2H, ArH) (m), 7,13-7,19 (m, 2H, ArH) (l), 7,86 (s, 1H, $-CH$) (j).

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, $CDCl_3$)

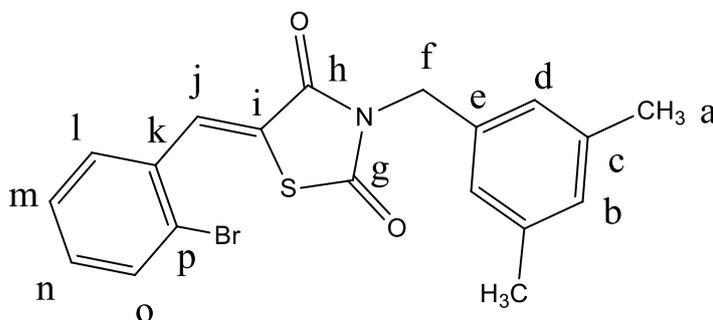
NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, $CDCl_3$): δ 21,21 (CH_3) (a), 45,24 (CH_2) (f), 126,53 (CH , Ar) (d), 138,33 (C_4 , Ar) (e), 161,94 (CH , $C=C$) (j), 165,29 (C_4 , Ar) (n), 166,08 (C_4 , $C=$) (g), 167,50 (C_4 , $C=O$) (h).

IV

IV (KBr, cm^{-1}): 3016 (CH -Ar Axial), 1736 ($C(=O)$ -N), 1679 ($C(=O)$ -S), 1379 (CH_3), 1290 (F-Ar), 1149 (N- $C(=O)$ -S), 833 (p -CH-Ar Angular), 862, 740, 687 (m -CH-Ar Angular).

GC-MS

GC-MS (EI, m/z): 341 (M^+), 119 (100%), 152 (47%), 91 (13%).

5-(2-bromobenzilideno)-3-(3,5-dimetilbenzil)thiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-12)

FM: $C_{19}H_{16}BrNO_2S$

MM: 402,30g/mol

PF: 118,4°C

Rdt: 48,06%

Rf: 0,87 (n-Hexano/AcOet 7:3)

Cor: Branca

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, $CDCl_3$)

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, $CDCl_3$): δ 2,3 (s, 6H, $-CH_3$) (a), 4,83 (s, 2H, $-CH_2$) (f), 6,95 (s, 1H, ArH) (b), 7,05 (s, 2H, ArH) (d), 7,26 (t, 1H, $J=15,3$ Hz, $j=7,5$ Hz, ArH) (n), 7,40 (t, 1H, $J=15,3$ Hz, $j=8,4$ Hz, ArH) (m), 7,5 (d, 1H, $J=8,1$ Hz, ArH) (l), 7,67 (d, 1H, $J=8,1$ Hz, ArH) (o), 8,18 (s, 1H, $-CH$) (j).

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, $CDCl_3$)

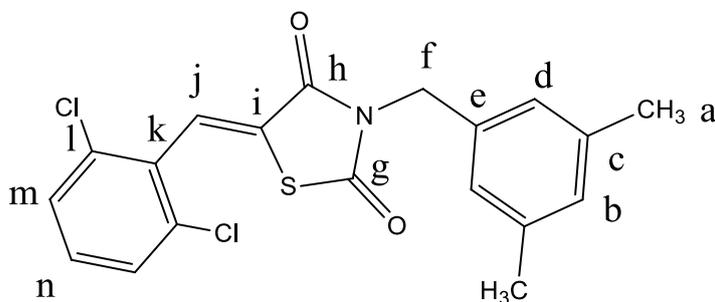
NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, $CDCl_3$): δ 21,21 (CH_3) (a), 45,44 (CH_2) (f), 124,64 (CH , Ar) (n), 126,23 (C_4 , $C=C$) (i), 126,65 (CH , Ar) (d), 127,83 (CH , Ar) (l), 129,00 (C_4 , Ar) (p), 129,95 (CH , Ar) (b), 131,39 (CH , Ar) (m), 132,65 (CH , Ar) (o), 133,51 (C_4 , Ar) (k), 133,70 (C_4 , Ar) (c), 134,79 (C_4 , Ar) (e), 138,35 (CH , $C=C$) (j), 165,54 (C_4 , $C=O$) (g), 167,56 (C_4 , $C=O$) (h).

IV

IV (KBr, cm^{-1}): 3033 (CH -Ar Axial), 1738 ($C(=O)$ -N), 1691 ($C(=O)$ -S), 1376 (CH_3), 1146 ($N-C(=O)$ -S), 1066 (Br-Ar), 755 (o -CH-Ar Angular), 855, 713, 656 (m -CH-Ar Angular).

GC-MS

GC-MS (EI, m/z): 403 (M⁺), 119 (100%), 401 (9%), 322 (30%), 214 (10%), 212 (10%).

5-(2,6-diclorobenzilideno)-3-(3,5-dimetilbenzil)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-13)

FM: C₁₉H₁₅Cl₂NO₂S

MM: 392,30g/mol

PF: 152,6°C

Rdt: 65,78%

Rf: 0,91 (n-Hexano/AcOet 7:3)

Cor: Branca

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, CDCl₃)

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, CDCl₃): δ 2,32 (s, 6H, -CH₃) (a), 4,81 (s, 2H, -CH₂) (f), 6,96 (s, 1H, ArH) (b), 7,08 (s, 2H, ArH) (d), 7,25-7,30 (m, 1H, ArH) (n), 7,37 (d, 2H, J= 7,8 Hz, ArH) (m), 7,86 (s, 1H, -CH) (j).

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, CDCl₃)

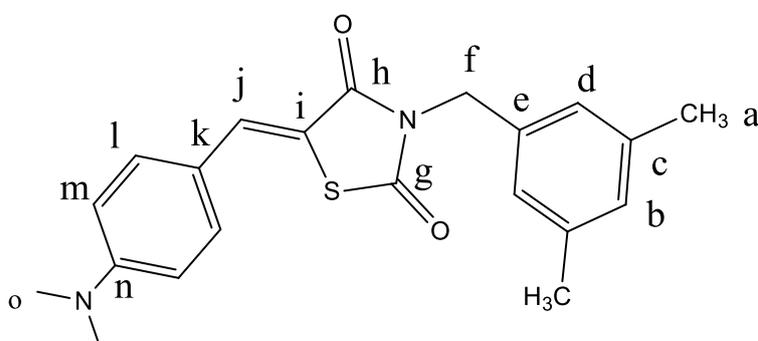
NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, CDCl₃): δ 21,22 (CH₃) (a), 45,44 (CH₂) (f), 126,85 (CH, Ar) (d), 128,43 (C₄, C=C) (i), 129,21 (CH, Ar) (b), 130,01 (CH, Ar) (n), 130,44 (C₄, Ar) (l), 130,82 (C₄, Ar) (k), 131,59 (CH, Ar) (m), 134,16 (C₄, Ar) (c), 134,76 (C₄, Ar) (e), 138,41 (CH, Ar) (j), 164,74 (C₄, C=O) (g), 167,29 (C₄, C=O) (h).

IV

IV (KBr, cm⁻¹): 3025 (CH-Ar Axial), 1751 (C(=O)-N), 1698 (C(=O)-S), 1375 (CH₃), 1197 (C-N), 1148 (N-C(=O)-S), 1082 (Cl-Ar), 740 (*o*-CH-Ar Angular) 869, 774, 705 (*m*-CH-Ar Angular).

GC-MS

GC-MS (EI, m/z): 391 (M^+), 119 (100%), 356 (22%), 202 (10%), 91 (13%).

5-(4-(dimetilamino)benzilideno)-3-(3,5-dimetilbenzil)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-14)

FM: $C_{21}H_{22}N_2O_2S$

MM: 366,48g/mol

PF: 179,4°C

Rdt: 31,62%

Rf: 0,8 (n-Hexano/AcOet 7:3)

Cor: Laranja

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, $CDCl_3$)

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, $CDCl_3$): δ 2,23 (s, 6H, $-CH_3$) (a), 3,31 (s, 6H, $-N(CH_3)_2$) (o), 4,73 (s, 2H, $-CH_2$) (f), 6,82 (d, 2H, ArH, $J=9$ Hz) (l), 6,88 (s, 2H, ArH) (d), 6,92 (s, 1H, ArH) (b), 7,47 (d, 2H, ArH, $J=8,8$ Hz) (m), 7,83 (s, 1H, ArH) (j).

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, $CDCl_3$)

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, $CDCl_3$): δ 21,21 (CH_3) (a), 39,97 (CH_3) (o), 44,95 (CH_2) (f), 111,89 (CH, Ar) (d), 114,42 (C4, Ar) (n), 120,71 (C4, Ar) (c), 126,44 (CH, Ar) (m), 129,66 (CH, Ar) (b), 132,48 (CH, Ar) (l), 134,86 (CH, C=C) (j), 135,37 (C4, Ar) (k), 138,19 (C4, Ar) (e), 151,56 (C4, Ar) (I), 166,64 (C4, C=O) (g), 168,42 (C4, C=O) (h).

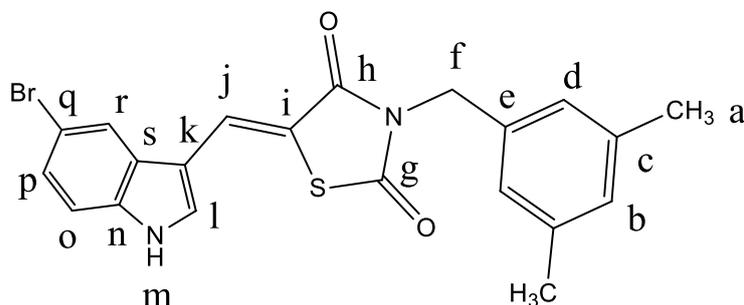
IV

IV (KBr, cm^{-1}): 1721 (C(=O)-N), 1675 (C(=O)-S), 1587, 1521 (CH-Ar no plano), 1375 (CH_3), 1332 (C-N), 1130 (N-C(=O)-S), 808 (*p*-CH-Ar Angular)

GC-MS

GC-MS (EI, m/z): 366 (M^+), 177 (100%), 164 (18%), 118 (14%), 91 (8%).

5-((5-bromo-1H-indol-3-il)metileno)-3-(3,5-dimetilbenzil)tiiazolidina-2,4-diona
(LPSE/JB-20)



FM: $C_{21}H_{17}BrN_2O_2S$

MM: 441,34g/mol

PF: 240°C

Rdt: 30,9%

Rf: 0,5 (n-Hexano/AcOet 7:3)

Cor: Amarela

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

NMR¹H (300 MHz, δ ppm, CDCl₃): δ 2,33 (s, 6H, CH₃) (a), 4,74 (s, 2H, ArH) (f), 6,90 (s, 3H, ArH) (b,d), 7,38 (d, 1H, ArH, J = 9Hz) (o), 7,47 (d, 1H, ArH, J = 9Hz), 7,84 (s, 1H, CH=C) (j), 8,19 (s, 1H, ArH) (r), 8,22 (s, 1H, ArH) (l), 12,32 (s, 1H, NH) (m).

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, DMSO-d₆)

NMR¹³C (75 MHz, δ ppm, CDCl₃): δ 20,84 (CH₃) (a), 44,41 (CH₂) (f), 110,13 (C₄, Ar) (e), 113,87 (CH, Ar) (l), 114,30 (C₄, Ar) (c), 114,38 (C₄, Ar) (k), 121,20 (CH,Ar) (b), 125,20 (CH, Ar) (d), 125,70 (CH, Ar) (r), 125,88 (CH, Ar) (p), 128,33 (C₄, C=C) (i) 129, 12 (CH, Ar) (s), 130,15 (CH, C=C) (j), 134,96 (C₄, Ar) (o), 135,65 (C₄, Ar) (n), 137,67 (C₄, Ar) (q), 165,28 (C₄, C=O) (g), 167,95 (C₄, C=O) (h).

IV

IV (KBr, cm⁻¹): 3363 (NH-Ar), 1751 (C(=O)-N), 1661 (C(=O)-S), 1603 (C=C), 1371 (CH₃), 1149 (N-C(=O)-S), 1061 (Br-Ar), 882, 795, 697 (*m*-CH-Ar Angular).

5.2 ENSAIOS BIOLÓGICOS

5.2.1 Ensaio de toxicidade

Os LPSF/JBs tiveram sua toxicidade avaliada por meio do ensaio de MTT ($n = 3$), sendo considerados tóxicos aqueles com viabilidade abaixo de 75%. Os LPSF/JB-2, 4, 5 e 7, mesmo apresentando viabilidade próximo de 100% nas doses testadas, não seguiram para os testes posteriores devido a sua baixa solubilidade em DMSO, sendo esta a causa provável da sua baixa toxicidade. Dos compostos restantes, apenas o LPSF/JB-13 se mostrou levemente tóxico, com viabilidade média de $72,23\% \pm 4,11$ e $74,54\% \pm 8,75$ para as respectivas doses de $10\mu\text{M}$ e $75\mu\text{M}$ (Figura 8). Mas ainda que a sua viabilidade tenha ficado abaixo do aceitável, o LPSF/JB-13 passou para os próximos testes, uma vez que considerando seu desvio padrão ele não ultrapassa o ponto de corte. Além dele, passaram para os testes de dosagem de citocinas o LPSF/JB-6 ($10\mu\text{M}$: $93,62\% \pm 11,04$; $75\mu\text{M}$: $95,56\% \pm 7,7$), LPSF/JB-9 ($10\mu\text{M}$: $96,32\% \pm 3,83$; $75\mu\text{M}$: $99,73\% \pm 0,46$), LPSF/JB-11 ($10\mu\text{M}$: $92,77\% \pm 8,34$; $75\mu\text{M}$: $93,15\% \pm 6,32$) e LPSF/JB-12 ($10\mu\text{M}$: $95,48\% \pm 7,83$; $75\mu\text{M}$: $97,82\% \pm 1,94$). Apesar dos compostos LPSF/JB-3 ($10\mu\text{M}$: $98,17\% \pm 0,81$; $75\mu\text{M}$: $99,53\% \pm 1,86$), LPSF/JB-8 ($10\mu\text{M}$: $100\% \pm 0$; $75\mu\text{M}$: $100\% \pm 0$), LPSF/JB-14 ($10\mu\text{M}$: $91,12\% \pm 4,25$; $75\mu\text{M}$: $93,87\% \pm 9,41$) e LPSF/JB-20 ($10\mu\text{M}$: $75,57\% \pm 7,67$; $75\mu\text{M}$: $78,50\% \pm 12,21$) não terem apresentado citotoxicidade significativa, tais moléculas não passaram para os testes seguintes devido ao baixo rendimento (Tabela 2) em decorrência da interferência causada por hidrogênios lábeis ou, no caso das aminas, por pares de elétrons disponíveis, o que aumenta consideravelmente o custo de produção. Com a otimização do processo de síntese, estes compostos também terão sua atividade imunomoduladora avaliada.

Tabela 3 Viabilidade celular de PBMCs de voluntários sadios ($n=3$) após exposição aos derivados Tiazolidínicos LPSF/JBs na dose de $10\mu\text{M}$ e $75\mu\text{M}$.

Código do Composto	Viabilidade (%)	
	$10\mu\text{M}$	$75\mu\text{M}$
JB-2	100 ± 0	$99,10 \pm 1,54$
JB-3	$98,17 \pm 1,86$	$99,53 \pm 0,8$
JB-4	100 ± 0	100 ± 0
JB-5	100 ± 0	100 ± 0

JB-6	93,62 ± 11,04	95,54 ± 7,70
JB-7	98,42 ± 2,72	98,04 ± 1,72
JB-8	100 ± 0	100 ± 0
JB-9	96,34 ± 3,8	99,73 ± 0,46
JB-11	92,11 ± 8,34	93,15 ± 6,32
JB-12	98,48 ± 7,82	97,82 ± 1,94
JB-13	72,23 ± 4,11	74,54 ± 8,74
JB-14	91,12 ± 4,25	93,87 ± 9,41
JB-20	95,57 ± 7,67	78,50 ± 12,21

5.2.1 Secreção de citocinas

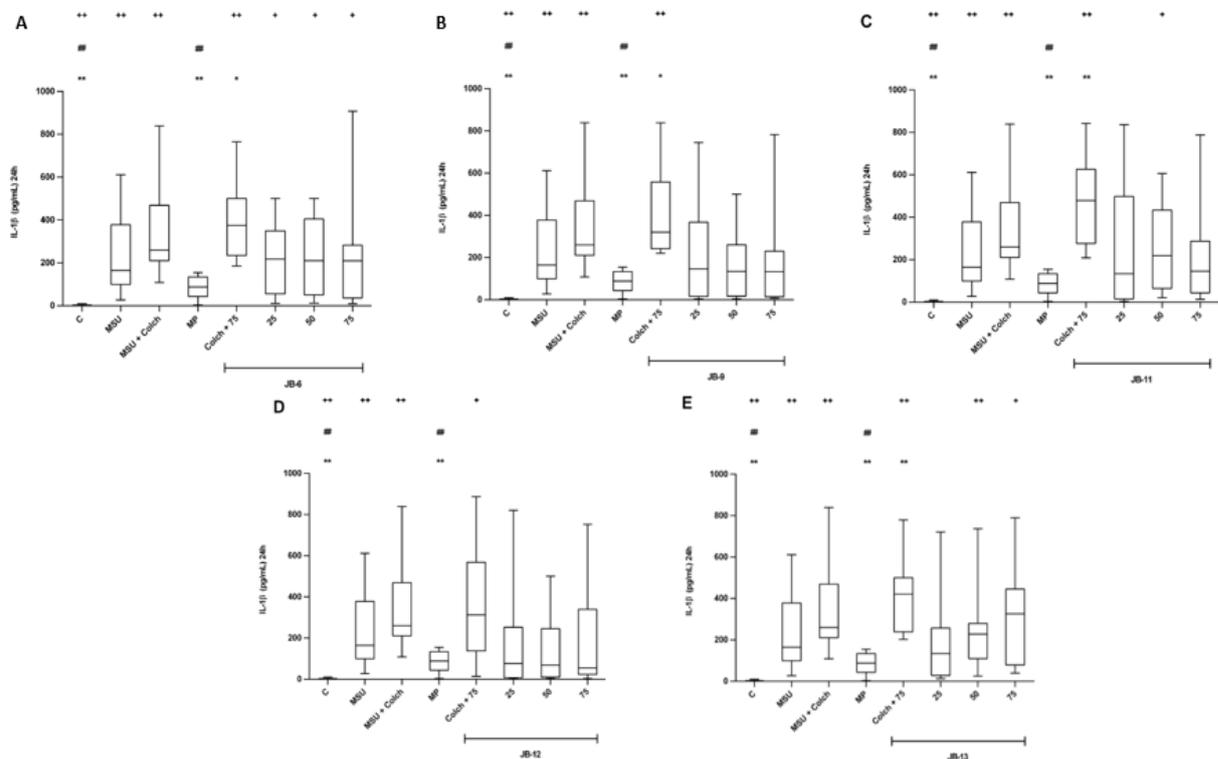
As PBMCs de pacientes (P) e voluntários sadios (V) foram cultivadas e submetidas ao tratamento com LPSF/JBs nas doses de 25µM, 50µM e 75µM, utilizando como estímulo os cristais de monourato de sódio (MSU) e como controle positivo Colchicina (Colch) (2,5µM) e Metilpredinisolona (MP) (100µM). Também foi avaliada a possibilidade de tratamento combinado utilizando Colchicina e LPSF/JBs nas concentrações de 2,5µM e 75µM, respectivamente. As células tiveram seu sobrenadante coletado para dosagem das citocinas IL-1β e IL-6 pela técnica de ELISA. Para análise estatística foi utilizado o teste de Wilcoxon, sendo considerados significantes os grupos que apresentaram $p < 0,05$.

Em relação a dosagem de IL-1β de pacientes, o grupo de células estimuladas com MSU (C + MSU) (P = 17,28 pg/mL; V = 40,74 pg/mL) mostrou diferença significativa quando comparado com o grupo não tratado (C) ($p = 0,0313$; P = 3,9060 pg/mL; V = 3,9060 pg/mL). Ainda assim, a expressão da citocina pelo grupo C + MSU foi baixa e quando comparado com os grupos tratados fez com que aqueles que exibiram maior secreção de IL-1β fossem os de maior significância. (Figura 9).

Contudo, a colchicina (controle positivo) atuou como estímulo inflamatório, induzindo maior expressão de IL-1β pelas células (MSU + Colch) (259,7 pg/mL). Com isso, os grupos tratados foram comparados com MSU + Colch, onde aqueles que exibiram menor secreção da citocina apresentaram maior significância, com destaque para Metilpredinisolona ($p = 0,0078$; P = 21,64 pg/mL; V = 77,18 pg/mL) e para o composto LPSF/JB-12 nas doses de 25µM ($p =$

0,0078; P = 71,1 pg/mL; V = 10,81 pg/mL), 50 μ M (p = 0,0078; P = 62,27 pg/mL; V = 3,9060 pg/mL) e 75 μ M (p = 0,0078; P = 52,86 pg/mL; V = 3,9060 pg/mL). Além destes, também apresentaram inibição significativa da IL-1 β o LPSF/JB-9 (p = 0,0156; P = 101,5 pg/mL; V = 27,40) e o LPSF/JB-11 (p = 0,0391; P = 103,6 pg/mL; V = 30,96 pg/mL) nas doses de 75 μ M e 25 μ M, respectivamente (Figura 9).

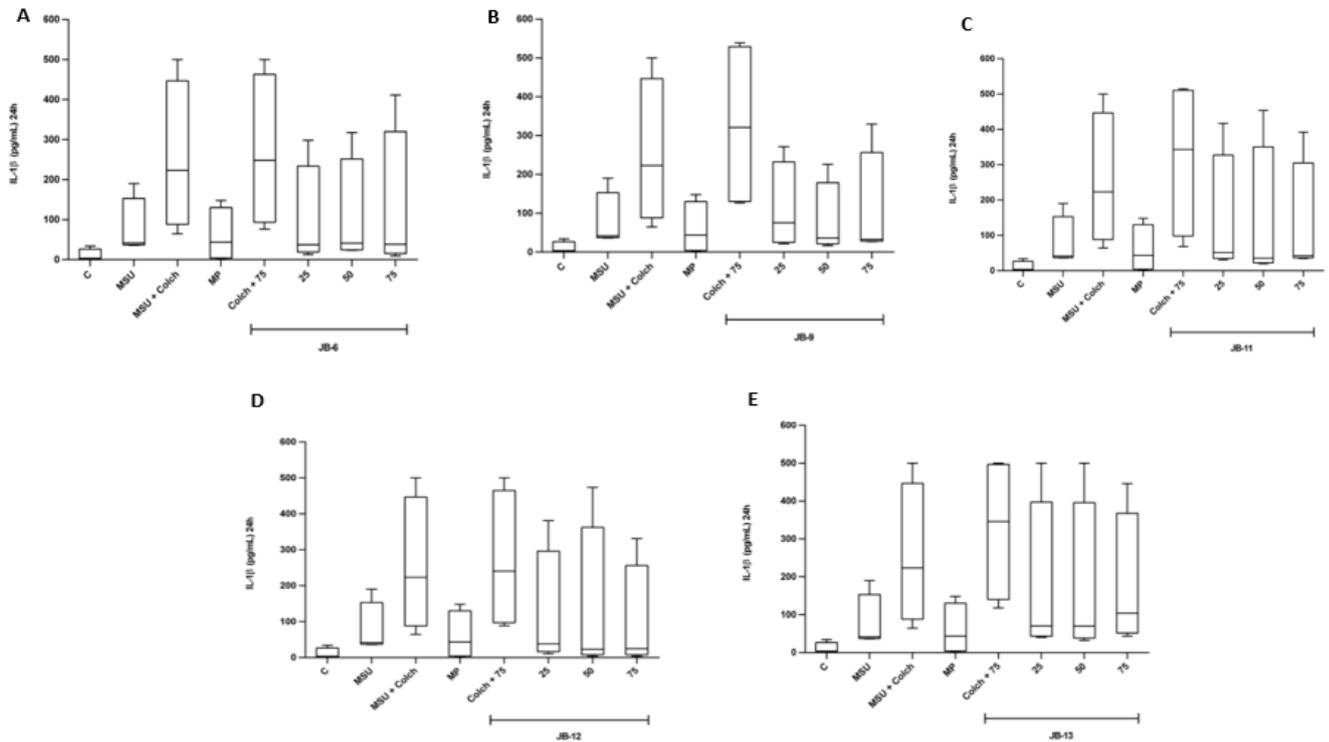
Figura 9 Secreção de IL-1 β produzida por PBMCs de pacientes gotosos (n=9) tratadas com JB-6 (A), JB-9 (B), JB-11 (C), JB-12 (D) ou JB-13 (E) e mantidas em cultura por 24 horas. Legenda: * ou ** indica significância estatística na comparação entre os grupos testados e o grupo estimulado com MSU. # ou ## indica significância estatística na comparação entre os grupos



testados e o grupo estimulado com MSU + Colchicina. Foi considerado $p > 0,05$ como valor significativo. C: célula; MSU: monourato de sódio (0,5 mg/mL); Colch.: colchicina (2,5 μ M); MP: metilprednisolona (100 μ M).

Os resultados obtidos com as PBMCs de voluntários saudáveis mostraram que todos os grupos mantiveram a secreção de IL-1 β baixa em relação às mesmas condições de cultura utilizadas para os PBMCs de pacientes. As comparações entre os grupos de voluntários não demonstraram nenhuma significância estatística (Figura 10).

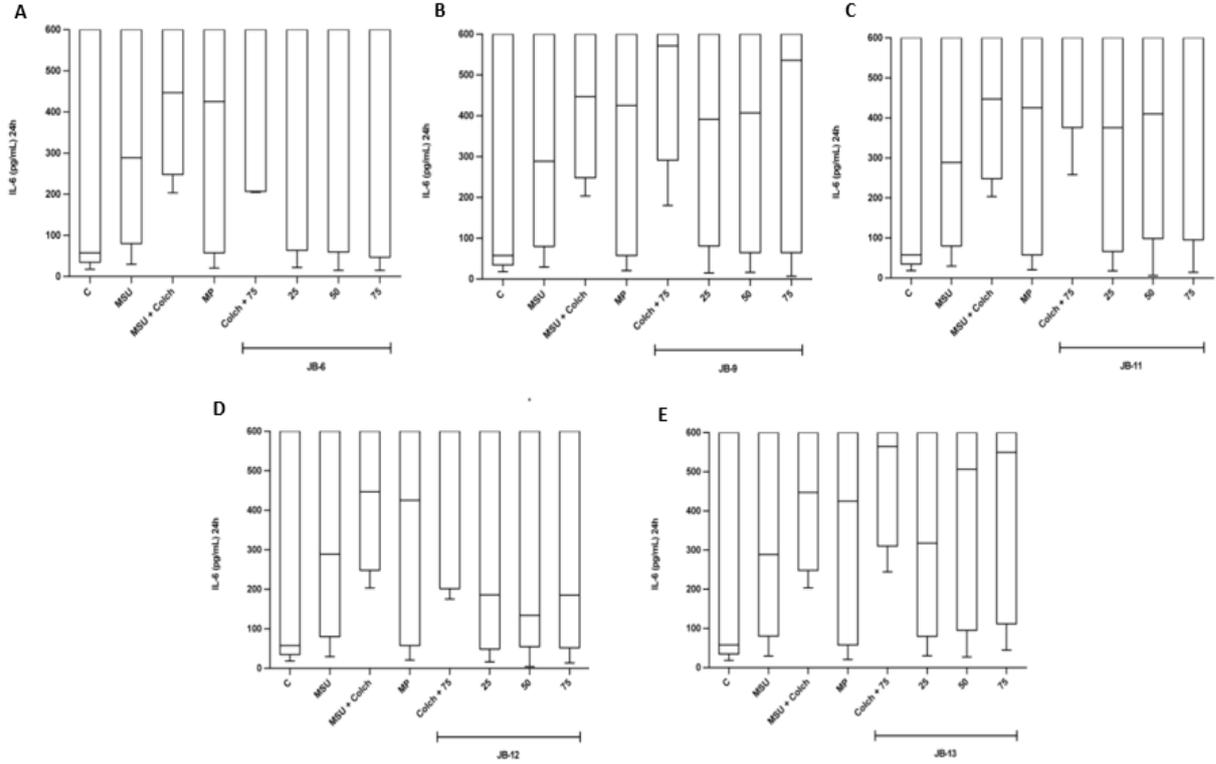
Figura 10 Secreção de IL-1 β produzida por PBMCs de voluntários saudáveis (n=4) tratadas com JB-6 (A), JB-9 (B), JB-11 (C), JB-12 (D) ou JB-13 (E) e mantidas em cultura por 24 horas. Legenda: C: célula; MSU: monourato de sódio (0,5 mg/mL); Colch.: colchicina (2,5 μ M); MP: metilprednisolona (100 μ M).



Em relação a secreção de IL-6, a colchicina agiu estimulando sua expressão, da mesma forma como ocorreu com a citocina IL-1 β . Contudo, o grupo MSU obteve sucesso como estímulo, sendo comparado aos grupos tratados. Nas doses testadas, o composto LPSF/JB-12 se sobressaiu em relação aos demais ao conseguir diminuir os níveis de IL-6 como pode ser constatado pelos valores de mediana dos grupos JB-12/25 μ M (P = 186,0 pg/mL), JB-12/50 μ M (P = 134,3 pg/mL) e JB-12/75 μ M (P = 185,4 pg/mL) quando comparados com o grupo estimulado por MSU (288,6 pg/mL) (Figura 11), o grupo JB-12/50 μ M (p = 0,0313) o único que apresentou significância estatística. Mesmo com resultados preliminares animadores ainda não se pode afirmar que o LPSF/JB-12 foi eficiente na modulação de IL-6, uma vez que os limites superiores e inferiores estão muito altos e não fornecem segurança para os dados.

No que diz respeito à terapia combinada em células de pacientes, todos os grupos Colch + LPSF/JBs (p<0,05) apresentaram maior expressão de IL-1 β e IL-6 quando comparada ao grupo C + Colch (259,7 pg/mL), independente do derivado tiazolidínico utilizado, não sendo considerado uma boa opção (Figura 9).

Figura 11 Secreção de IL-6 produzida por PBMCs de pacientes gotosos (n=9) tratadas com JB-6 (A), JB-9 (B), JB-11 (C), JB-12 (D) ou JB-13 (E) e mantidas em cultura por 24 horas. Legenda: * indica significância estatística na comparação entre os grupos testados e o grupo estimulado com MSU onde foi considerado $p > 0,05$ como valor significativo. C: célula; MSU: monourato de sódio (0,5 mg/mL); Colch.: colchicina (2,5 μ M); MP: metilprednisolona (100 μ M).



6 DISCUSSÃO

Conhecida pela dor nas articulações oriunda do acúmulo de cristais MSU, a gota vem avançando bastante ao longo dos últimos anos no que diz respeito ao desenvolvimento de fármacos utilizados no tratamento para manutenção dos níveis séricos de ácido úrico abaixo do seu limite de saturação (< 6 mg/dL), chamada de Terapia de Diminuição de Uratos (TDU). Contudo, o principal desafio na farmacoterapia da gota é o tratamento para resolução mais rápida e segura das suas dolorosas crises agudas, uma vez que os medicamentos disponíveis atualmente apresentam inúmeras limitações quanto a sua administração em pacientes com insuficiência renal, hepática ou doenças cardiovasculares.

Com a realização de estudos mais aprofundados sobre a fisiopatologia da doença, foi possível identificar um dos agentes envolvidos na resolução espontânea das crises agudas, o Receptor Nuclear Ativado por Peroxissomos- γ (PPAR- γ), que desempenha um importante papel regulador da expressão de NLRP3 e IL-1 β (CHANG et al, 2016), sendo considerado recentemente por Merriman e Terkelbaut (2017) como um possível alvo terapêutico para gota.

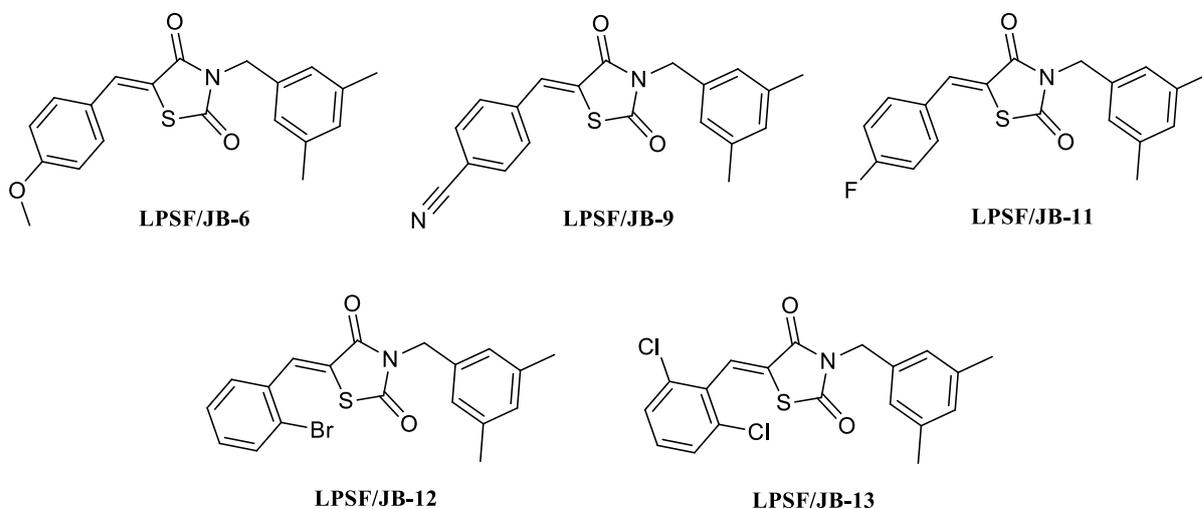
O PPAR- γ é uma das três isoformas do receptor nuclear PPAR (PPAR- α , PPAR- γ e PPAR- β/δ) e é codificado pelo gene PPAR- γ , sendo responsável por regular inúmeras funções biológicas, incluindo adipogênese e inflamação. Mas para isso é essencial a heterodimerização com o Receptor Retinóide X (RXR). Os derivados tiazolidínicos, por sua vez, atuam modificando a conformação deste heterodímero, o que acarreta na promoção de Elementos Responsivos ao Proliferador de Peroxissomos (PPER), que estimula a expressão do gene PPAR- γ (CHANDRA et al, 2008). O aumento da expressão do PPAR- γ dependente de ligante promove a ligação de um complexo repressor ao DNA, bloqueando a expressão de genes inflamatórios por meio do proteossoma 19S que previne a degradação do complexo repressor em questão (MARTIN, 2010).

Contudo, o sucesso deste evento depende do número e dos tipos de ligações realizadas entre ligante e receptor, ou seja, entre derivados tiazolidínicos e PPAR- γ . De acordo com Chadha e colaboradores (2015), o grupo carbonil da posição 2 do núcleo tiazolidínico faz interações hidrofílicas com resíduos de aminoácidos polares do receptor PPAR- γ , tais como Glicina286 e Histidina449, bem como o grupo carbonil da posição 4 que interage com os resíduos Serina289 e Histidina323. Já o grupo benzilideno da posição 5 é responsável pelas interações hidrofóbicas interagindo com Leucina, Isoleucina, Cisteína e Metionina, mas também pode fazer interações hidrofílicas dependendo do seu substituinte. Este, por sua vez, agrega maior atividade agonista

a molécula caso apresente um espaçador ligado a um grupo volumoso ou um grupo básico para interagir com o Ácido Aspártico⁴⁸ (CHADHA et al, 2015).

As moléculas sintetizadas neste trabalho apresentam substituição na posição 3 e 5 do anel tiazolidínico, sendo aqueles da posição 5 referentes ao benzilideno. Entretanto, apenas algumas moléculas apresentam grupo espaçador, como o JB-6 (R₂= OCH₃) e JB-7 (R₂= OCF₃). Já os outros compostos, com exceção do JB-2, possuem substituintes com potencial básico sem a presença do espaçador, como Bromo, Cloro, Oxigênio, Fluor e Nitrila, em especial os compostos JB-5 (R₂= 4-Br), JB-11 (R₂= 4-F) e JB-9 (R₂= 4-CN). Contudo, os compostos LPSF/JB-2, LPSF/JB-4, LPSF/JB-5 e LPSF/JB-7 se mostraram muito apolares e não solubilizaram em DMSO (veículo), sendo inviáveis para os testes seguintes.

Figura 12 Estrutura química dos derivados tiazolidínicos LPSF/JB avaliados no ensaio de expressão de citocinas.



Fonte: Autor, 2017

Os compostos com 1H-indol-3-il-metileno, como o LPSF/JB-8 e o LPSF/JB-20 (5-bromo-1H-indol-3-ilmetileno), são grandes candidatos a anti-inflamatórios, uma vez que o indol pode desempenhar inúmeras atividades, incluindo a inibição seletiva da COX-2 (SANTIN et al, 2013; RAVANTHI e MANJU, 2016). Contudo, os derivados LPSF/JB-8 e o LPSF/JB-20, bem como o LPSF/JB-3 e o LPSF/JB-14, apresentam alto custo devido ao seu baixo rendimento ocasionado pela presença de hidrogênios lábeis ou pares de elétrons livres, sendo por isso cortados dos testes de expressão de citocinas.

De acordo com os experimentos aqui realizados foi possível demonstrar que os derivados tiazolidínicos LPSF/JB-9, LPSF/JB-11 e LPSF/JB-12 (Figura 12) se destacaram quanto a sua

atividade anti-inflamatória. Apesar das células tratadas com estes compostos não terem apresentado diferença significativa em relação a secreção de IL-1 β quando comparada ao controle C + MSU, tal resultado se deve à baixa dosagem da citocina secretada pelo grupo estimulado (17,28 pg/mL) (Figura 9). Ainda que o C + MSU tenha mostrado diferença significativa quando comparado ao grupo não tratado, a secreção de IL-1 β foi muito pequena quando comparada ao grupo MSU + Colch (259,7 pg/mL) (Figura 9).

A Colchicina é um alcaloide muito utilizado no tratamento de crises agudas devido à sua atividade anti-inflamatória, sendo de grande importância para o tratamento crônico da gota para evitar a recorrência das crises (Schlee et al, 2017c). Dessa forma, o aumento da expressão de citocinas no grupo tratado com colchicina é um fenômeno incomum. Uma possível explicação é o efeito citotóxico cumulativo que este medicamento exibe. As doses de colchicina devem ser administradas no paciente, no mínimo, 3 dias após a última dose, sendo preferível o tempo de 7-14 dias para evitar seus efeitos tóxicos, já que a molécula pode se acumular nos leucócitos por pelo menos 9 dias (POWERS e D'ALESSIO, 2012; KOLCHMAN e STOMPÓR, 2016). Como os pacientes que participaram do trabalho já estavam em tratamento com colchicina, sua utilização como controle positivo, mesmo que em doses comumente encontradas na literatura, pode gerar o aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias devido à sua ação oxidante, como relatado por Sil e colaboradores em seus modelos animais para indução da doença de Alzheimer através da inflamação encefálica causada pela colchicina (Sil et al, 2015; Sil et al, 2016a; Sil et al, 2016b). Uma outra hipótese, é a utilização de uma dose muito alta, uma vez que os voluntários sadios (n=4) também apresentaram maior expressão de citocinas.

Em relação a secreção de IL-1 β , o LPSF/JB-12 apresentou uma excelente atividade inibitória da citocina nas doses de 25 μ M (71,1 mg/dL), 50 μ M (62,27 pg/mL) e 75 μ M (52,86 pg/mL) quando comparado ao grupo MSU + Colch, apresentando significância nas três doses. O mesmo aconteceu com o LPSF/JB-9 (101,5 pg/mL) e o LPSF/JB-11 (103,6 pg/mL) nas doses de 75 μ M e 25 μ M (Figura 8). Já em relação a IL-6, o controle MSU mostrou bastante estimulação, sendo os grupos tratados comparados com ele. Dentre estes grupos, o único que apresentou relevância foi o LPSF/JB-12 na dose de 50 μ M, exibindo melhor resultado que o controle MP (Figura 10). O que faz deste composto o único dentre os sintetizados capaz de inibir citocinas de fase aguda e crônica, exibindo atividade mais pronunciada que o anti-inflamatório esteroide Metilprednisolona.

Tendo em vista que o LPSF/JB-12 apresenta um bromo na posição dois como substituinte do benzilideno, tais resultados corroboram com o preconizado por Chadha e colaboradores (2015), quando afirma que grupos mais volumosos ou com propriedades básicas podem exibir

maior afinidade com o receptor PPAR- γ . Além disso, Barros e colaboradores (2010), bem como Silva e colaboradores (2015) demonstraram que o bromo na posição *orto* ou *meta* ou outros grupos volumosos na posição *para* também podem contribuir significativamente com a atividade anti-inflamatória.

Desta forma, os derivados tiazolidínicos podem ser bons candidatos a fármacos anti-inflamatórios para o tratamento da gota, uma vez que inibe citocinas pró-inflamatórias importantes para fisiopatologia da doença. Contudo, ainda se faz necessário a dosagem de outras citocinas e proteínas envolvidas na formação do inflamossomo para entender melhor o seu mecanismo de ação, tais como: NLRP3, caspase 1, IL-22, IL-18 e IL-10. Além disso, é importante identificar a limitação da Colchicina como controle positivo ou fazer uso de outra molécula mais eficiente (PÉTRILLI e MARTINON, 2007; GARLANDA, DINARELLO E MANTOVANI, 2013; NEWCOMBE, 2013).

7 CONCLUSÃO

Os derivados tiazolidínicos 3,5-dimetil substituídos podem ser uma boa alternativa para o tratamento das crises agudas. Moléculas com substituintes como cloro, bromo e ou outros que não contribuam com o efeito mesomérico na posição *para* podem agregar grande estabilidade à molécula, deixando-a demasiadamente apolar e inviabilizando seu uso nos testes pré-clínicos. Contudo, a presença de grupos volumosos ou básicos como substituínetes do benzilideno são boas opções para o planejamento de moléculas com propriedade anti-inflamatória, principalmente quando ocupam a posição *orto* do anel aromático. O uso de um controle positivo mais eficaz se faz necessário na realização dos testes pré-clínicos de pacientes com gota, uma vez que a Colchicina, mesmo sendo de uso comum, pode acabar atuando como estímulo.

Ainda assim, o composto LPSF/JB-12 apresentou uma boa atividade anti-inflamatória, inibindo as citocinas IL-1 β e IL-6, as quais desempenham um papel central na fisiopatologia da doença. Com isso, os derivados tiazolidínicos podem representar uma nova alternativa de tratamento para os pacientes gotosos incapazes de aderir ao método terapêutico padrão, possibilitando que, com mais pesquisa e investimento, possamos oferecer a eles um tratamento mais seguro e eficaz, além de lhes proporcionar uma melhor qualidade de vida.

REFERÊNCIAS

Schlee, S.; Bollheimer, L.C.; Bertsch, T.; Sieber, C.C.; Härle, P. Crystal arthritides – gout and calcium pyrophosphate arthritis - Part 1: Epidemiology and pathophysiology. **Zeitschrift für Gerontologie und Geriatrie**. 1-6p, 2017 (a).

Day, R.O.; Kamel, B.; Kannangara, D.R.W.; Williams, K.M.; Graham, G.G. Xanthine oxidoreductase and its inhibitors: relevance for gout. **Clinical Science**. 130v, 2167-2180p, 2016.

Diaz-Torné, C.; Perez-Herrero, N.; Perez-Ruiz, F. New medications in development for the treatment of hyperuricemia of gout. **Current Opinion in Rheumatology**. 27v, 164-169p, 2015.

Rocha Junior, L. F.; Rêgo, M. J. B. M.; Cavalcanti, M. B.; Pereira, M. C.; Galdino-Pitta, M. R, Oliveira, P. S. S.; Gonçalves, S. M. C.; Duarte, A. L. B. P.; Lima, M. C. A.; Pitta, I. R.; Pitta, M. G. R. Synthesis of a Novel Thiazolidinedione and Evaluation of Its Modulatory Effect on IFN- α , IL-6, IL-17A, and IL-22 Production in PBMCs from Rheumatoid Arthritis Patients. **BioMed Research International**. 1-9p, 2013.

Schlee, S.; Bollheimer, L.C.; Bertsch, T.; Sieber, C.C.; Härle, P. Crystal arthritides – gout and calcium pyrophosphate arthritis - Part 2: Clinical features, diagnosis and differential diagnostics. **Zeitschrift für Gerontologie und Geriatrie**. 1-6p, 2017 (b).

Schlee, S.; Bollheimer, L.C.; Bertsch, T.; Sieber, C.C.; Härle, P. Crystal arthritides – gout and calcium pyrophosphate arthritis - Part 3: Treatment. **Zeitschrift für Gerontologie und Geriatrie**. 1-8p, 2017 (c).

Akahoshi, T.; Namai, R.; Murakami, Y.; Watanabe, M.; Matsui, T.; Nishimura, A.; Kitasato, H.; Kameya, T.; Kondo, H. Rapid induction of peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression in human monocytes by monosodium urate monohydrate crystals. **Arthritis Rheumatology**. 48v, 231-239p, 2003.

Azevedo, V.F.; Lopes, M.P.; Catholino, N.M.; Paiva, E.S.; Araújo, V.A.; Pinheiro, G.R.C. Revisão crítica do tratamento medicamentoso da gota no Brasil. **Revista Brasileira de Reumatologia**. 57v, 346-355p, 2017.

Barbosa, K.P.; Santos, L.A.; Ribeiro, E.L.; Fragoso, I.T.; Rocha, S.W.; Nunes, A.K.; França, M.E.; Silva, B.S.; Silva, A.K.; Donato, M.A.; Gomes, F.O.; Silva, T.G.; Pitta, I.R.; Pitta, M.R.; Lima, M.C.; Uchôa, F.D.; Galdino, S.L.; Peixoto, C.A. Reduction of carrageenan-induced acute pulmonary inflammation in mice by novel thiazolidinedione derivative LPSF/RA-4. **European Journal Pharmacology**. 18v, 197-205p, 2013.

Bardin, T.; Richette, P. Impact of comorbidities on gout and hyperuricaemia: an update on prevalence and treatment options. **Gout Diagnosis, Management and Therapy**. 15v, 1-10p, 2017.

Barnes, T.C.; Anderson, M.E.; Moots, R.J. The Many Faces of Interleukin-6: The Role of IL-6 in Inflammation, Vasculopathy, and Fibrosis in Systemic Sclerosis. **International Journal of Rheumatology**. 2011v, 1-6p, 2011.

Barros, C. D.; Amato, A. A.; Oliveira, T. B.; Iannini, K. B. R.; Silva, A. L.; Silva, T. G.; Leite, E. S.; Hernandez, 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**. 18v, 3805–3811p, 2010.

Becker, M.A.; Schumacher, H.R.; Espinoza, L.R.; Wells, A.F.; MacDonald, P.; Lloyd, E.; Lademacher, C. The urate-lowering efficacy and safety of febuxostat in the treatment of the hyperuricemia of gout: the CONFIRMS trial. **Arthritis Research and Therapy**. 12v, 1-12p, 2010.

Cariou, B.; Charbonnel, B.; Staels, B. Thiazolidinediones and PPAR γ agonists: time for a reassessment. **Cell press**. 23v, 205-215, 2012.

César, F. A.; Rudnicki, M.; Heras, B.; Boscá, L.; Lima, M. C. A.; Pitta, I. R.; Abdalla, D. S. P. New indole-thiazolidine attenuates atherosclerosis in LDLr $^{-/-}$ mice. **Vascular Pharmacology**. 71v, 174-180p, 2015.

Chadha, N.; Bahia, M. S.; Kaur, M.; Silakari, O. Thiazolidine-2,4-dione derivatives: Programmed chemical weapons for key protein targets of various pathological conditions. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. 23v, 2953–2974p, 2015.

Chandra, V.; Huang, P.; Hamuro, Y.; Raghuram, S.; Wang, Y.; Burris, T. P.; Rastinejad, F. Structure of the intact PPAR- γ -RXR- α nuclear receptor complex on DNA. **Nature**. 2008.

Chang, W.C.; Wu, Y.J.J.; Chung, W.H.; Lee, Y.S.; Chin, S.W.; Chen, T.J.; Chang, Y.S.; Chen, D.Y.; Hung, S.I. Genetic variants of PPAR-gamma coactivator 1B augment NLRP3-mediated inflammation in gouty arthritis. **Reumatology Advance**. 56v, 457-466p, 2016.

Chawla, A.; Barak, Y.; Nagy, L.; Liao, D.; Tontonoz, P.; Evans, R.M. PPAR-gamma dependent and independent effects on macrophage-gene expression in lipid metabolism and inflammation. **Nature Medicine**. 7v, 48-52p, 2001.

Choi, H.K.; Atkinson, K.; Karlson, E.W.; Willett, W.; Curhan, G. Alcohol intake and risk of incident gout in men: a prospective study. **Lancet**. 363v, 1277-1281p, 2005.

Cleophas, M.C.; Joosten, L.A.; Stamp, L.K.; Dalbeth, N.; Woodward, O.M.; Merriman, T.R. ABCG2 polymorphisms in gout: insights into disease susceptibility and treatment approaches. **Pharmacogenomics and Personalized Medicine**. 10v, 129-142p, 2017.

Clinicaltrial.gov. Denosumab In Addition To Intense Urate-Lowering Therapy for Bone Erosions. 2017

Clinicaltrial.gov. Effect of Topiroxostat on Urinary Albumin Excretion Early Stage Diabetic Nephropathy and Hyperuricemia With or Without Gout (UPWARD). 2014

Clinicaltrial.gov. Evaluate the Efficacy and Safety of Arhalofenate for Preventing Flares and Reducing Serum Uric Acid in Gout Patients. 2015.

Clinicaltrial.gov. Evaluate the PK, PD, and Safety of Arhalofenate in Combination With Febuxostat for Hyperuricemia in Patients With Gout. 2015.

Clinicaltrial.gov. Lesinurad and Febuxostat Combination Extension Study in Gout. 2017.

Clinicaltrial.gov. Open Label Safety/Efficacy Study of Arhalofenate in Combination With Febuxostat for Hyperuricemia in Gout Patients. 2015

Clinicaltrial.gov. Safety/Efficacy Study to Evaluate of MBX-102 in Combination With Allopurinol in Gout Patients. 2015.

Clinicaltrials.gov. Bucillamine for the Treatment of Acute Gout Flare in Subjects With Moderate to Severe Gout. 2016.

Costas Giaginis, Athina Giagini, Stamatios Theocharis. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ) ligands as potential therapeutic agents to treat arthritis. **Pharmacological Research**. 60v, 160-169p, 2009.

Dalbeth, N.; Stamp, L.K.; Merriman, T.R. The genetics of gout: towards personalised medicine? **BMC Medicine**. 15v, 1-8p, 2017.

El-Naa, M.M.; El-Refaei, M.F.; Nasif, W.A.; Abduljawad, S.H.; El-Brairy A.I.; El-Readi, M.Z. In-vivo antioxidant and anti-inflammatory activity of rosiglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR- γ) agonists in animal model of bronchial asthma. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. 67v, 1421-1430p, 2015.

Garlanda, C.; Dinarello, C.A.; Mantovani, A. The Interleukine 1 Family: Beck to the Future. **National Institutes of Health**. 39v, 1003-1018p, 2013.

Giordano, C.; Karasik, O.; King-Morris, K.; Asmar, A. Uric Acid as a Marker of Kidney Disease: Review of the Current Literature. **Disease Markers**. 1-6p, 2015.

Grassi, D.; Pontremoli, R.; Bocale, R.; Ferri, C.; Desideri, G. Therapeutic Approaches to Chronic Hyperuricemia and Gout. **High Blood Pressure and Cardiovascular Prevention**. 21v, 243-250p, 2014.

Grether, U.; Klaus, W.; Kuhn, B.; Maerki, H.P.; Mohr, P.; Wright, M.B. New Insights on the mechanism of PPAR-targeted drugs. **Chemmedchem**. 5v, 1973-1976, 2010.

Hofmann, E.; Webstera, J.; Doa, T.; Klinea, R.; Snidera, L.; Hausera, Q.; Higginbottom, G.; Campbell, A.; Maa, L.; Paulaa, S. Hydroxylated chalcones with dual properties: xanthine oxidase inhibitors and radical scavengers. **Bioorganic Medicinal Chemistry**. 15v, 578-587p, 2016.

Johnson, R.J.; Nakagawa, T.; Jalal, D.; Sánchez-Lozada, L.G.; Kang, D.H.; Ritz, E. Uric acid and chronic kidney disease: which is chasing which? **Nephrology Dialysis Transplantation**. 28v, 2221-2228p, 2013.

Kaplan, J.; Nowell, M.; Chima, R.; Zingarelli, B. Pioglitazone reduces inflammation through inhibition of nuclear factor kappa-B in polymicrobial sepsis. **Innate Immunity**. 20v, 519-528p, 2014.

Khanna, D.; FitzGerald, J.D.; Khanna, P.P.; Bae, S.; Singh, M.; Neogi, T.; Pillinger, M.H.; Merrill, J.; Lee, S.; Prakash, S.; Kaldas, M.; Gogia, M.; Perez-Ruiz, F.; Taylor, W.; Lioté, F.; Choi, H.; Singh, J.A.; Dalbeth, N.; Kaplan, S.; Niyyar, V.; Jones, D.; Yarows, S.A.; Roessler, B.; Kerr, G.; King, C.; Levy, G.; Furst, D.E.; Edwards, N.L.; Mandell, B.; Schumacher, H.R.; Robbins, M.; Wenger, N.; Terkeltaub, R. 2012 American College of Rheumatology Guidelines for Management of Gout Part I: Systematic Non-pharmacologic and Pharmacologic Therapeutic Approaches to Hyperuricemia. **Arthritis Care Research**. 64v, 1431-1443p, 2012.

Kharbanda, C.; Alam, M. S.; Hamid, H.; Javed, K.; Bano, S.; Ali, Y.; Dhulap, A.; Alam, P.; Pasha, M. A. Novel piperine derivatives with antidiabetic effect as PPAR- γ agonists. **Chemical Biology and Drug Design**. 2016.

Kim, S.R.; Lee, K.S.; Park, H.S.; Park, S.J; Min, K.H.; Jin, S.M.; Lee, Y.C. Involvement of IL-10 in Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ -Mediated Anti-Inflammatory Response in Asthma. **Molecular Pharmacology**. 68v, 1568-1575p, 2005.

Kingsbury, S.R.; Conaghan, P.G.; McDermott, M.F. The Role of the NLRP3 Inflammasome in Gout. **Journal of Inflammation Research**. 4v, 39-49p, 2011.

Kochman, P.; Stompór, T. Gout, hyperuricemia and chronic kidney disease: New treatment possibilities. **Polish Annals of Medicine**. 23v, 195-201p, 2016.

Krishnan, E. Gout in African Americans. **Clinical Research Study**. 127v, 858-864p, 2014.

Kuo, C.F.; Grainge, M.J.; See, L.C.; Yu, K.H.; Luo, S.F.; Valdes, A.M.; Zhang, W.; Doherty, M. Familial aggregation of gout and relative genetic and environmental contributions: a nationwide population study in Taiwan. **Annals of the Rheumatic Diseases**. 74v, 369-374p, 2015 (b).

Kuo, C.F.; Grainge, M.J.; Zhang, W.; Doherty, M. Global epidemiology of gout: prevalence, incidence and risk factors. **Nature Reviews Rheumatology**. 11v, 649-662p, 2015 (a).

Leung, Y.Y.; Hui, L.L.Y.; Kraus, V.B. Colchicine --- update on mechanisms of action and therapeutic uses. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**. 45v, 341-350p, 2015.

Li, Q.; Li, X.; Kwong, J.S.W.; Chen, H.; Sun, X.; Tian, H.; Li, S. Diagnosis and treatment for hyperuricaemia and gout: a protocol for a systematic review of clinical practice guidelines and consensus statements. **BMJ Open**. 7v, 1-6, 2017.

Li, Y.; Cao, T.T.; Guo, S.; Zhong, Q.; Li, C.H.; Li, Y.; Dong, L.; Zheng, S.; Wang, G.; Yin, S.F. Discovery of Novel Allopurinol Derivatives with Anticancer Activity and Attenuated Xanthine Oxidase Inhibition. **Molecules**. 21v, 1-16p, 2016.

Lipkowitz, M.S. Regulation of Uric Acid Excretion by the Kidney. **Current Rheumatology Reports**. 14v, 179-188p, 2012.

Ma, Y.; Wang, X.; Wu, X.; Wei, X.; Ma, L.; Zheng, H.; Qi, B.; Zhu, W.; Luo, Y.; Wei, Y.; Chen, L. (Z)-5-(4-methoxybenzylidene) thiazolidine-2, 4-dione ameliorates the adjuvant-induced arthritis via inhibiting the migration of macrophage and down-regulating the cytokine mRNA expression. **International Immunopharmacology**. 10v, 1456-1462p, 2010.

Martillo, M.; Karis, E.; Crittenden, D.B.; Pillinger, M.H. Gout comorbidities: prevalence and management. In: Delbeth, N.; Perez-Ruiz, F.; Schlesinger, N. Gout. **Future Medicine**, 2013. 212-225p.

Martin, H. Role of PPAR-gamma in inflammation. Prospects for therapeutic intervention by food components. **Mutation Research**. 690v, 57-63p, 2010.

Massaro M, Scoditti E, Pellegrino M, Carluccio MA, Calabriso N, Wabitsch M, Storelli C, Wright M, De Caterina R. Therapeutic potential of the dual peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) α/γ agonist aleglitazar in attenuating TNF- α -mediated inflammation and insulin resistance in human adipocytes. **Pharmacological Research**. 2016.

Maynard, J.W.; McAdams-DeMarco, M.A.; Law, A.; Kao, L.; Gelber, A.C.; Coresh, J.; Baer, A.N. Racial Differences in Gout Incidence in a Population-Based Cohort: Atherosclerosis Risk in Communities Study. **American Journal Epidemiology**. 179v, 576-583p, 2014

Merriman, T.; Terkeltaub, R. PPARGC1B: insight into the expression of the gouty inflammation phenotype: PPARGC1B and gouty inflammation. **Rheumatology**. 56v, 323-325p, 2017.

Mistry, A.; Savic, S.; Van Der Hilst, J.C.H. Interleukin-1 Blockade: An Update on Emerging Indications. **BioDrugs**. 31v, 207-231p, 2017.

Murakami, C.A.; Sozio, S.M; Uric acid in chronic kidney disease. **Open Access Nephology**. 1v, 2-6p, 2013.

Nakajima, A.; Wada, K.; Miki, H.; Kubota, N.; Nakajima, N.; Terauchi, Y.; Ohnishi, S.; Saubermann, L.J.; Kadowaki, T.; Blumberg, R.S.; Nagai, R.; Matsushashi, N. Endogenous PPAR γ Mediates Anti-inflammatory Activity in Murine Ischemia-Reperfusion Injury. **Gastroenterology**. 120v, 460-469p, 2001.

Newcombe, D.S. Mechanisms of Acute Attack of Gout and Its Resolution: Interleukine 1 β e Interleukine 18. In: Newcombe, D.S. **Gout**. Springer, 2013. 216-217p.

Paterniti, I.; Impellizzeri, D.; Crupi, R.; Morabito, R.; Campolo, M.; Esposito, E.; Cuzzocrea, S. Molecular evidence for the involvement of PPAR- δ and PPAR- γ in anti-inflammatory and neuroprotective activities of palmitoylethanolamide after spinal cord trauma. **Journal of Neuroinflammation**. 10v, 1-13, 2013.

Patzer, A.; Zhao, Y.; Stöck, I.; Gohlke, P.; Herdegen, T.; Culman, J. Peroxisome proliferator-activated receptorsgamma (PPARgamma) differently modulate the interleukin-6 expression in the peri-infarct cortical tissue in the acute and delayed phases of cerebral ischaemia. **European Journal Neuroscience**. 28v, 1786-1794p, 2008.

Pétrilli, V.; Martinon, F. The Inflammasome, Autoinflammatory Diseases, and Gout. **Joint Bone Spine**. 74v, 571-576p, 2007.

Pillinger, M.H.; Goldfarb, D.S.; Keenan, R.T. Gout and Its Comorbidities. **Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases**. 68v, 199-203p, 2010.

Popa-Nita, O.; Naccache, P.H. Crystal-induced neutrophil activation. **Immunology and Cell Biology**. 88v, 32-40p, 2010.

Powers A.C; D'Alessio, D. Pâncreas endócrino e a farmacoterapia do diabetes melito e da hipoglicemia: Ativadores da AMPK e PPAR γ . In: Brunton, L.L.; Chabner, B.A.; Knollman, B.C. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman*. **AMGH**, 2012. 1259-1261p.

Ragab, G.; Elshahaly, M.; Bardin, T. Gout: An old disease in new perspective – A review. **Journal of Advanced Research**. 8v, 495-511p, 2017.

Ramanan, S. Kooshki, M.; Zhao, W. Hsu, F. C.; Robbins, M. E. PPAR α ligands inhibit radiation-induced microglial inflammatory responses by negatively regulating NF- κ B and AP-1 pathways. **Free Radical Biology & Medicine**. 45v, 1695–1704p, 2008.

Reginato, A.M.; Olsena, B.R. Genetics and experimental models of crystal-induced arthritis. Lessons learned from mice and men: is it crystal clear? **Current Opinion of Rheumatology**. 19v, 134-145p, 2007.

Rhee, A.C.; Cain, A.L.; Hile, K.L.; Zhang, H.; Matsui, F.; Meldrum, K.K. IL-18 Activation is Dependent on Toll Like Receptor 4 during Renal Obstruction. **National Institutes of Health**. 183v, 278-284p, 2013.

Robert T. Keenan^{1,2} & Naomi Schlesinger³. New and Pipeline Drugs for Gout. **Current Rheumatology Reports**. 18v, 2016.

Roddy, E.; Doherty, M. Epidemiology of gout. **Arthritis Research and Therapy**. 12v, 2-11p, 2010.

Santin, J. R.; Uchoa, F.D.T.; Lima, M.C.A.; Rabello, M.M.; Machado, I.D.; Hernande, M.Z.; Amato, A.A.; Milton, F.A.; Webbe, P.; Neves, F.A.R.; Galdino, S.L.; Pitta, I.R.; Farsky, S.H.P. Chemical synthesis, docking studies and biological effects of a pan peroxisome proliferator-activated receptor agonist and cyclooxygenase inhibitor. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. 48v, 689-697p, 2013.

Santos, F.D. Gota: uma revisão crítica. **Revista Médica da UFPR**. 3v, 25-31p, 2016.

Schlesinger, N. The safety of treatment options available for Gout. **Expert Opinion on Drug Safety**. 16v, 429-436p, 2017.

Sil, S.; Ghosh, R.; Sanyal, M.; Guha, D.; Ghosh, T. A comparison of neurodegeneration linked with neuroinflammation in different brain areas of rats after intracerebroventricular colchicine injection. **Journal of Immunotoxicology**. 1-10p, 2015.

Sil, S.; Ghosh, T.; Ghosh, R. Impairment of blood brain barrier is related with the neuroinflammation induced peripheral immune status in intracerebroventricular colchicine injected rats: An experimental study with manitol. **Brain Research**. 1646v, 278-286p, 2016 (b).

Sil, S.; Ghosh, T.; Ghosh, R. NMDA receptor is involved in neuroinflammation in intracerebroventricular colchicine-injected rats. **Journal of Immunotoxicology**. 13v, 474-489p, 2016 (a).

Silva, J. C.; C´esar, F. A.; Oliveira, E. M.; Turato, W. M.; Tripodi, G. L.; Castilho, G.; Machado-Lima, A.; Heras, B.; Bosc´a, L.; Rabello, M. M.; Hernandez, M. Z.; Pitta, M.G.R.; Pitta, I. R.; Passarelli, M.; Rudnicki, M.; Abdalla, D.S.P. New PPAR- γ partial agonist improves obesity-induced metabolic alterations and atherosclerosis in LDLr-/- mice. **Pharmacological Research**. 104v, 49-60p, 2016.

Spanou, C.; Veskoukis, A.S.; Kerasioti, T.; Kontou, M.; Angelis, A.; Aligiannis, N.; Skaltsounis, A.L.; Kouretas, D. Flavonoid Glycosides Isolated from Unique Legume Plant Extracts as Novel Inhibitors of Xanthine Oxidase. **Plos One**. 7v, 1-7p, 2012.

Sravanthi, T.V.; Manju, S.L. Indoles - A promising scaffold for drug development. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. 91v, 1-10p, 2016.

Wang, X.; Wang, Y.; Hu, J. P.; Yu, S.; Li, B. K.; Cui, Y.; Ren, L.; Zhang, L. D. Astragaloside IV, a Natural PPAR γ Agonist, Reduces A β Production in Alzheimer's Disease Through Inhibition of BACE1. **Molecular Neurobiology**. 2016

Zhao, Y.; Huang, Y.; He, J.; Li, C.; Deng, W.; Ran, X.; Wang, D... Rosiglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor- agonist, attenuates airway inflammation by inhibiting the proliferation of effector T cells in a murine model of neutrophilic asthma. **Immunology Letters**. 157v, 9-15p, 2014.

APÊNDICE A – ESPECTROS DE RMN ^1H E ^{13}C , IV, GC-MS E HPLC
 3-(3,5-dimethylbenzyl)thiazolidine-2,4-dione (LPSF/JB-1)

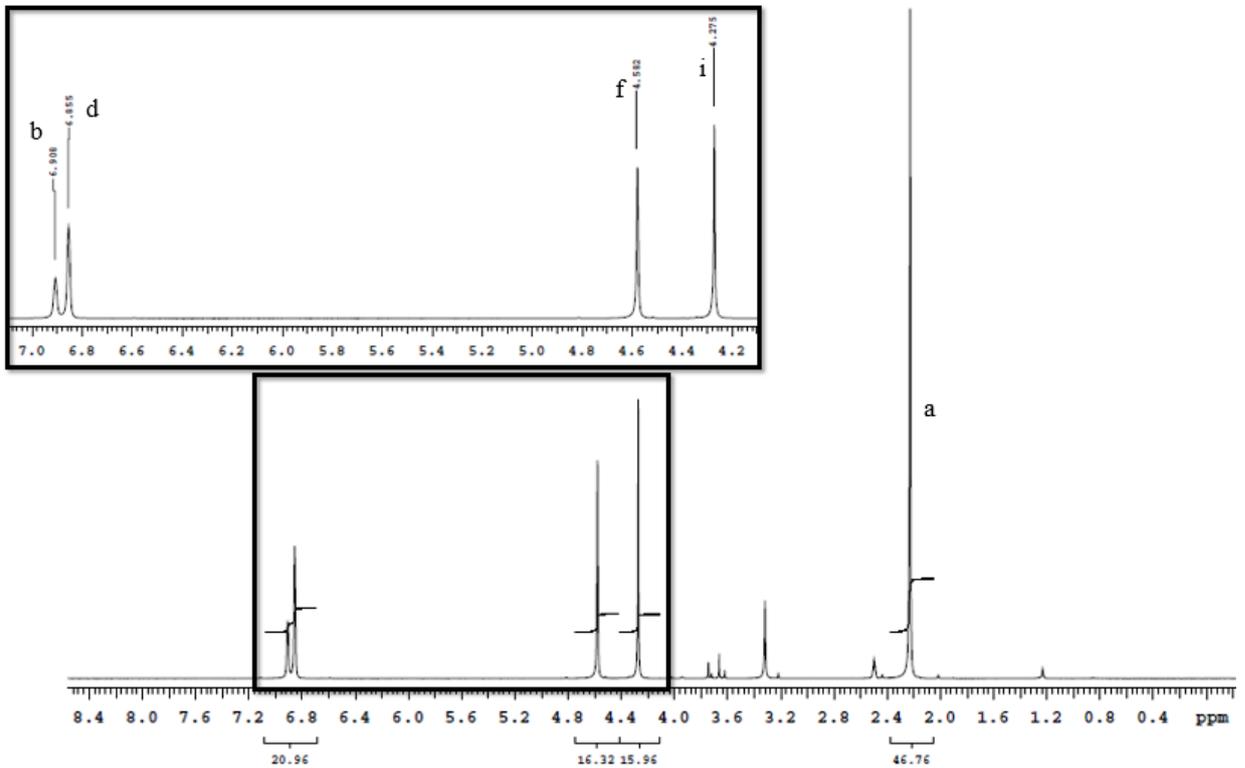
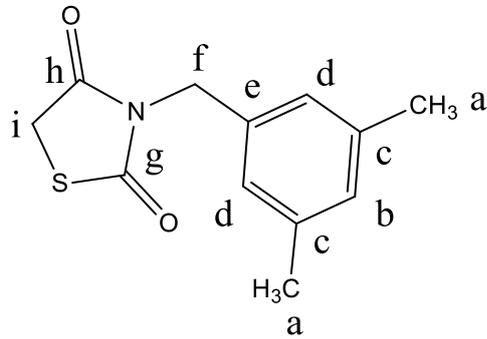


Figura 13 Espectro de RMN ^1H do LPSF/JB-1

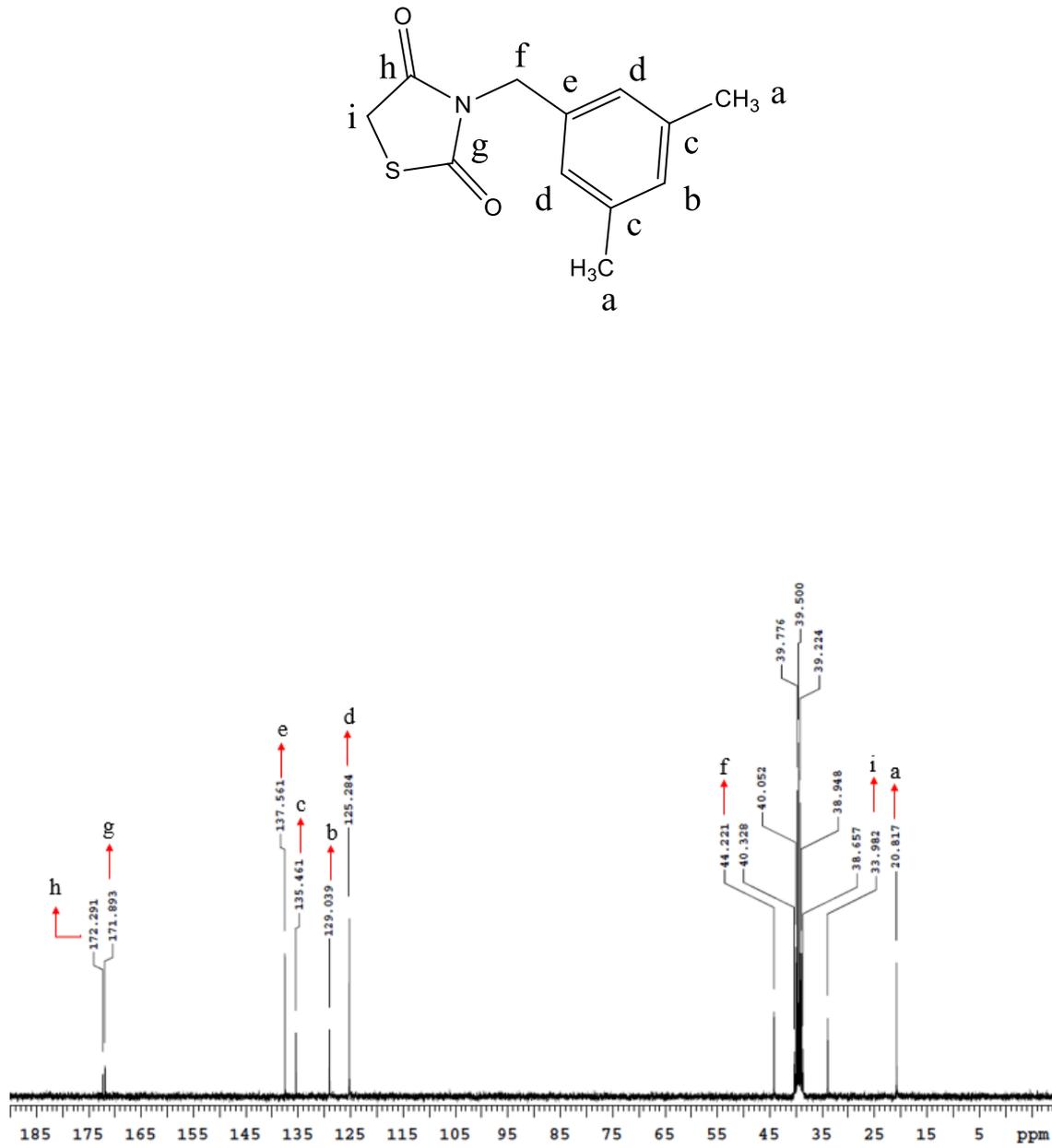


Figura 14 Espectro de RMN ^{13}C do LPSF/JB-1

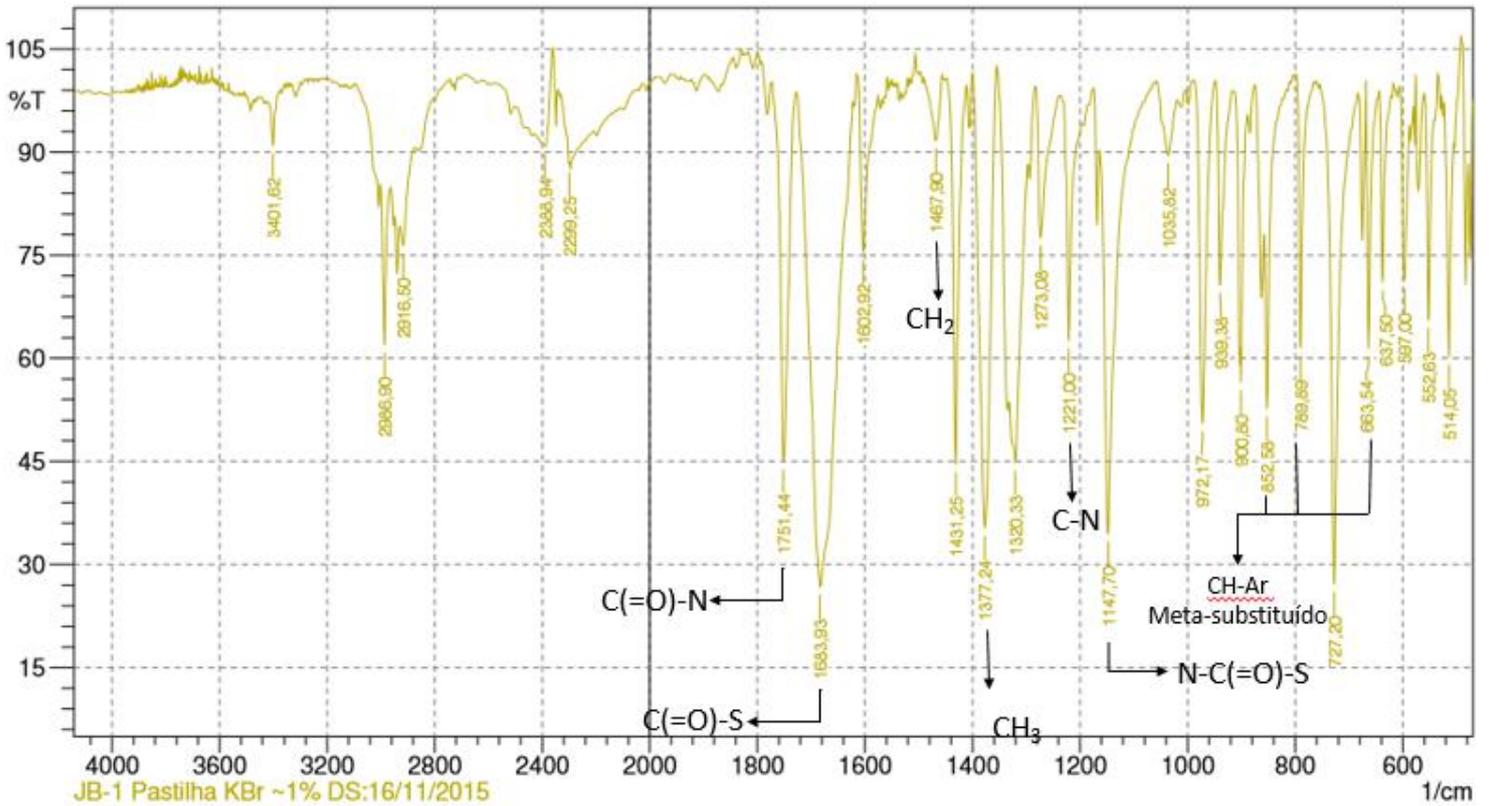
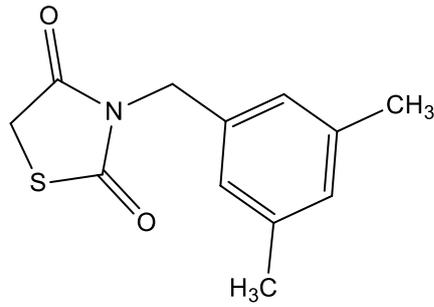
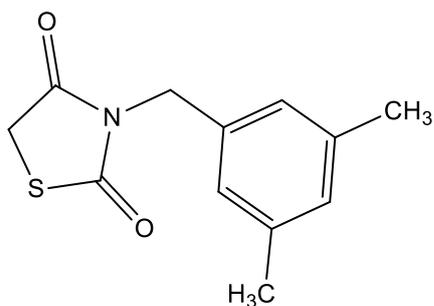


Figura 15 Espectro de IV do LPSF/JB-1. Deformação axial das ligações C=O do anel Tiazolidínico, 1751 cm⁻¹; Deformação axial das ligações C(=O)-S, 1683 cm⁻¹; Deformação axial da ligação CH₂ do anel Tiazolidínico, 1467 cm⁻¹; Deformação angular simétrica de CH₃, 1377 cm⁻¹; Deformação axial C-N, 1221 cm⁻¹; Deformação angular C(=O)-S, 1147 cm⁻¹; Deformação angular de CH de aromático fora do plano de 852, 789 e 663 cm⁻¹ (anel *meta*-substituído).



Line#:1 R.Time:13.6(Scan#:975)
 RawMode:Single 13.6(975) BasePeak:160(1231805)
 BG Mode:12.4(826) Group 1 - Event 1

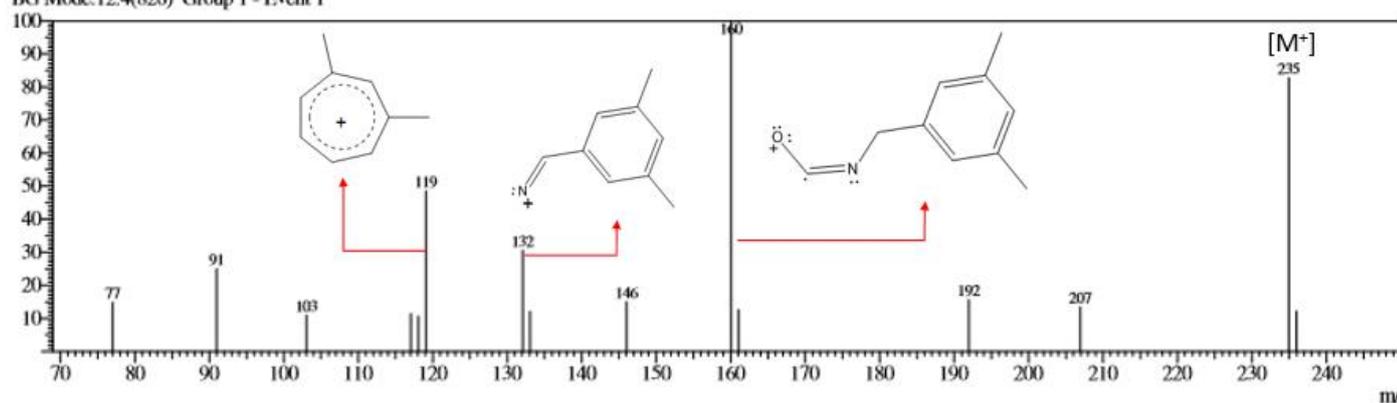
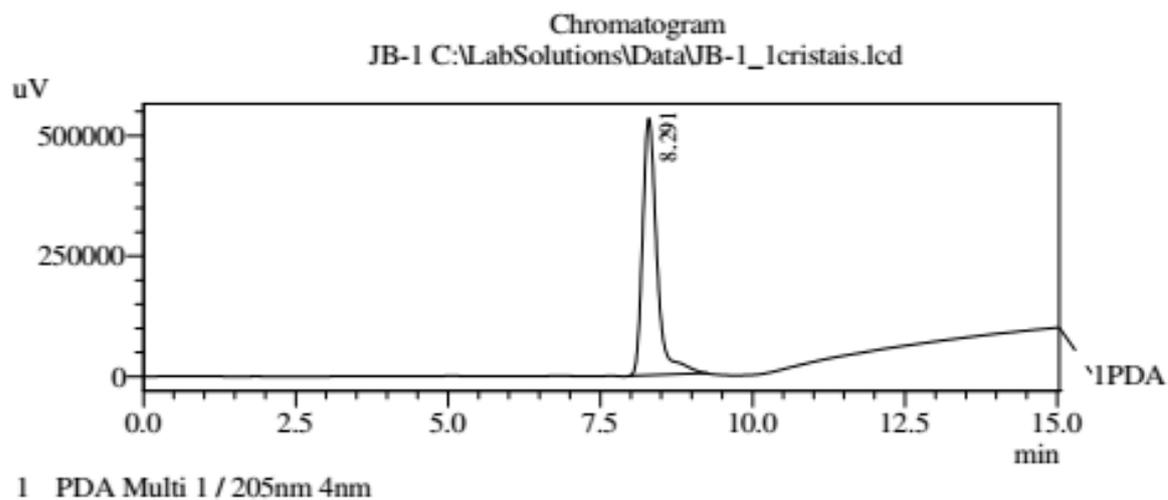
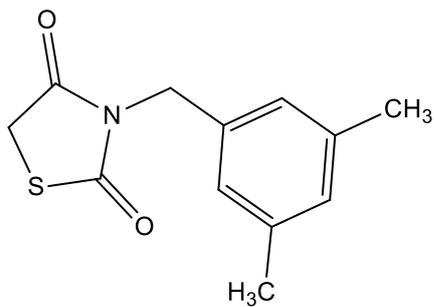


Figura 16 Espectro de Massas do LPSF/JB-1 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 225 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M^+) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 160 m/z (100%), 132 m/z (30%), 119 m/z (48%), 91 m/z (25%), 146 m/z (15%) e 207 m/z (13,5%).



PeakTable

PDA Ch1 205nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.291	8710175	533287	100.000	100.000
Total		8710175	533287	100.000	100.000

Figura 17 Cromatograma do LPSF/JB-1 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 100%, de acordo com a área do pico.

3-(3,5-dimetilbenzil)-5-(4-metilbenzilideno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-2)

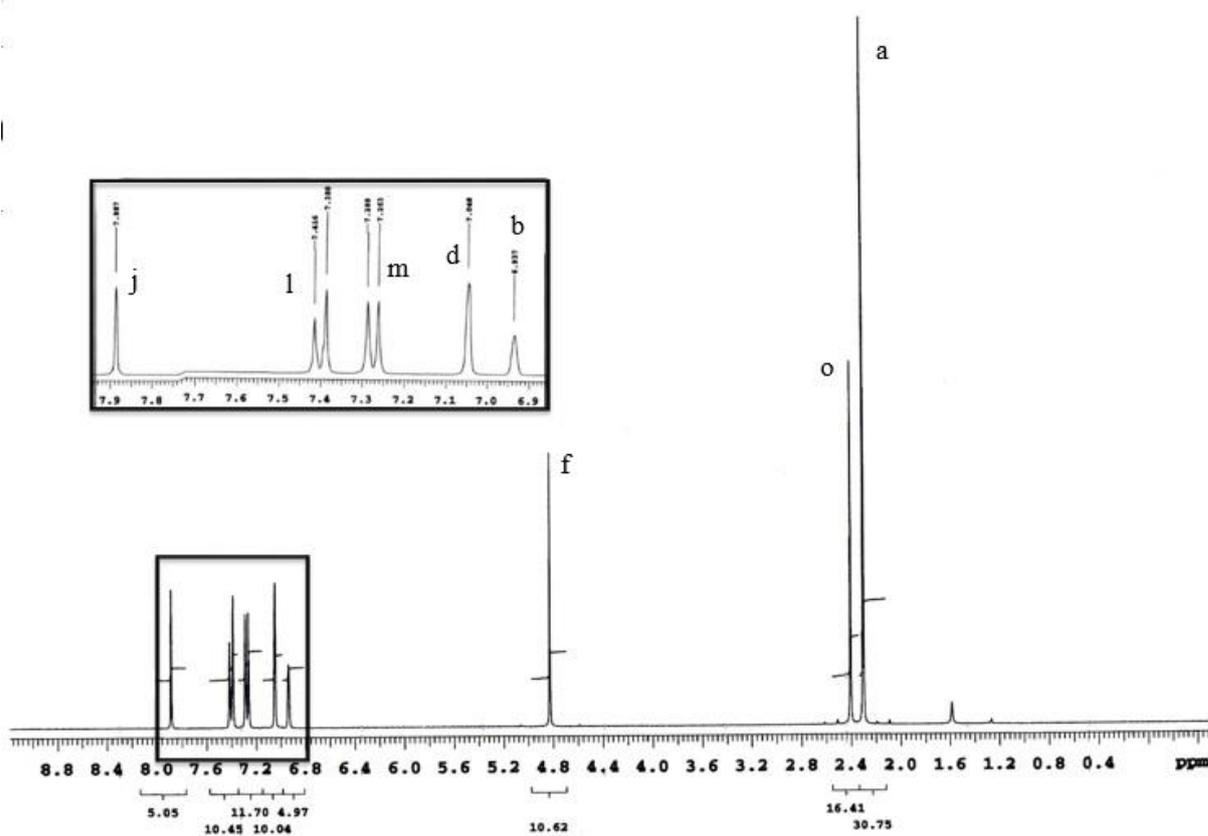
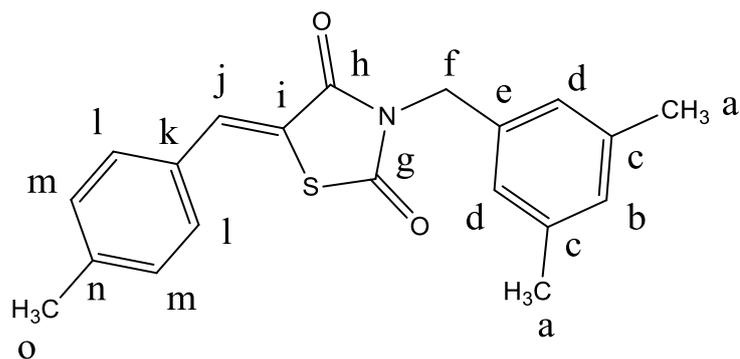


Figura 18 Espectro de RMN ¹H do LPSF/JB-2

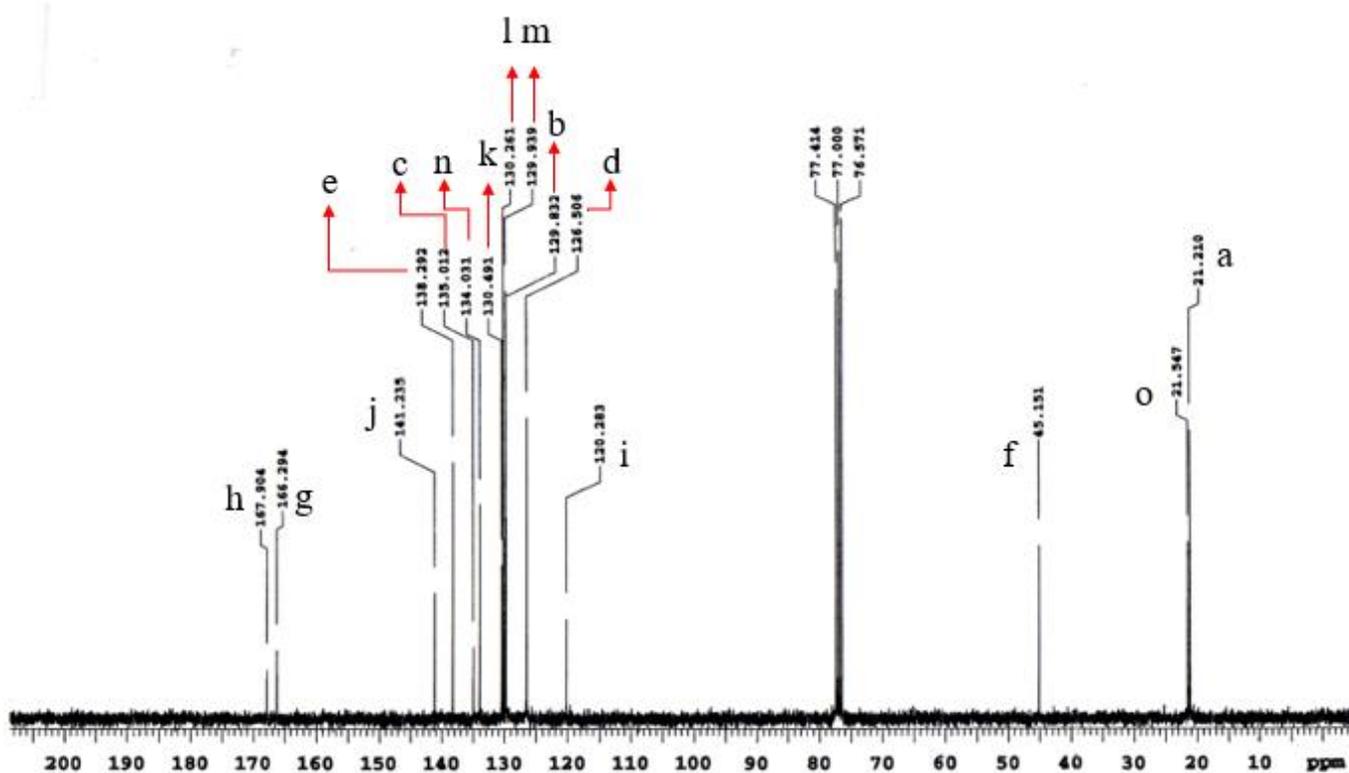
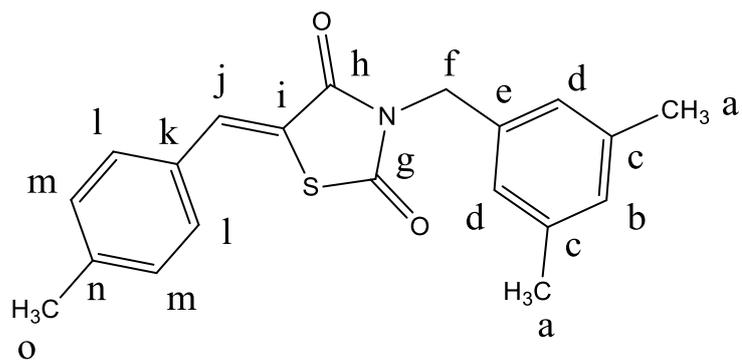


Figura 19 Espectro de RMN ^{13}C do LPSF/JB-2

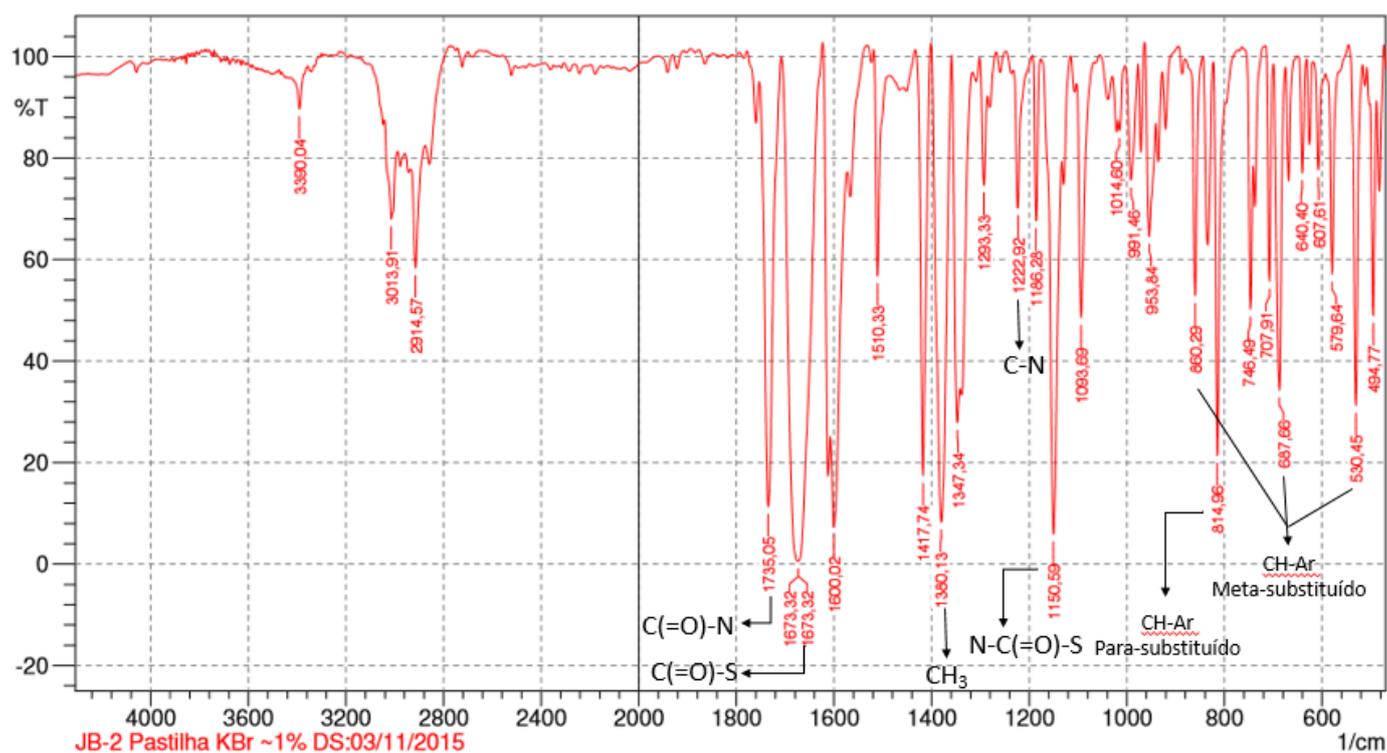
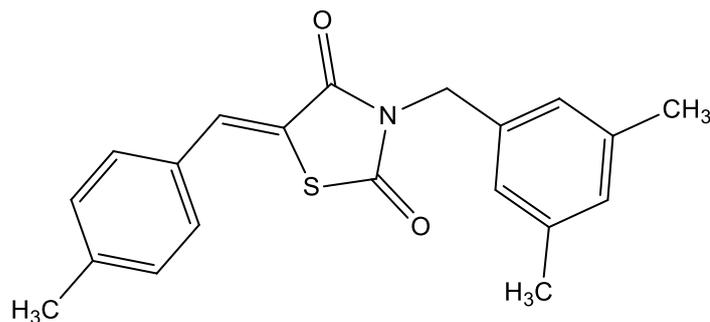
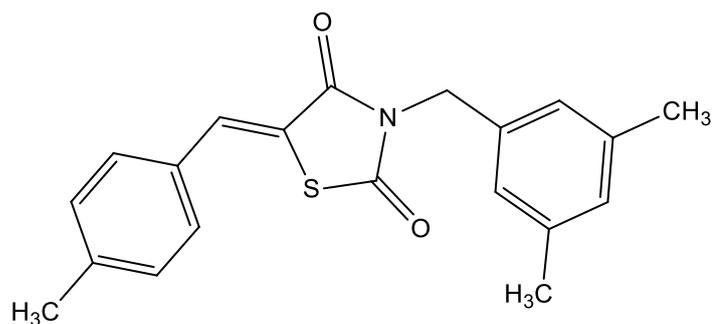


Figura 20 Espectro de IR do LPSF/JB-2. Deformação axial de CH de aromático, 3013 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila C(=O)-N do anel Tiazolidínico, 1735 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila C(=O)-S, 1673 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH₃, 1380 cm^{-1} ; Deformação axial C-N, 1222 cm^{-1} ; Deformação angular da carbonila N-C(=O)-S, 1150 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 814 cm^{-1} (anel *para*-substituído) e 860, 746, 687 cm^{-1} (anel *meta*-substituído).



Line#: 1 R.Time: 21.8 (Scan#: 1951)

Raw Mode: Single 21.8 (1951) Base Peak: 119 (741348)

BG Mode: 19.9 (1733) Group 1 - Event 1

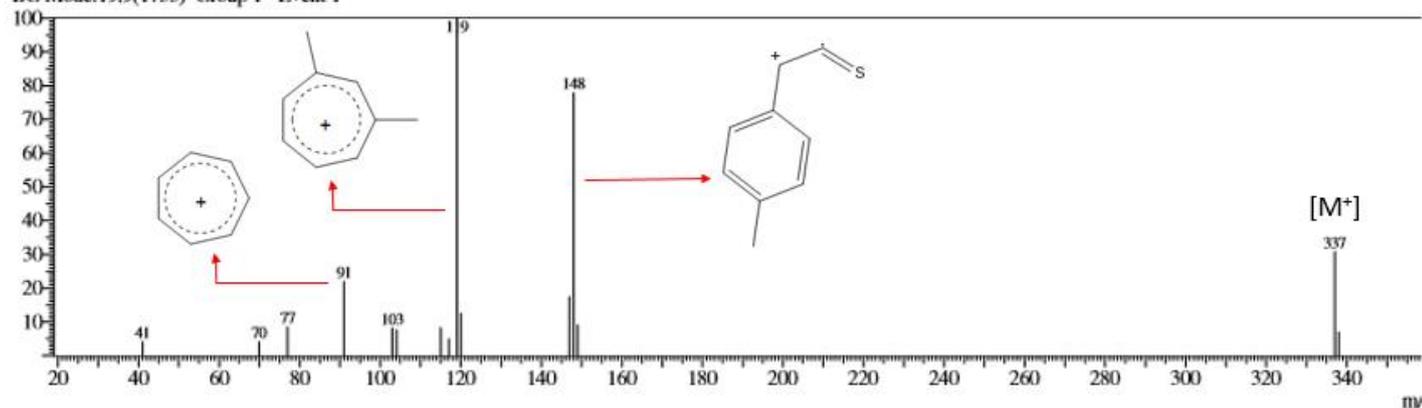
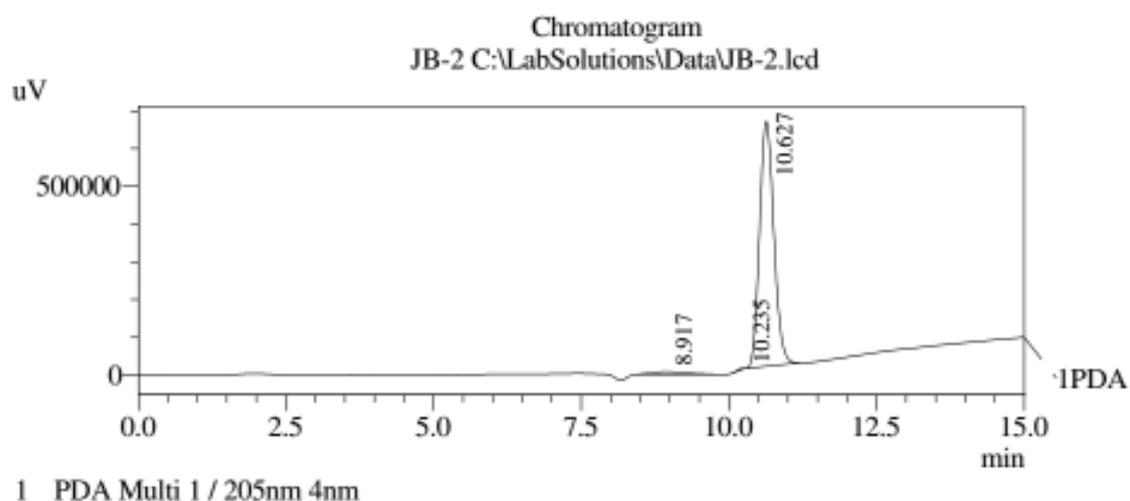
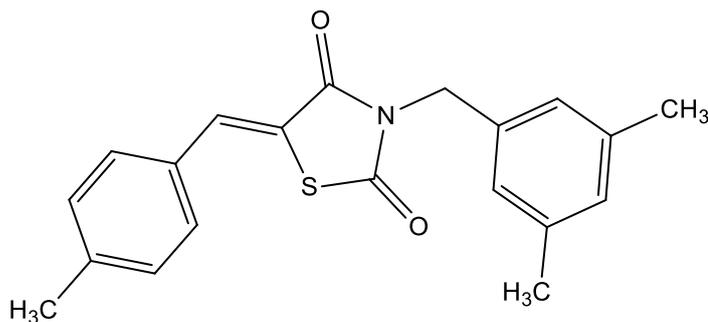


Figura 21 Espectro de Massas do LPSF/JB-2 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 337 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M^+) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 119 m/z (100%), 148 m/z (78%) e 91 m/z (22%).



PeakTable

PDA Ch1 205nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.917	290785	7551	2.585	1.146
2	10.235	30475	2478	0.271	0.376
3	10.627	10927581	648618	97.144	98.477
Total		11248841	658647	100.000	100.000

Figura 22 Cromatograma do LPSF/JB-2 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 97,14%, de acordo com a área do pico.

3-(3,5-dimetilbenzil)-5-(4-hidroxibenzilideno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-3)

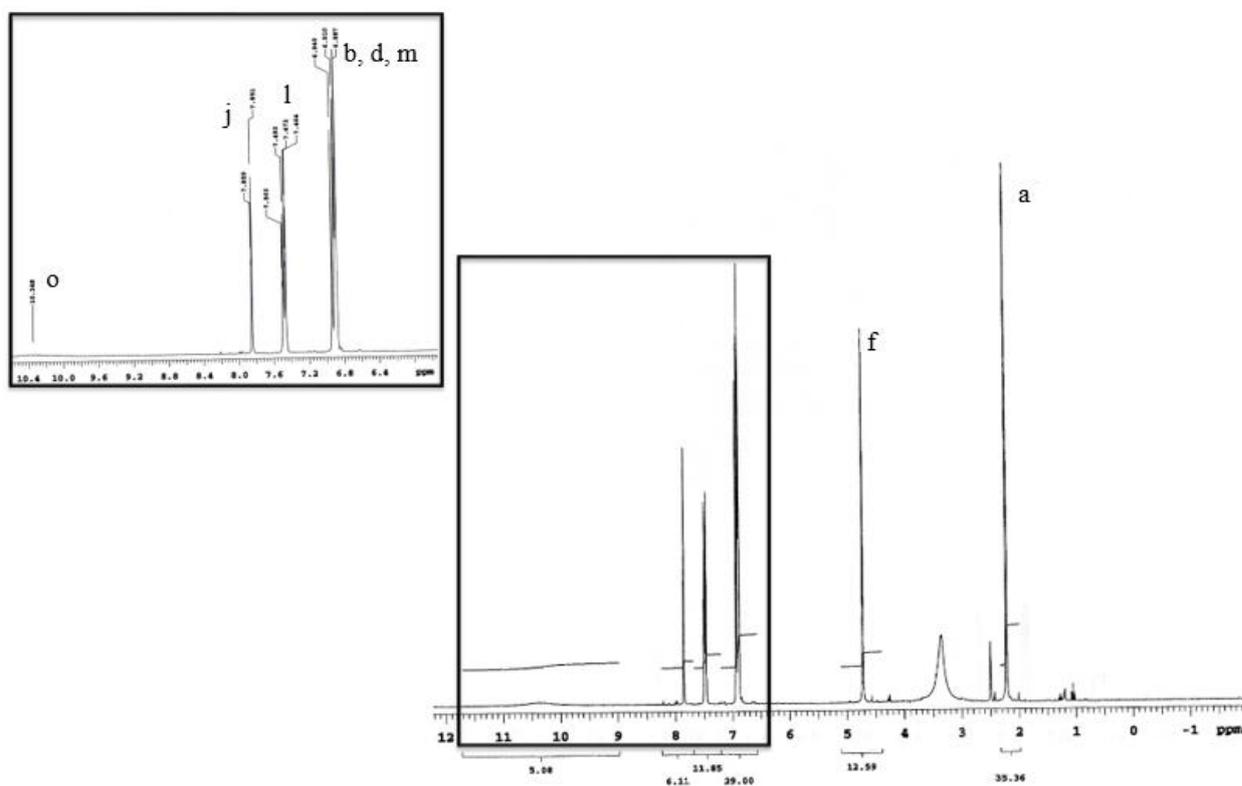
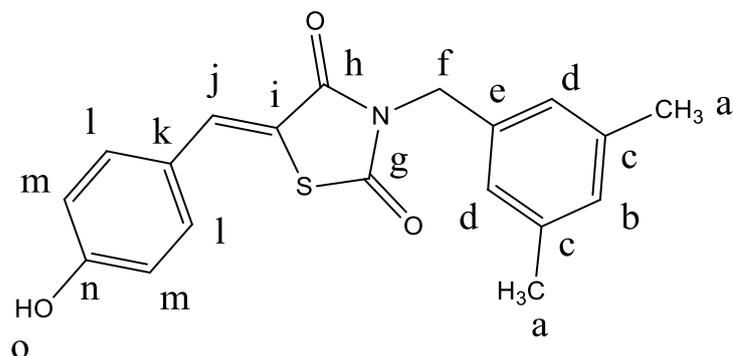


Figura 23 Espectro de RMN ¹H do LPSF/JB-3

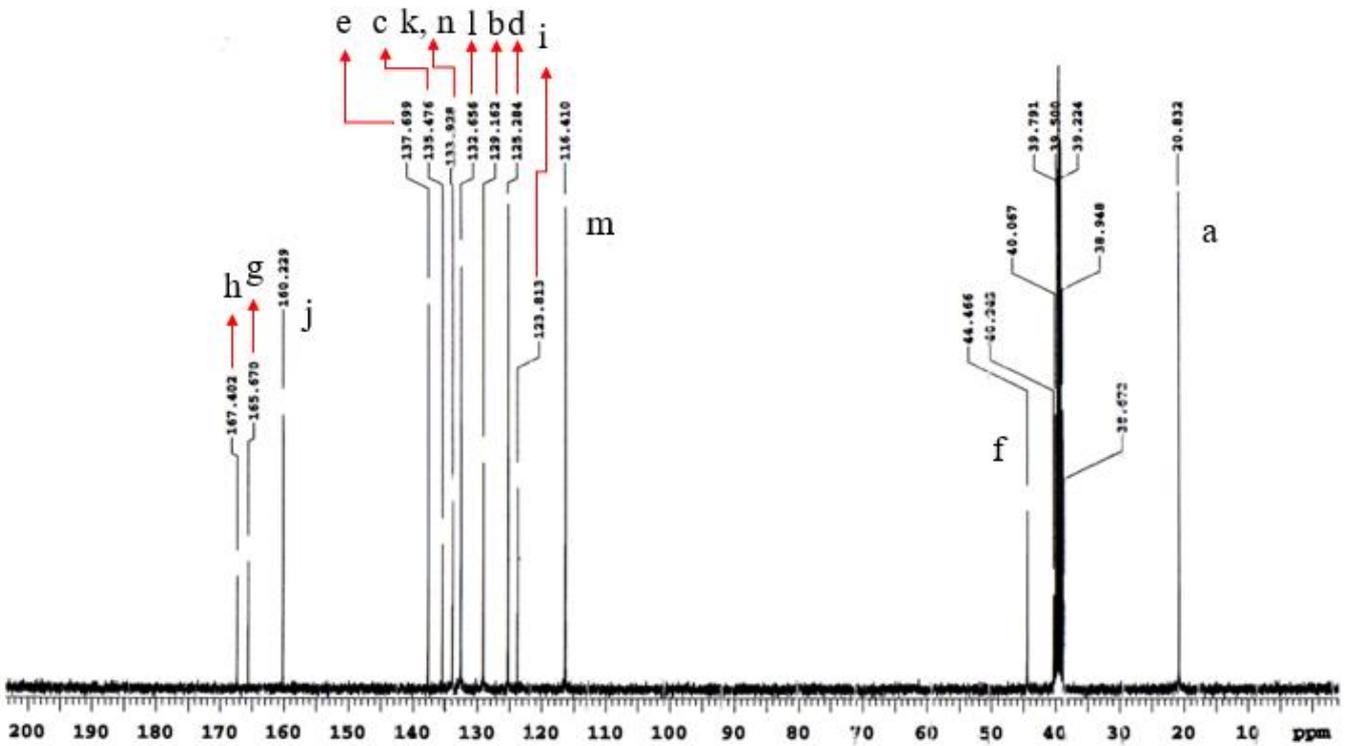
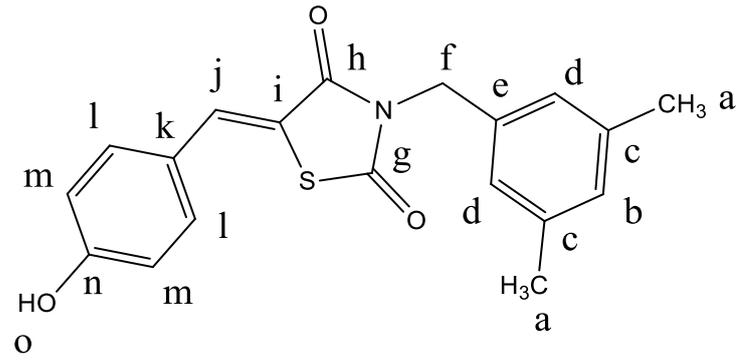


Figura 24 Espectro de RMN ^{13}C do LPSF/JB-3

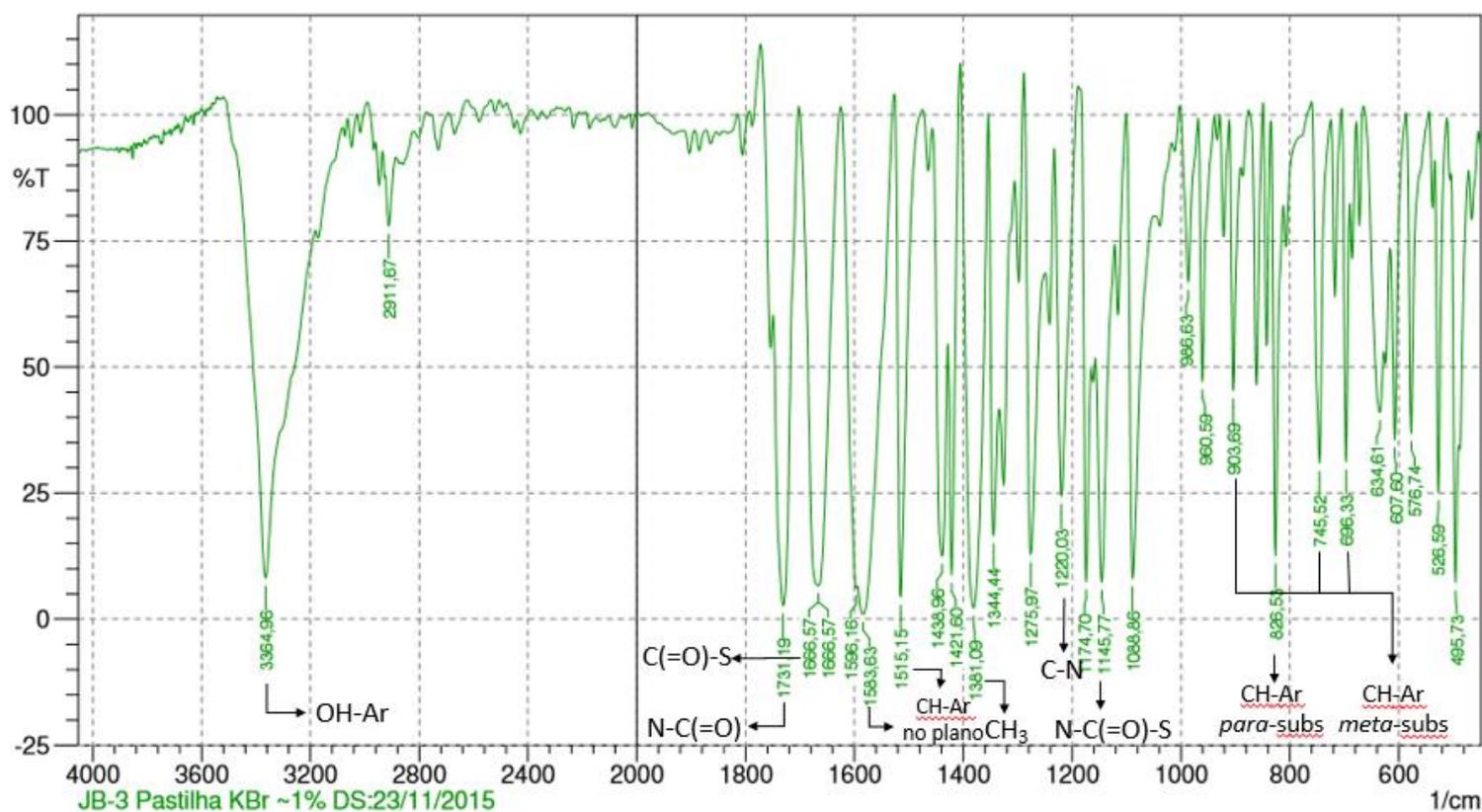
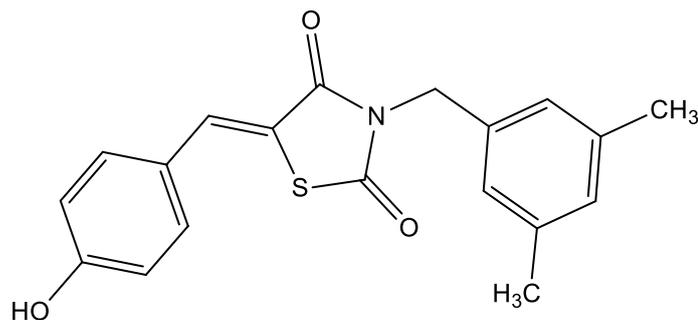
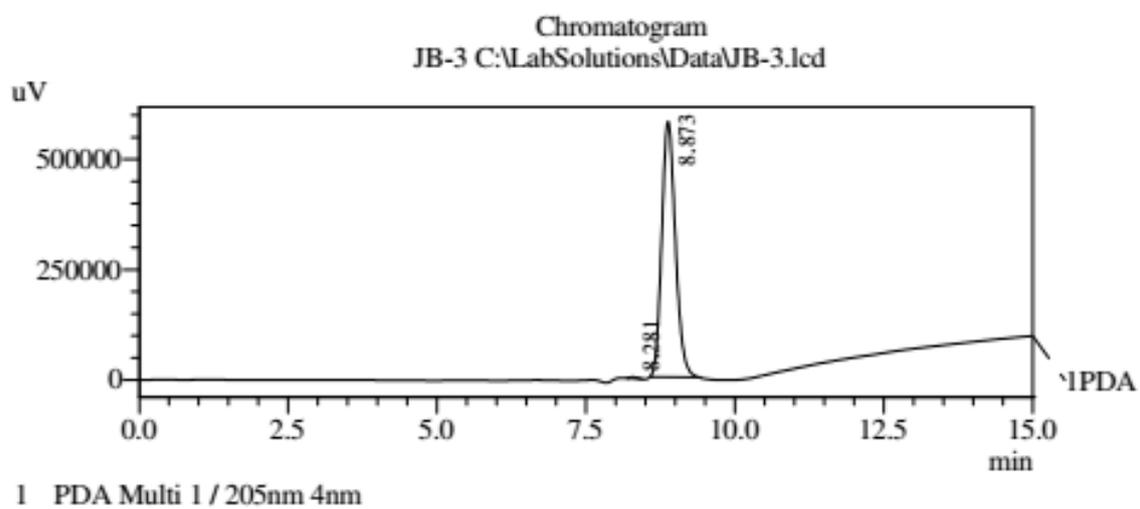
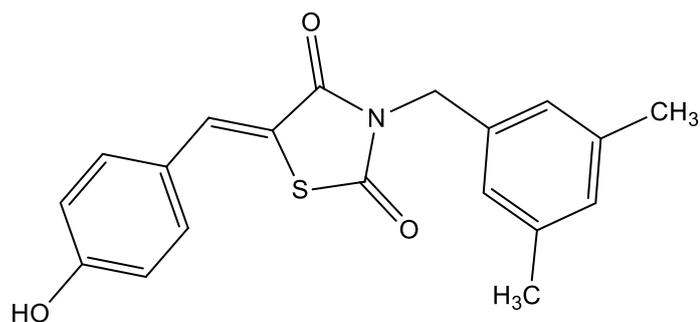


Figura 25 Espectro de IR do LPSF/JB-3. Deformação axial de OH de fenol, 3364 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila C(=O)-N do anel Tiazolidínico, 1731 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila C(=O)-S, 1666 cm^{-1} ; Deformação axial de CH de aromático dissustituído, 1583 e 1515 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH₃, 1381 cm^{-1} ; Deformação axial C-N, 1220 cm^{-1} ; Deformação angular da carbonila N-C(=O)-S, 1141 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 826 cm^{-1} (anel *para*-substituído) e 903 , 745 , 696 cm^{-1} (anel *meta*-substituído).



PeakTable

PDA Ch1 205nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	8.281	23172	2753	0.249	0.473
2	8.873	9267802	578693	99.751	99.527
Total		9290973	581445	100.000	100.000

Figura 26 Cromatograma do LPSF/JB-3 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 99,75%, de acordo com a área do pico.

5-(4-clorobenzilideno)-3-(3,5-dimetilbenzil)thiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-4)

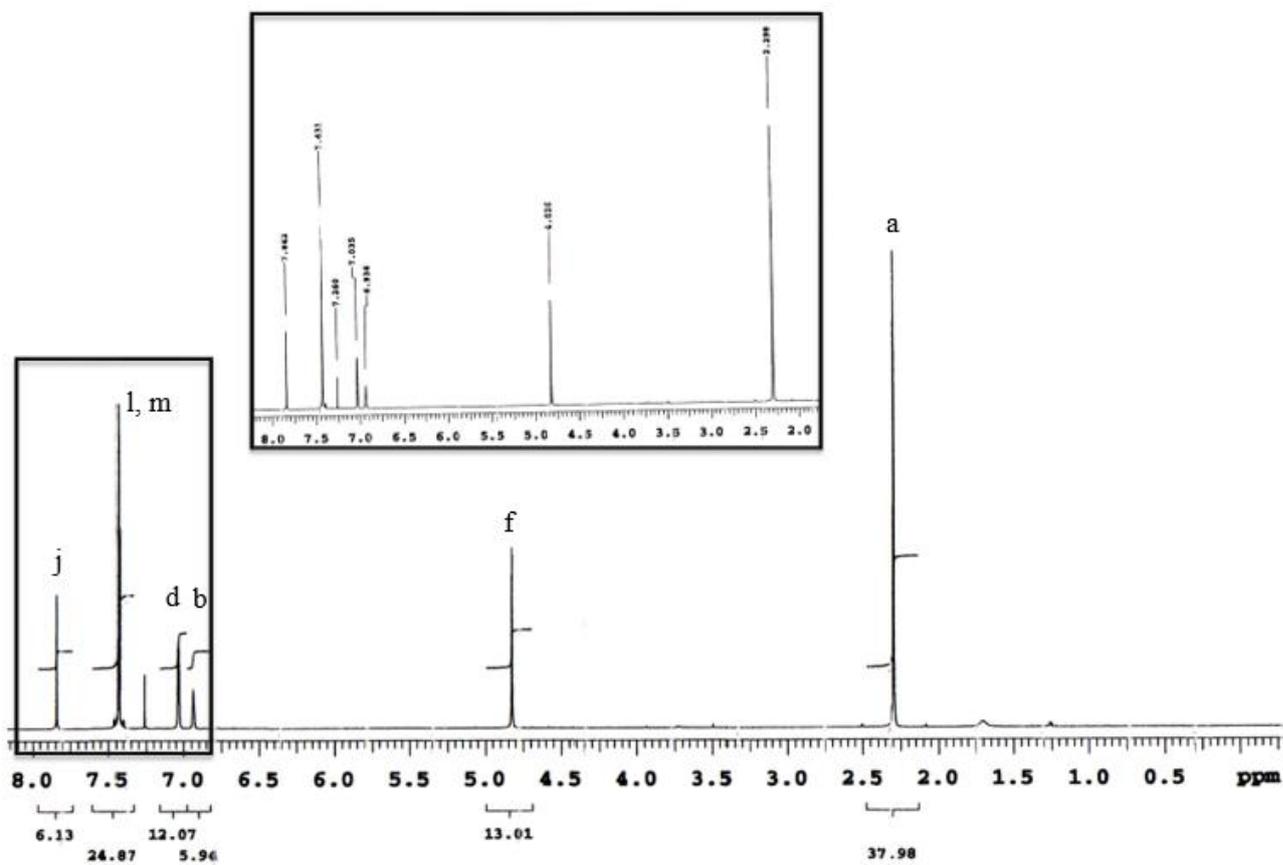
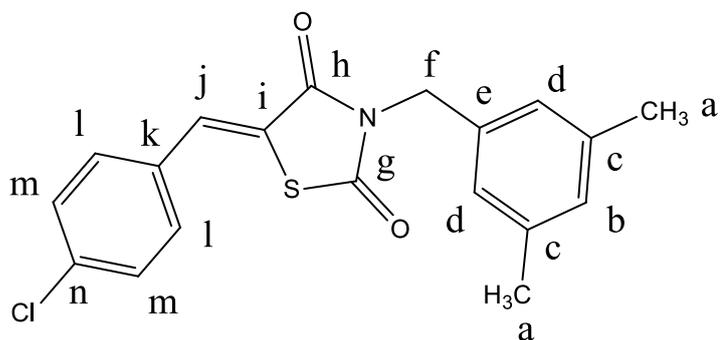


Figura 27 Espectro de RMN ¹H do LPSF/JB-4

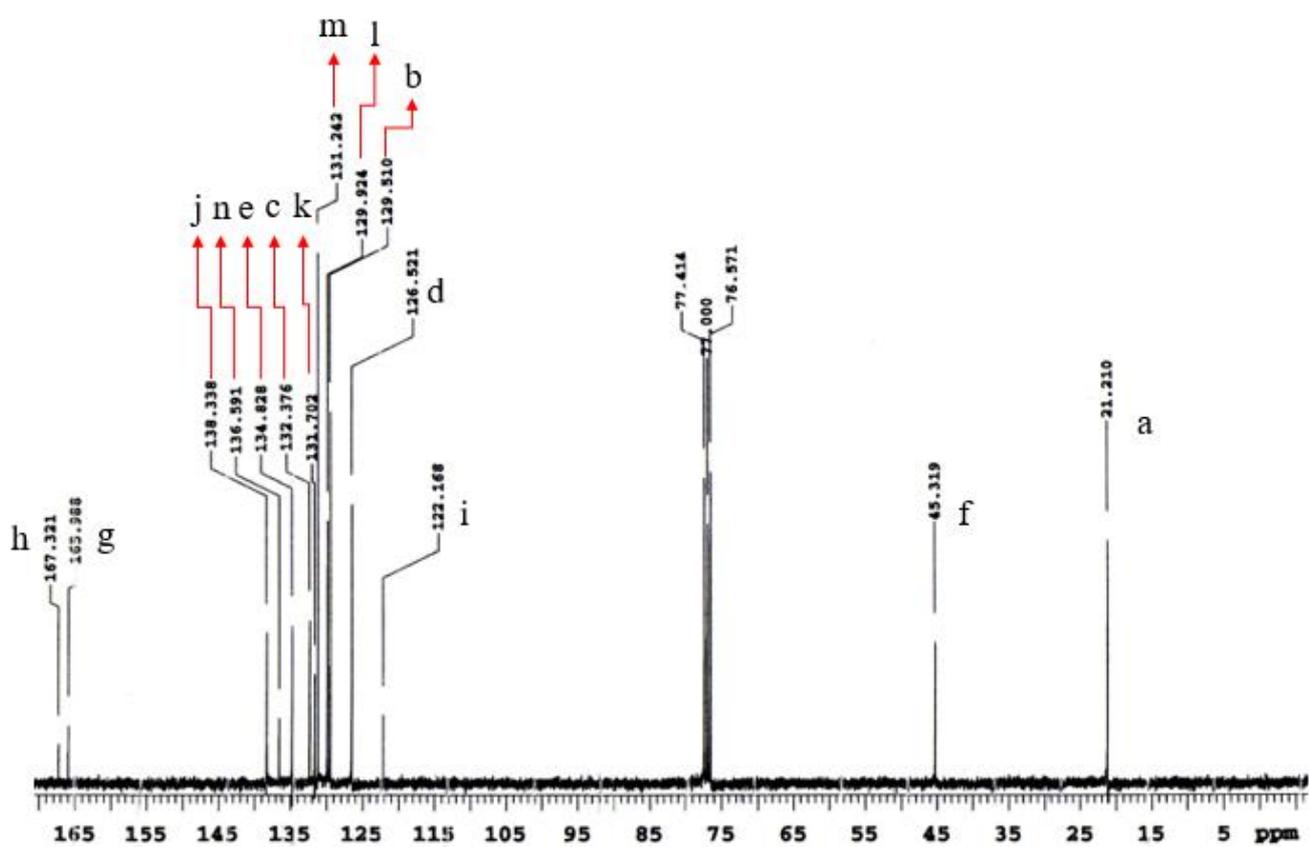
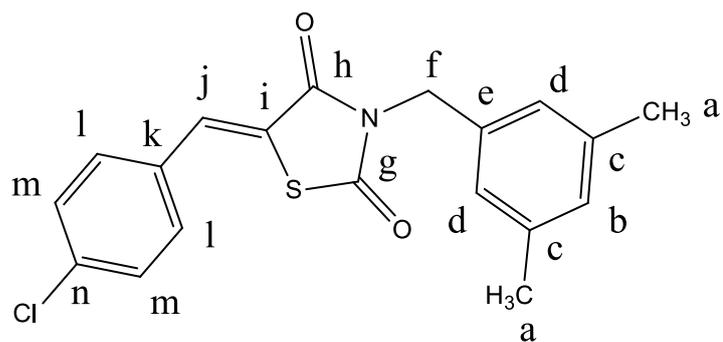


Figura 28 Espectro de RMN ^{13}C do LPSF/JB-4

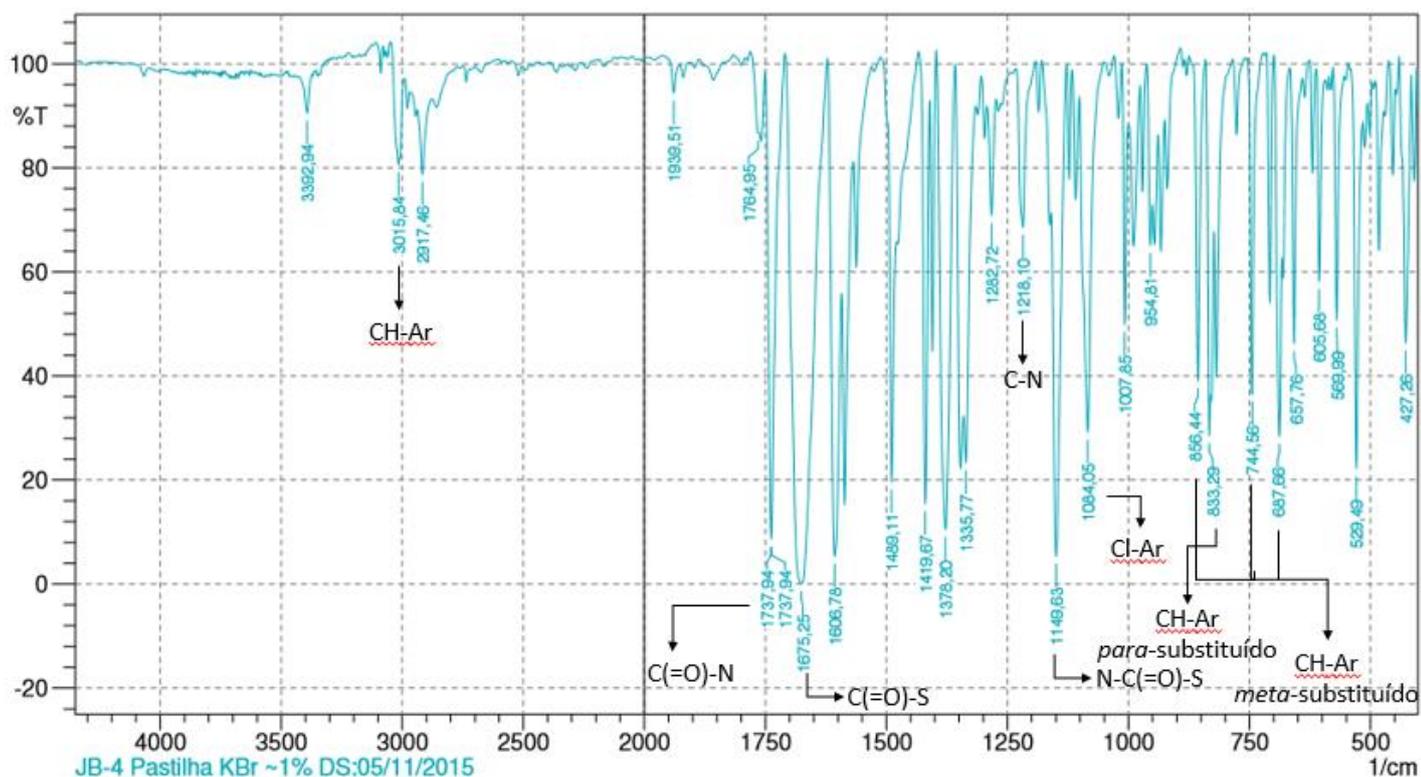
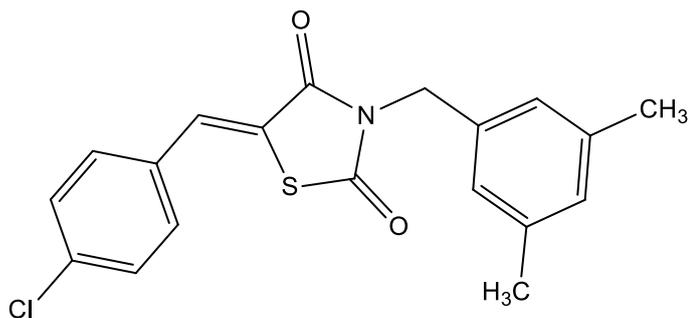
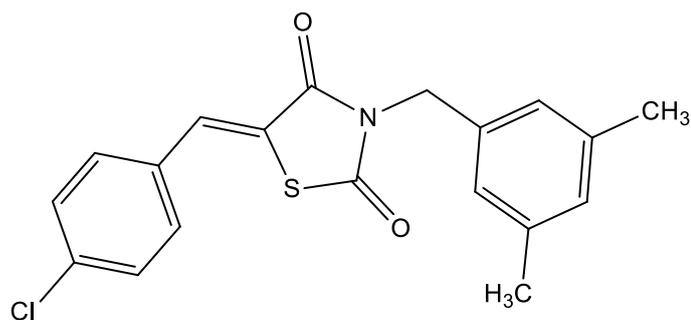


Figura 29 Espectro de IR do LPSF/JB-4. Deformação axial de CH de aromático, 3015 cm⁻¹; Deformação axial da carbonila C(=O)-N do anel Tiazolidínico, 1737 cm⁻¹; Deformação axial da carbonila C(=O)-S do anel Tiazolidínico, 1675 cm⁻¹; Deformação angular simétrica de CH₃, 1378 cm⁻¹; Deformação axial C-N, 1218 cm⁻¹; Deformação angular da carbonila N-C(=O)-S do anel Tiazolidínico, 1149 cm⁻¹ Deformação axial da ligação Clorobenzil (Cl-Ar), 1084 cm⁻¹; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 833 cm⁻¹ (anel *para*-substituído) e 856, 744, 687 cm⁻¹ (anel *meta*-substituído).



Line#:1 R.Time:23.3(Scan#:2133)

RawMode:Single 23.3(2133) BasePeak:119(1767141)

BG Mode:24.1(2228) Group 1 - Event 1

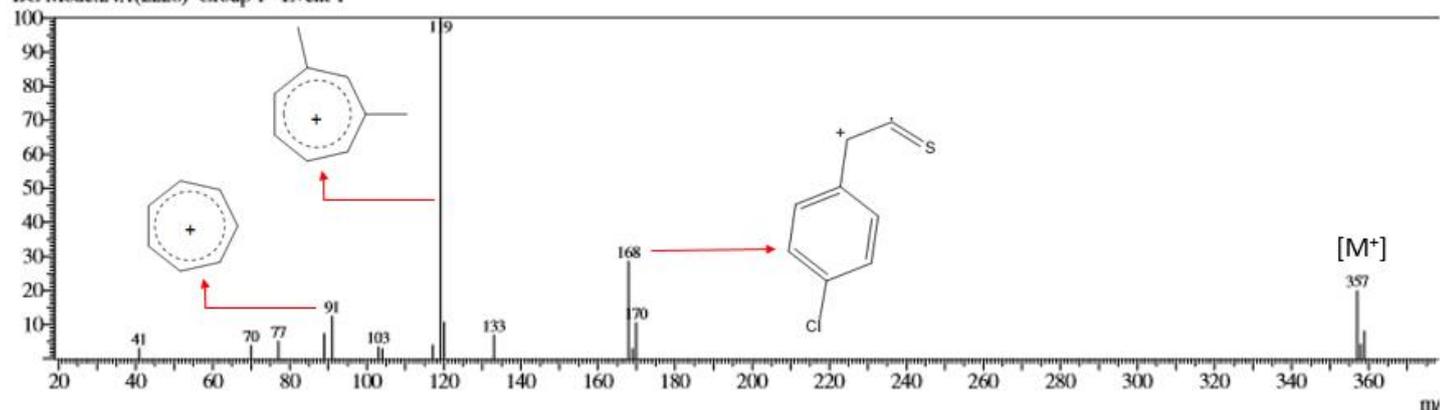
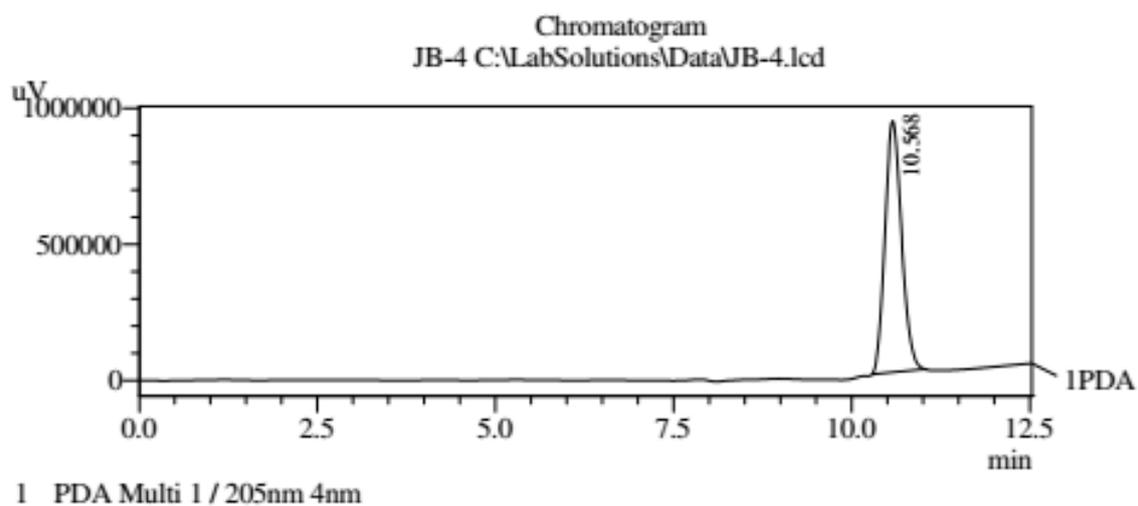
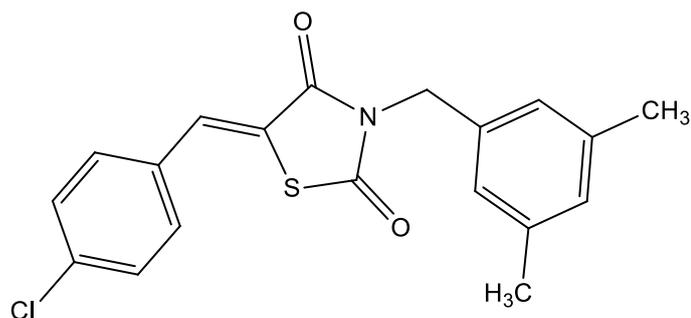


Figura 30 Espectro de Massas do LPSF/JB-4 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 357 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M^+) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 119 m/z (100%), 359 m/z (8%) (referente à molécula contendo o isótopo ^{37}Cl), 170 m/z (10%), 168 m/z (28%) e 91 m/z (12%).



PeakTable

PDA Ch1 205nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	10.568	14982693	923433	100.000	100.000
Total		14982693	923433	100.000	100.000

Figura 31 Cromatograma do LPSF/JB-4 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 100%, de acordo com a área do pico.

5-(4-bromobenzilideno)-3-(3,5-dimetilbenzil)thiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-5)

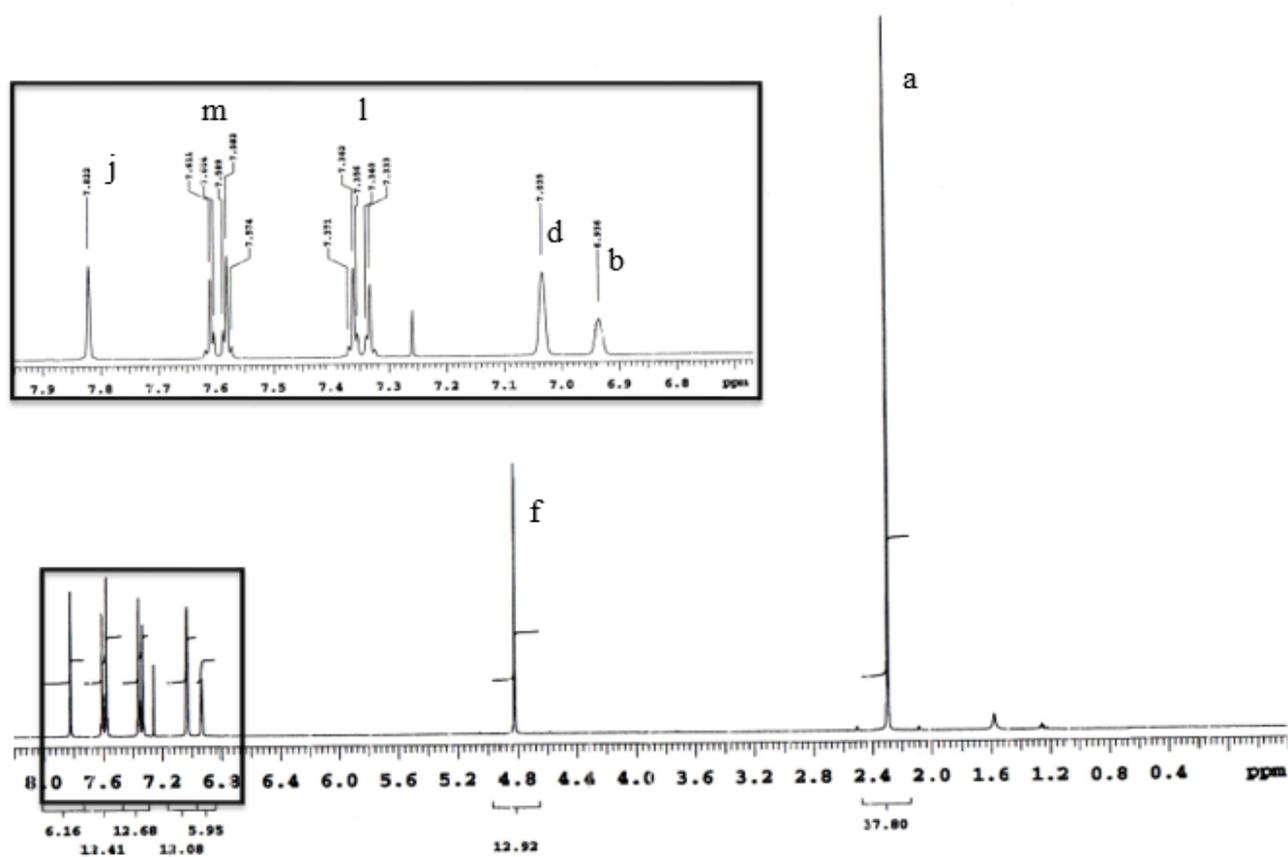
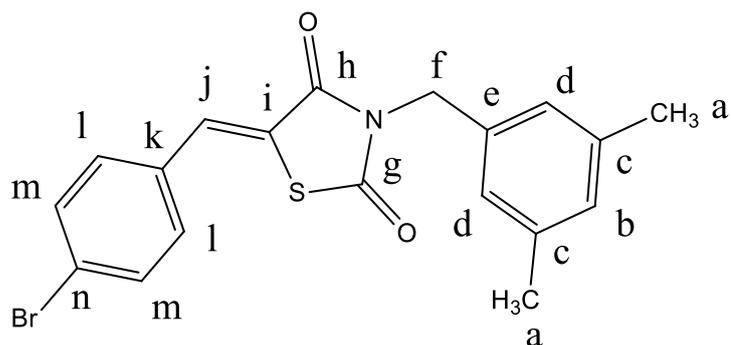


Figura 32 Espectro de RMN ¹H do LPSF/JB-5

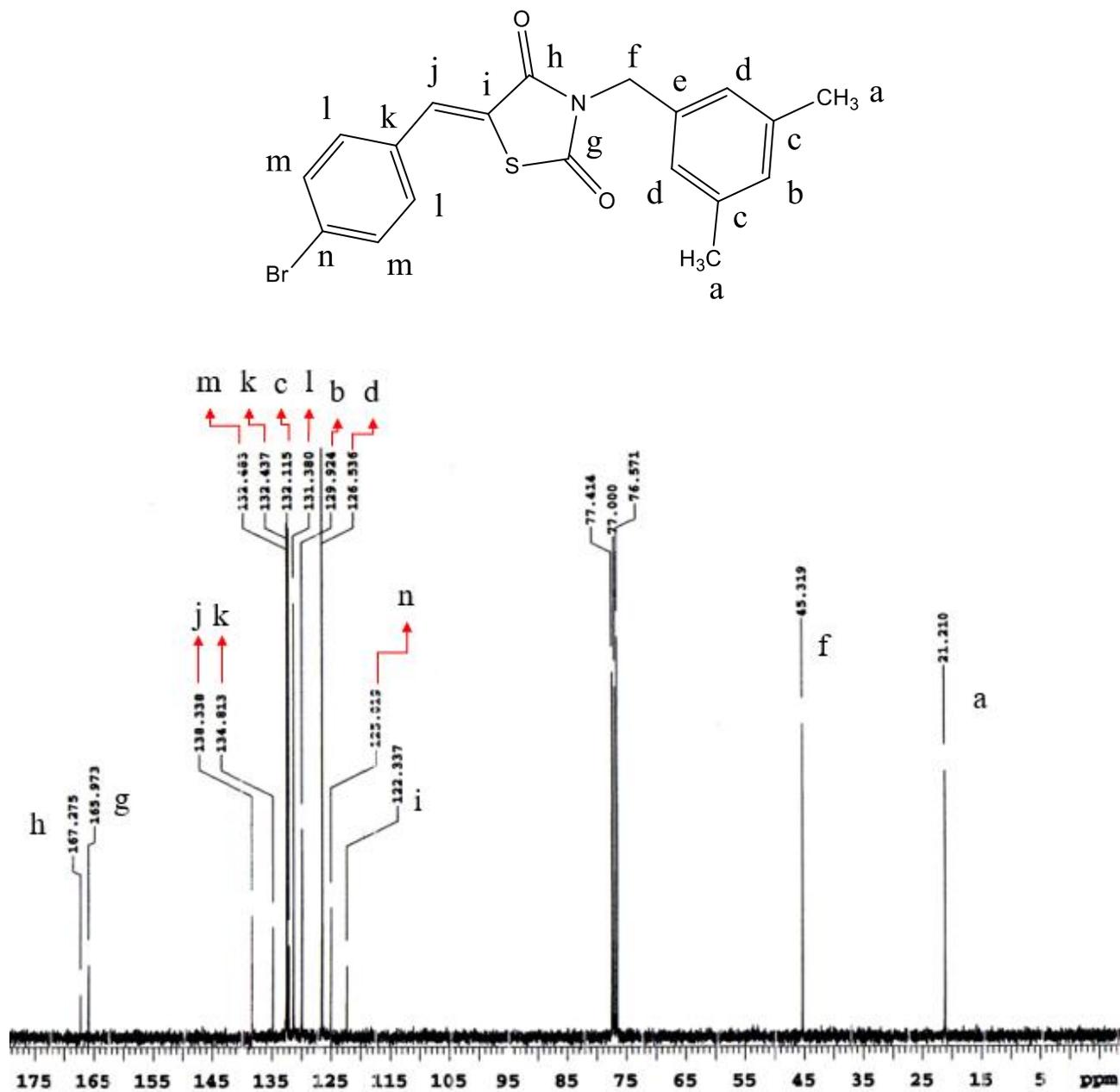


Figura 33 Espectro de RMN ^{13}C do LPSF/JB-5

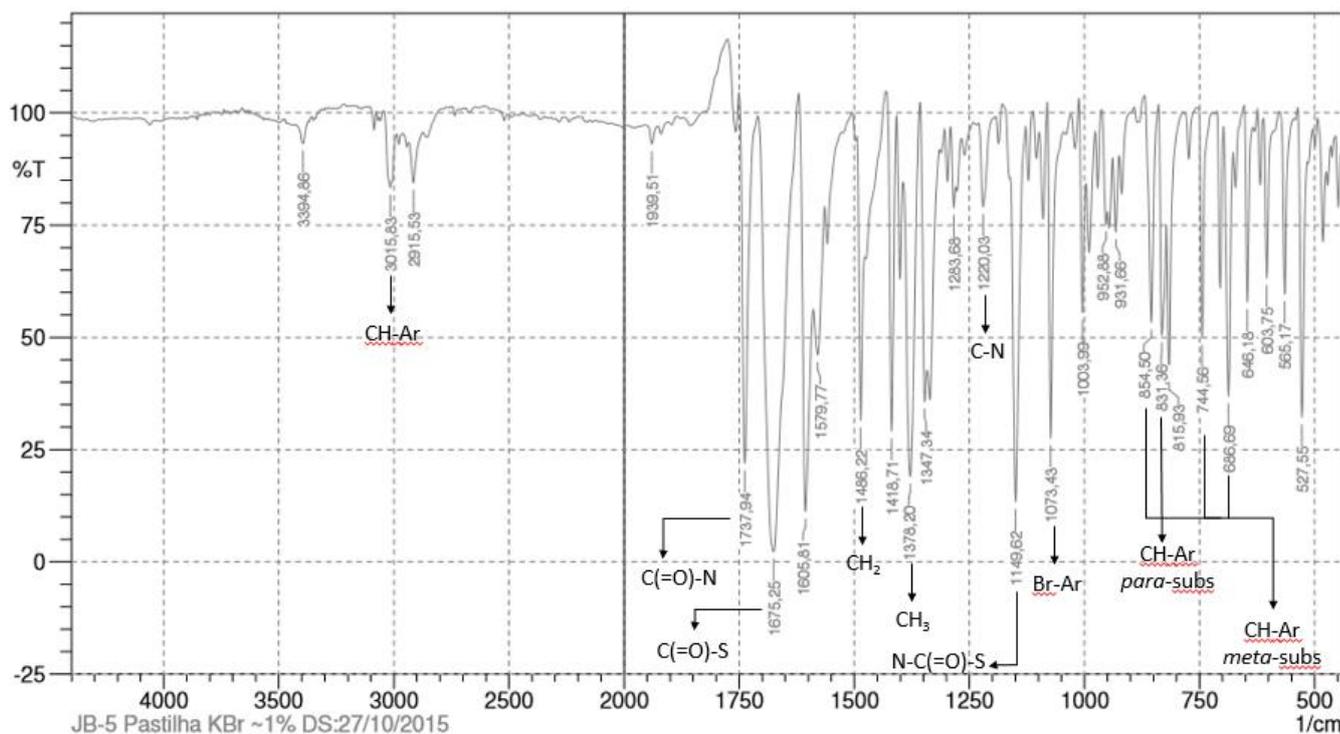
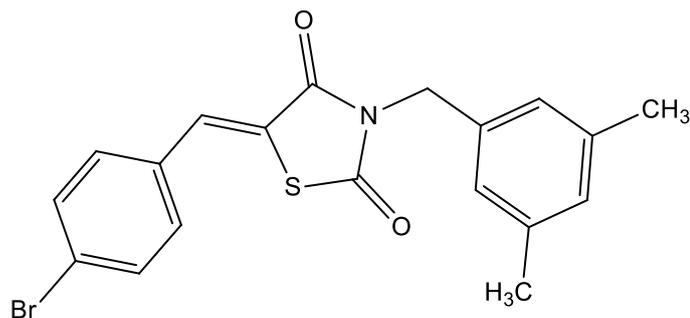
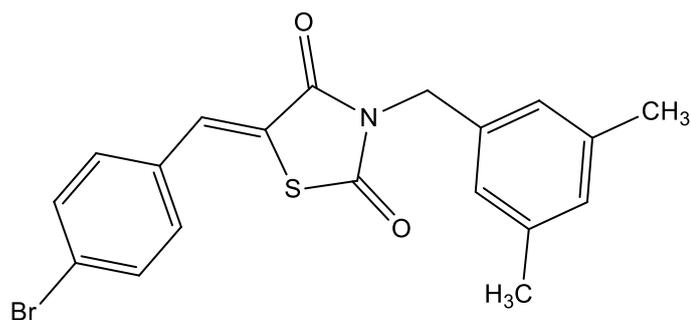


Figura 34 Espectro de IR do LPSF/JB-5. Deformação axial de CH de aromático, 3015 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila C(=O)-N do anel Tiazolidínico, 1737 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila C(=O)-S do anel tiazolidínico, 1675 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH_2 no plano, 1486 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH_3 , 1378 cm^{-1} ; Deformação axial C-N, 1220 cm^{-1} ; Deformação axial da ligação Bromobenzil (Br-Ar), 1073 cm^{-1} ; Deformação angular da carbonila N-C(=O)-S, 1149 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 815 cm^{-1} (anel *para*-substituído) e $854, 744, 686\text{ cm}^{-1}$ (anel *meta*-substituído).



Line#: 1 R:Time:23.2(Scan#:2129)

RawMode:Single 23.2(2129) BasePeak:119(1605305)

BG Mode:22.4(2031) Group 1 - Event 1

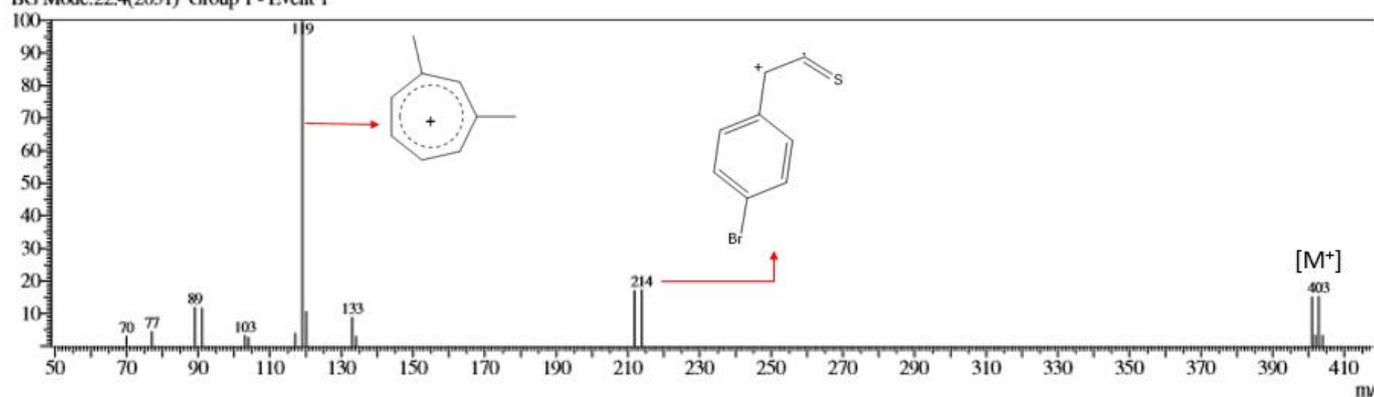
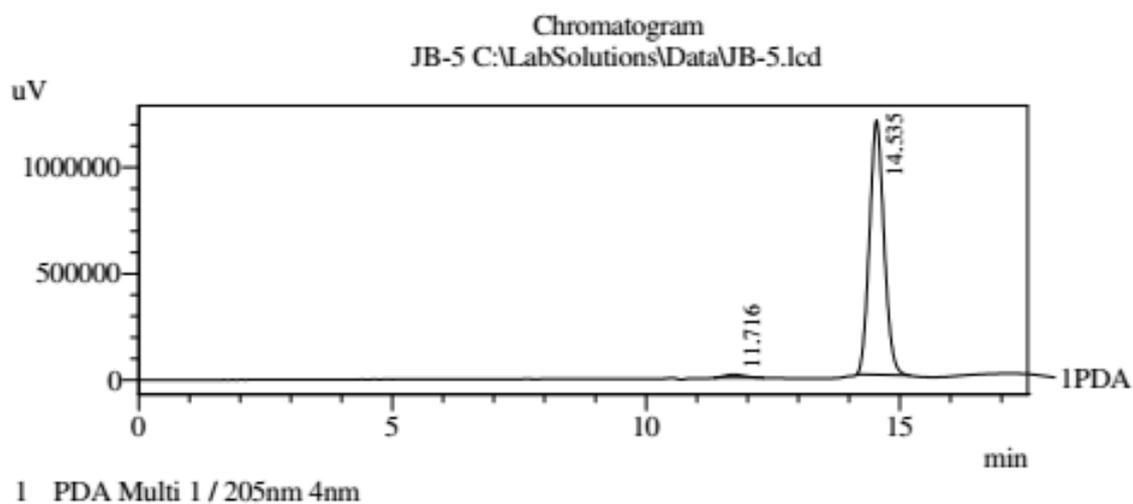
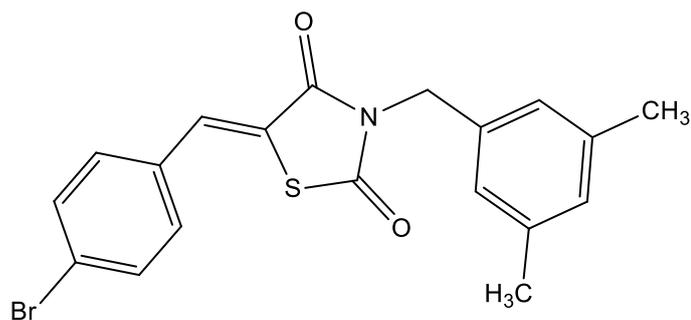


Figura 35 Espectro de Massas do LPSF/JB-5 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 403 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M^+) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 119 m/z (100%), 401 m/z (15%) (correspondendo ao composto contendo o isótopo ^{79}Br), 214 m/z (17%).



PeakTable

PDA Ch1 205nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	11.716	423804	15874	1.748	1.310
2	14.535	23819258	1196093	98.252	98.690
Total		24243062	1211968	100.000	100.000

Figura 36 Cromatograma do LPSF/JB-5 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 98,25%, de acordo com a área do pico.

3-(3,5-dimetilbenzil)-5-(4-metoxibenzilideno)tiiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-6)

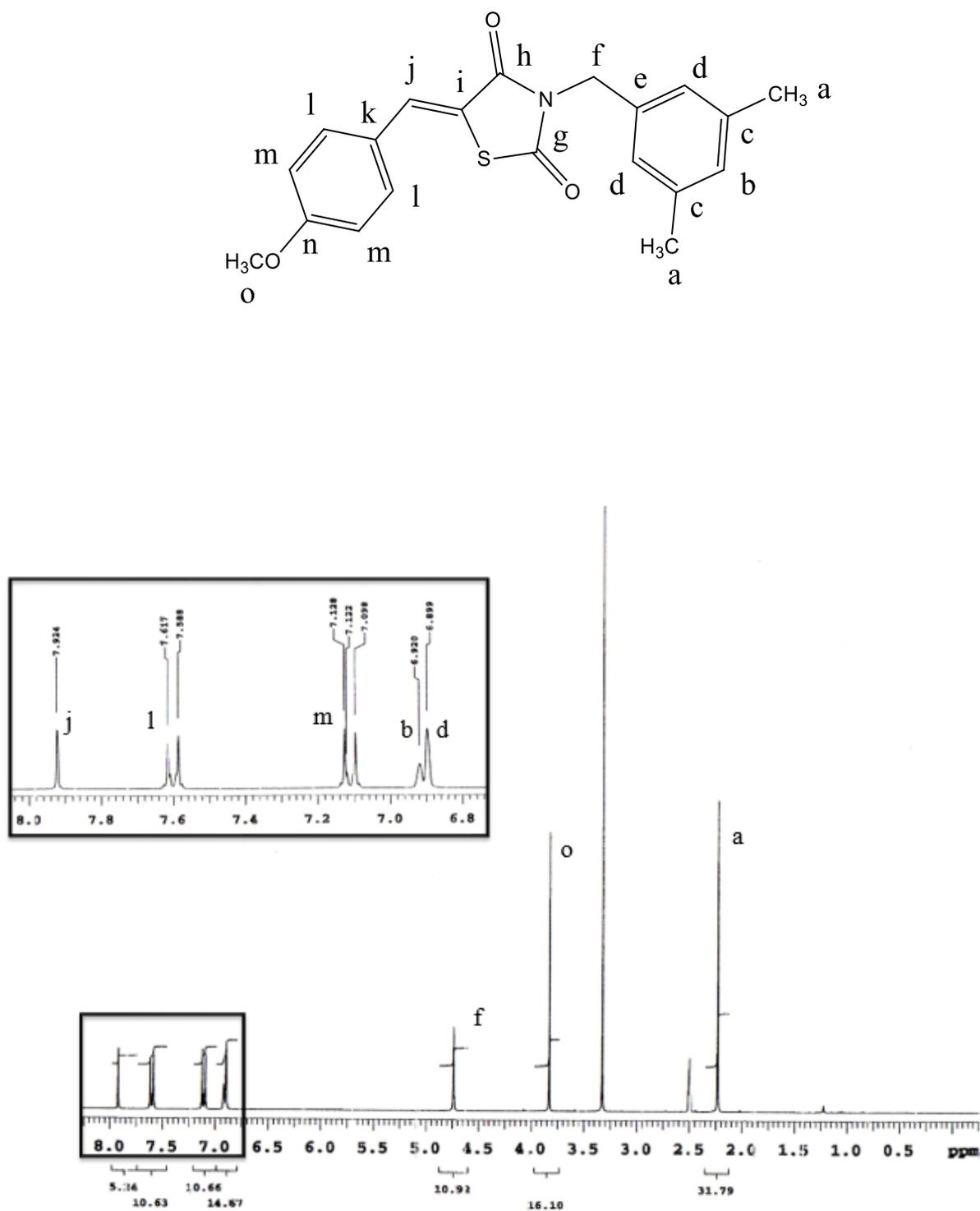


Figura 37 Espectro de RMN ^1H do LPSF/JB-6

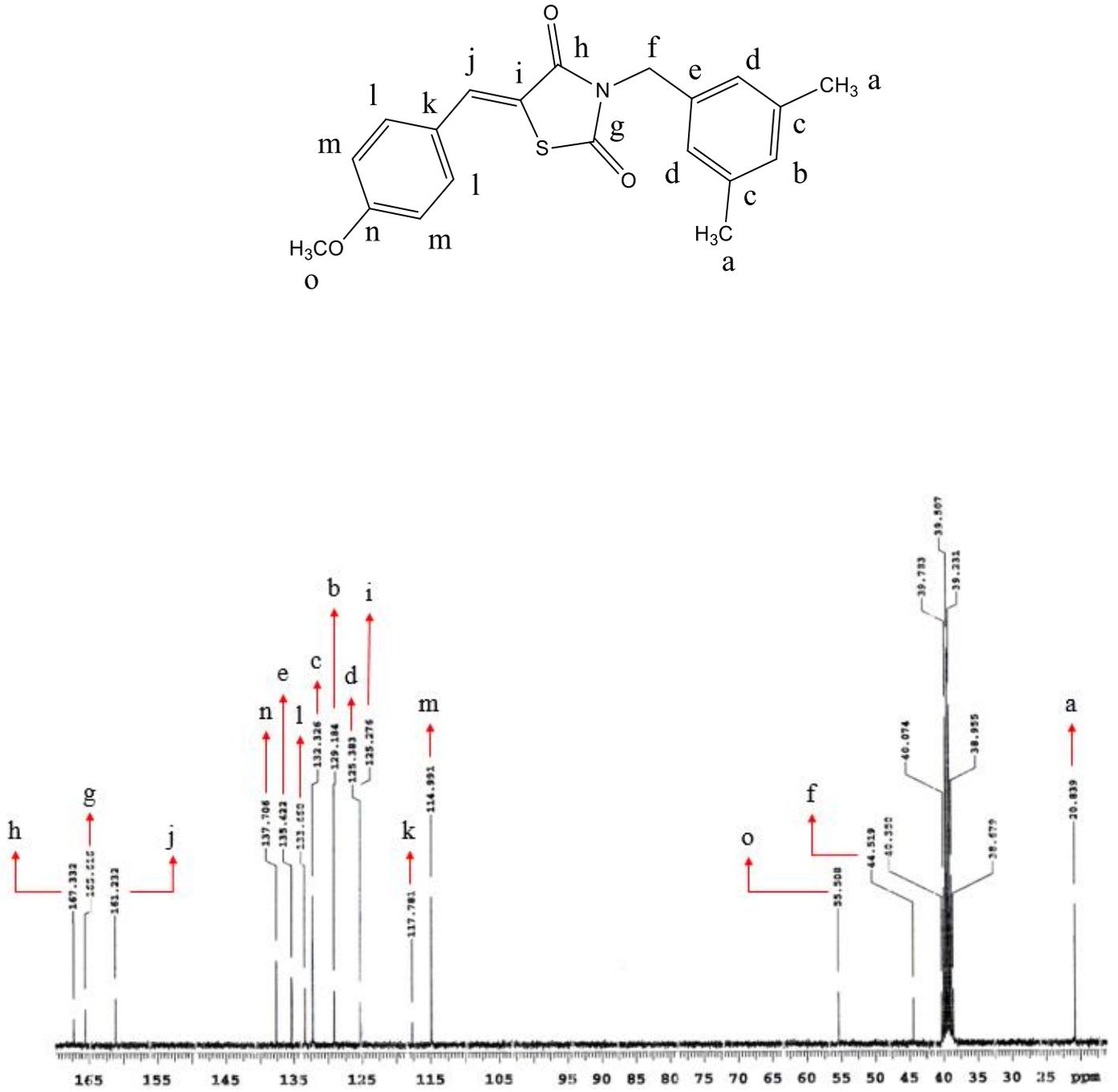


Figura 38 Espectro de RMN ^{13}C do LPSF/JB-6

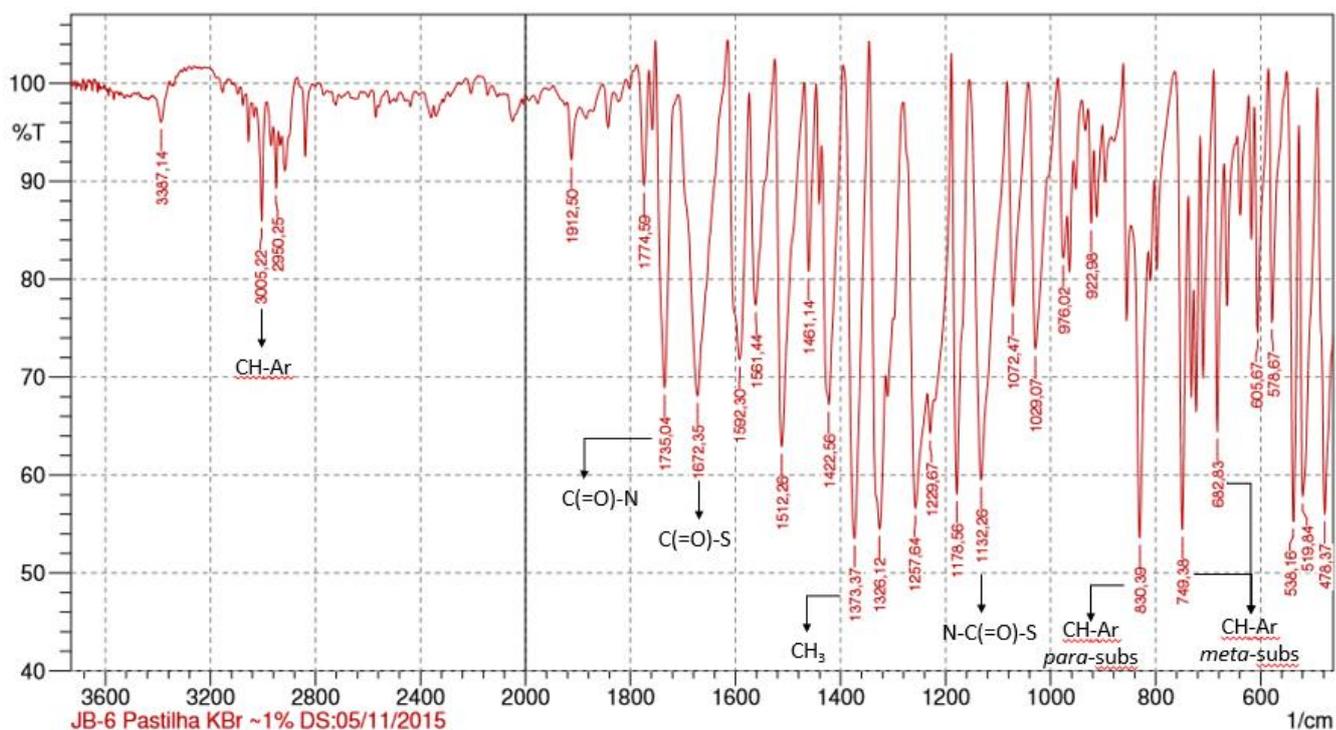
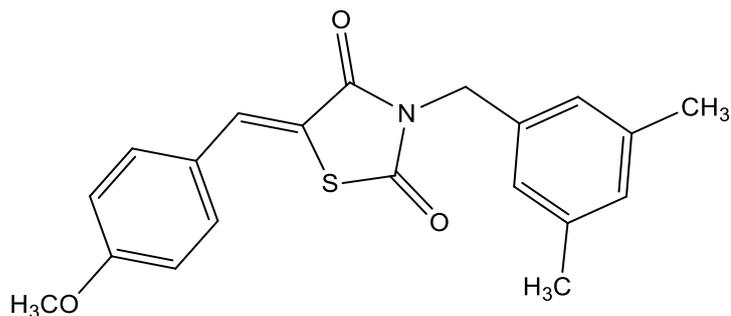
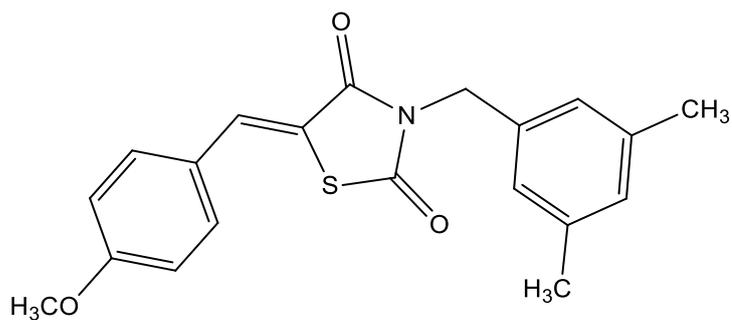


Figura 39 Espectro de IR do LPSF/JB-6. Deformação axial de CH de aromático, 3005 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila N-C(=O) do anel Tiazolidínico, 1735 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila C(=O)-S do anel Tiazolidínico, 1672 cm^{-1} Deformação angular simétrica de CH₂ no plano, 1461 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH₃, 1373 cm^{-1} ; Deformação axial C-N, 1229 cm^{-1} ; Deformação angular da carbonila N-C(=O)-S do anel Tiazolidínico, 1132 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 830 cm^{-1} (anel *para*-substituído) e 749 e 686 cm^{-1} (anel *meta*-substituído), sendo a banda próxima de 880 cm^{-1} sobreposta por outros sinais.



Line#: 1 R.Time:23.2(Scan#:2127)

RawMode:Single 23.2(2127) BasePeak:164(419447)

BG Mode:21.8(1962) Group 1 - Event 1

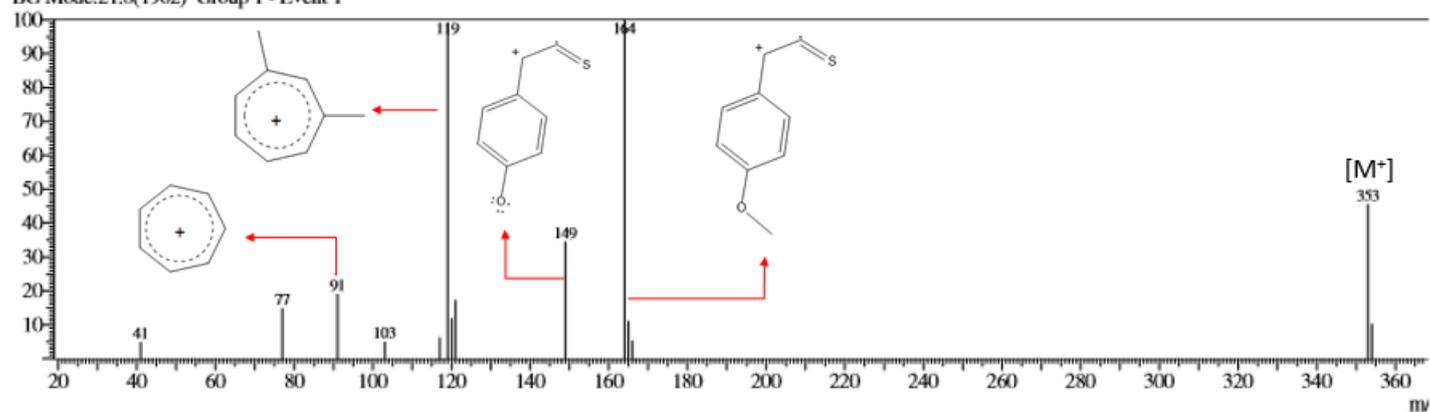
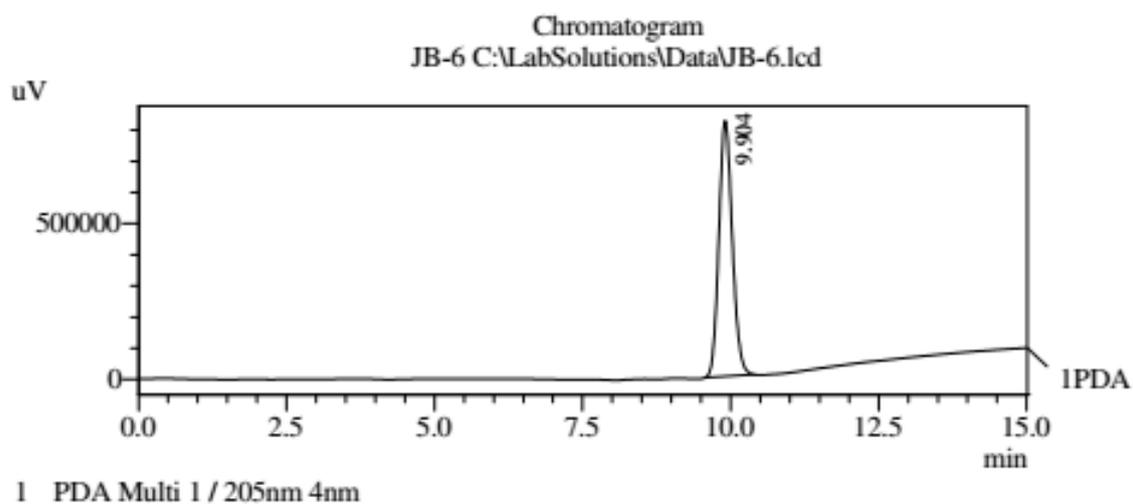
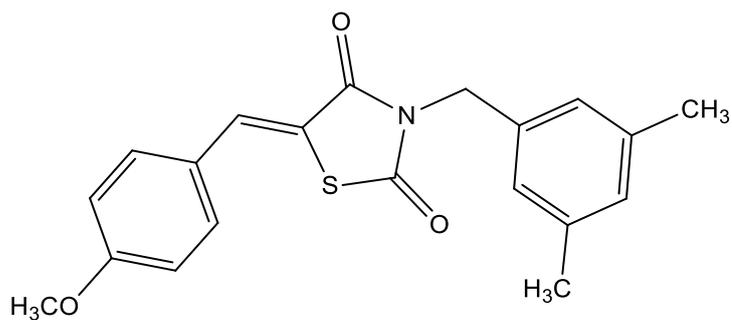


Figura 40 Espectro de Massas do LPSF/JB-6 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 353 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M⁺) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 164 (100%), 149 m/z (34%), 119 m/z (99%) e 91 m/z (18%).



PeakTable

PDA Ch1 205nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
I	9.904	12951159	820841	100.000	100.000
Total		12951159	820841	100.000	100.000

Figura 41 Cromatograma do LPSF/JB-6 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 100%, de acordo com a área do pico.

3-(3,5-dimetilbenzil)-5-(4-(trifluorometoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-7)

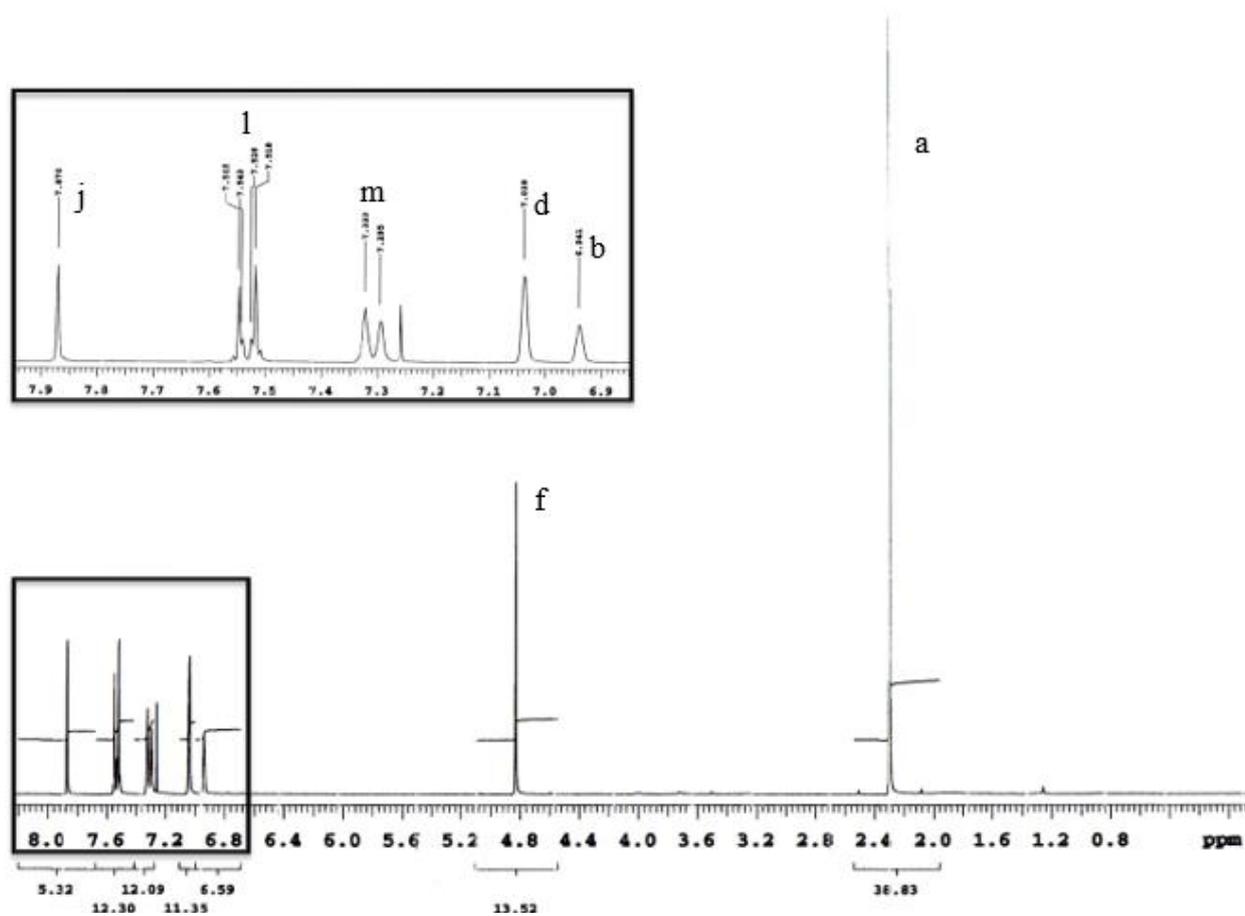
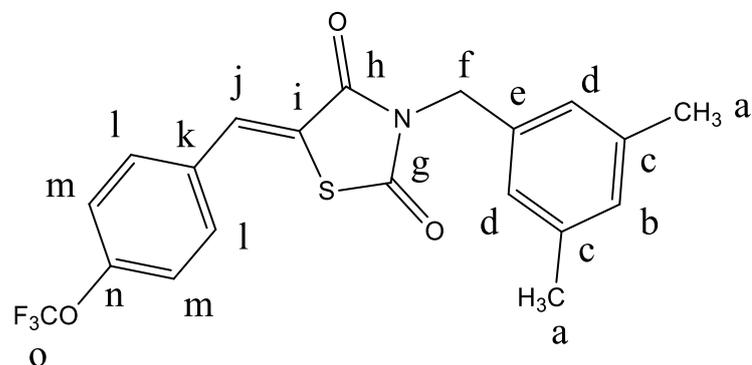


Figura 42 Espectro de RMN ^1H do LPSF/JB-7

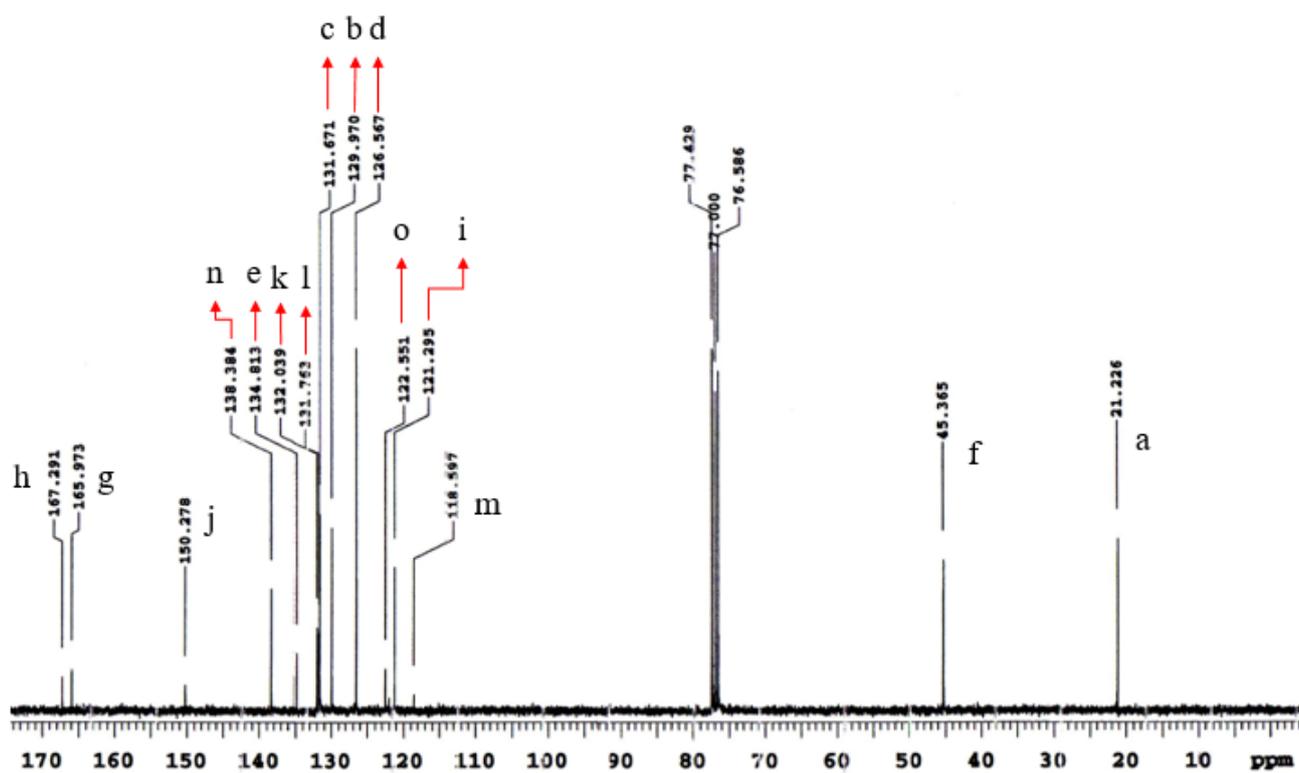
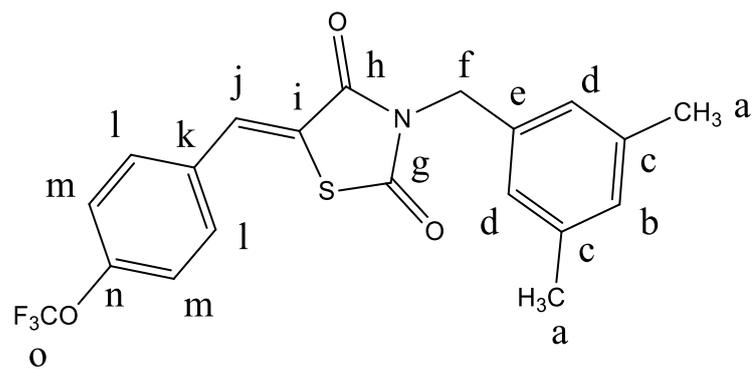


Figura 43 Espectro de RMN ^1H do LPSF/JB-7

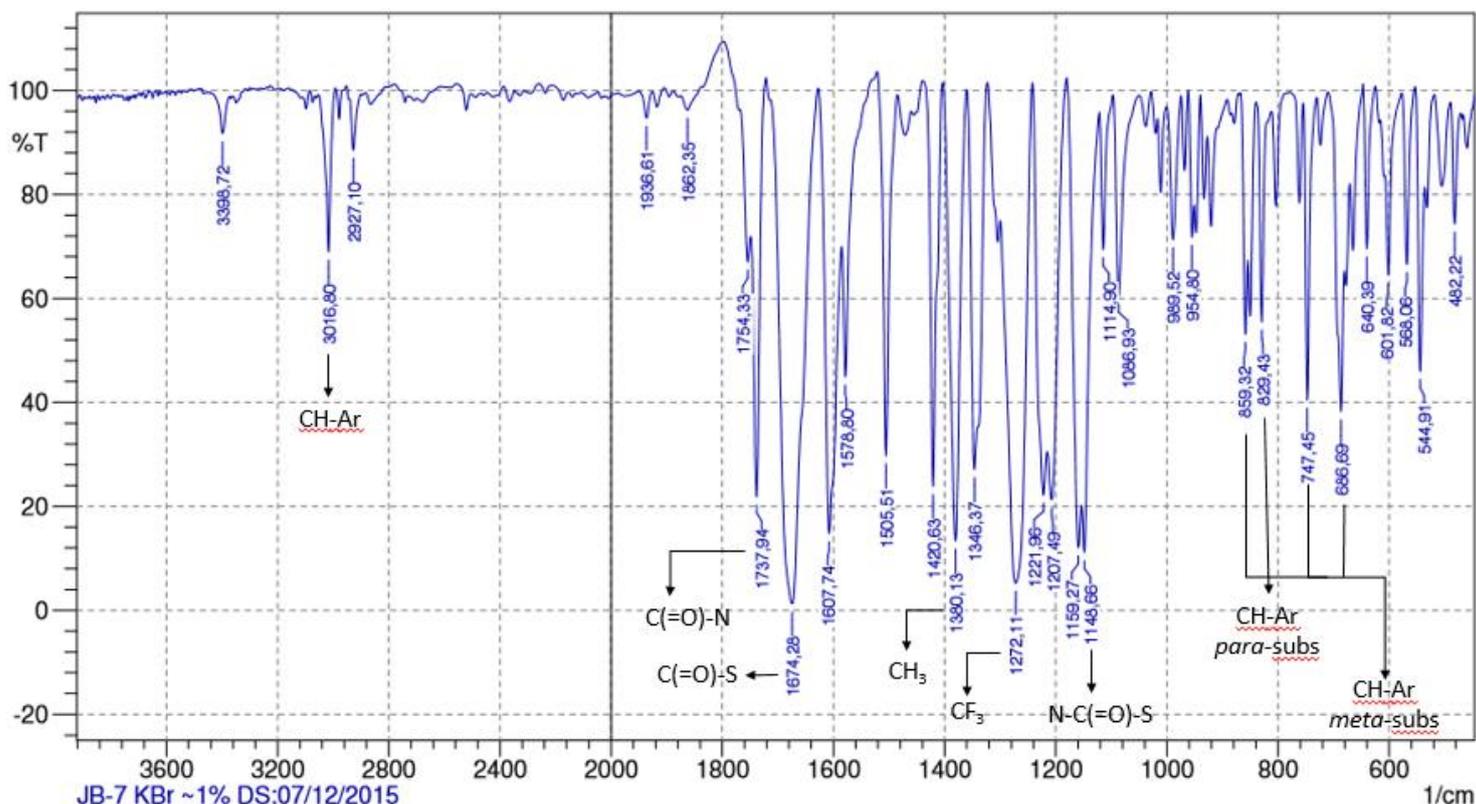
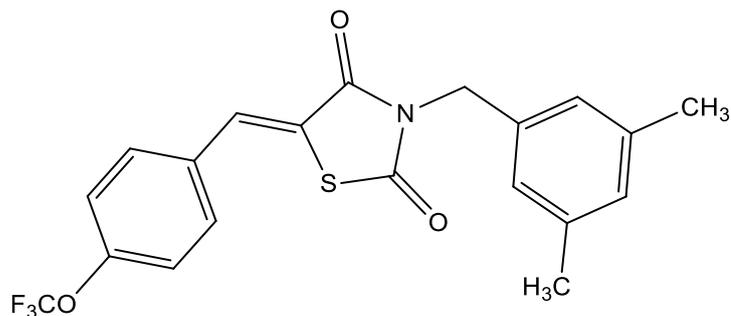
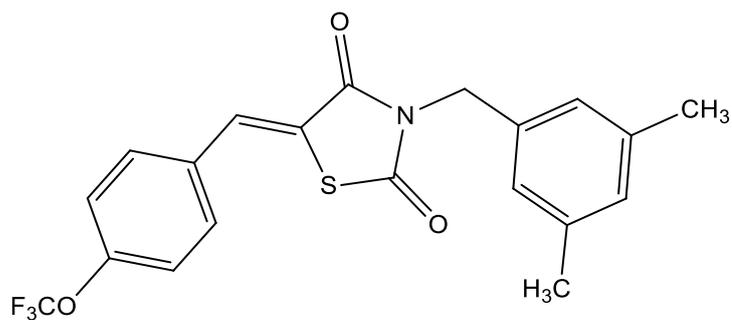


Figura 44 Espectro de IR do LPSF/JB-7. Deformação axial de CH de aromático, 3016 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila C(=O)-N do anel Tiazolidínico, 1737 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila C(=O)-S do anel Tiazolidínico, 1674 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH₃, 1380 cm^{-1} ; Deformação axial de CF₃, 1272 cm^{-1} ; Deformação axial C-N, 1229 cm^{-1} ; Deformação angular da carbonila N-C(=O)-S do anel Tiazolidínico, 1148 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 829 cm^{-1} (anel *para*-substituído) e 859, 747 e 686 cm^{-1} (anel *meta*-substituído).



Line#:1 R.Time:20.1(Scan#:1750)

RawMode:Single 20.1(1750) BasePeak:119(1273129)

BG Mode:18.6(1574) Group 1 - Event 1

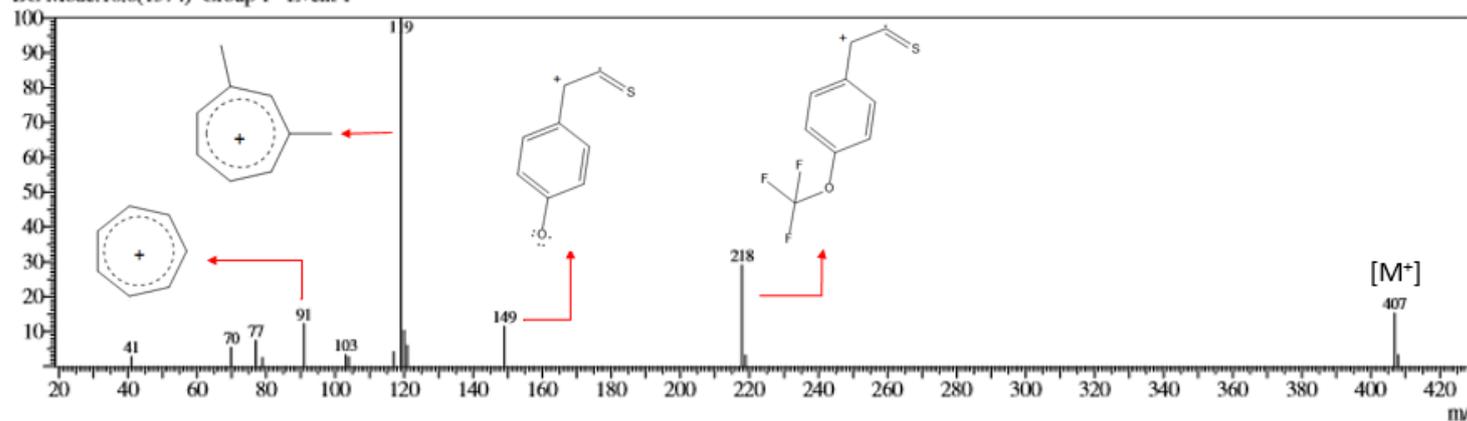
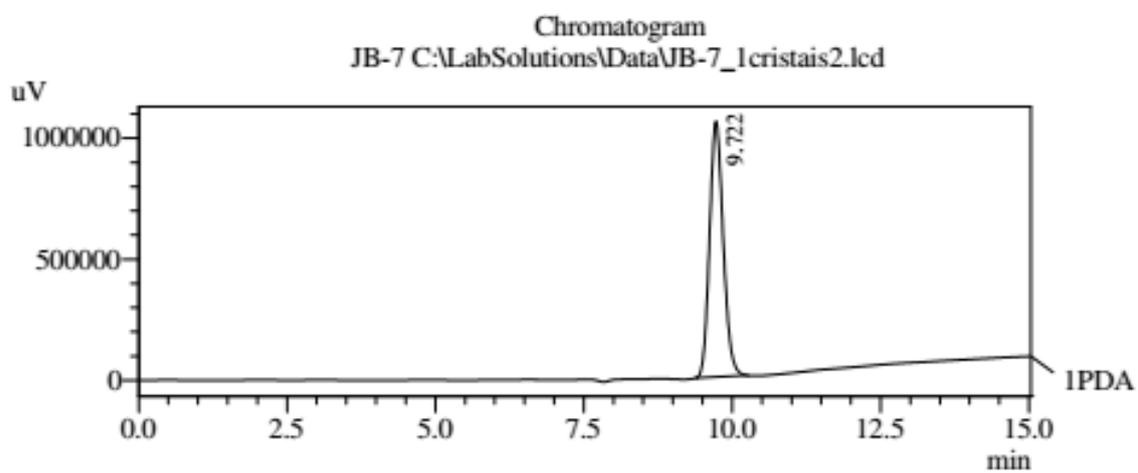
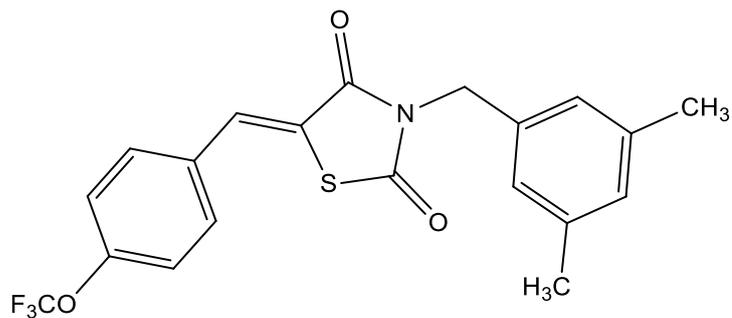


Figura 45 Espectro de Massas do LPSF/JB-7 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 407 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M^+) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 119 m/z (100%), 218 m/z (29%), 149 m/z (11%), 91 m/z (12%).



1 PDA Multi 1 / 205nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 205nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.722	16900119	1055929	100.000	100.000
Total		16900119	1055929	100.000	100.000

Figura 46 Cromatograma do LPSF/JB-7 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 100%, de acordo com a área do pico.

5-((1H-indol-3-il)metileno)-3-(3,5-dimetilbenzil)thiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-8)

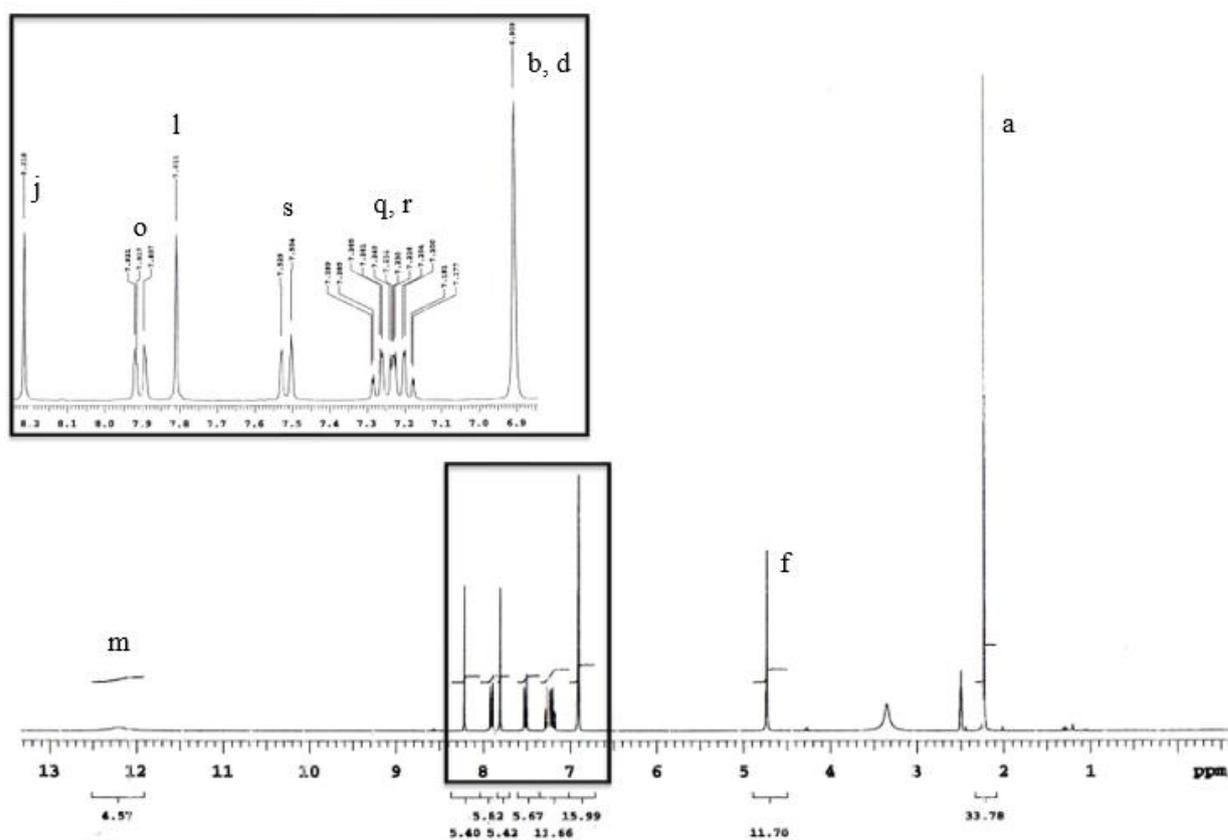
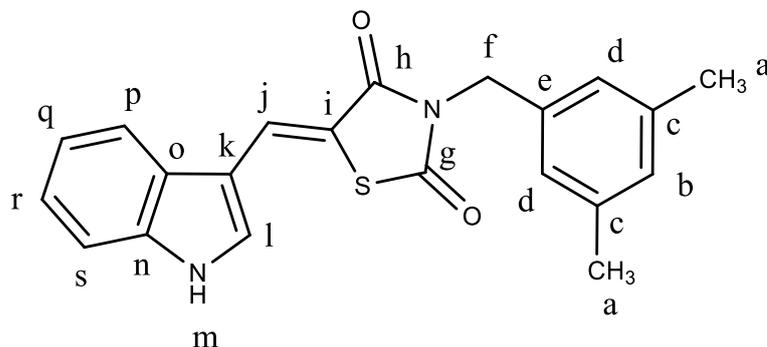


Figura 47 Espectro de RMN ¹H do LPSF/JB-8

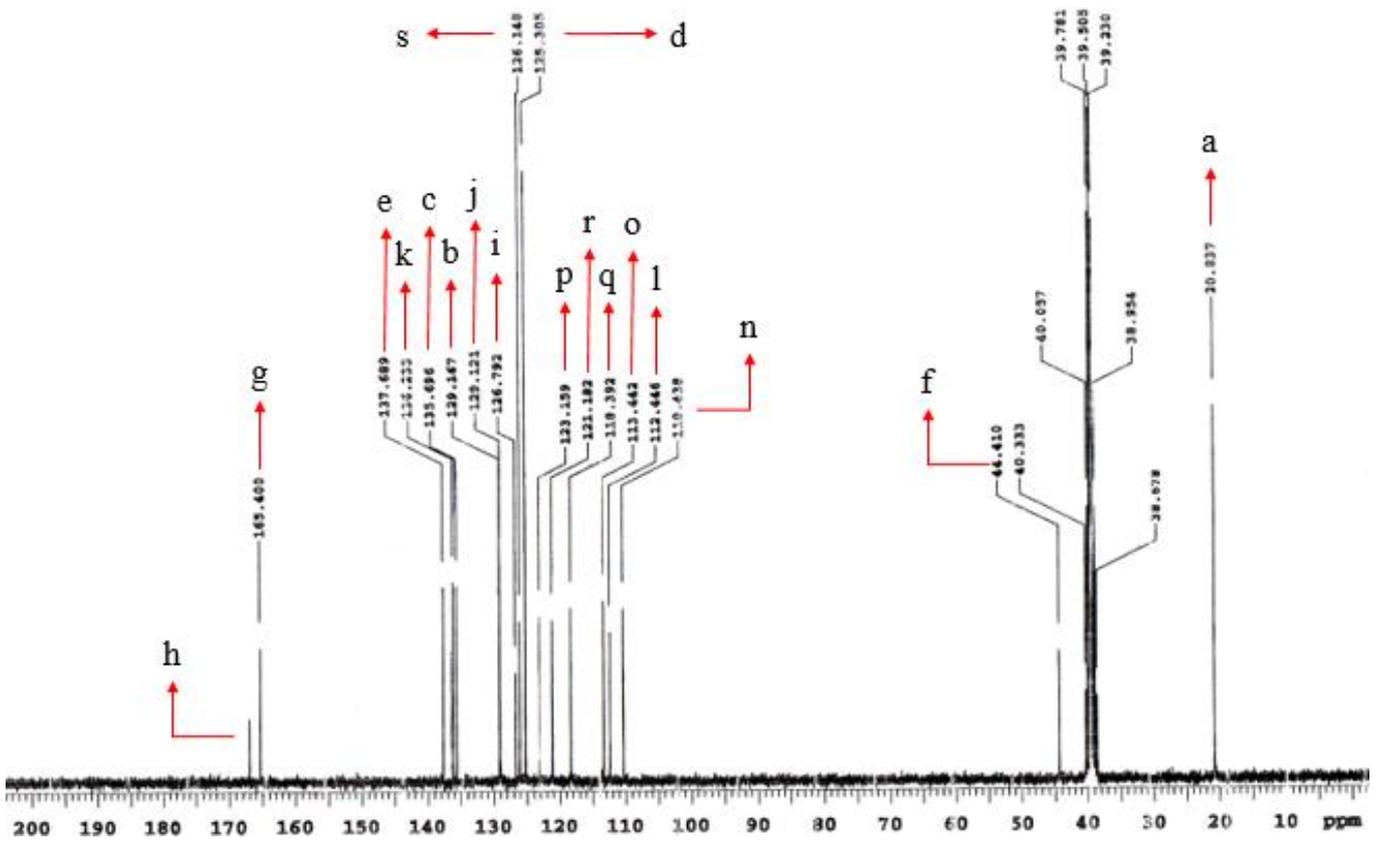
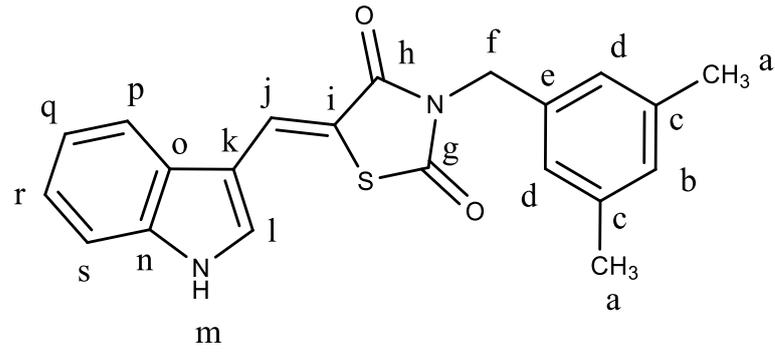


Figura 48 Espectro de RMN ^{13}C do LPSF/JB-8

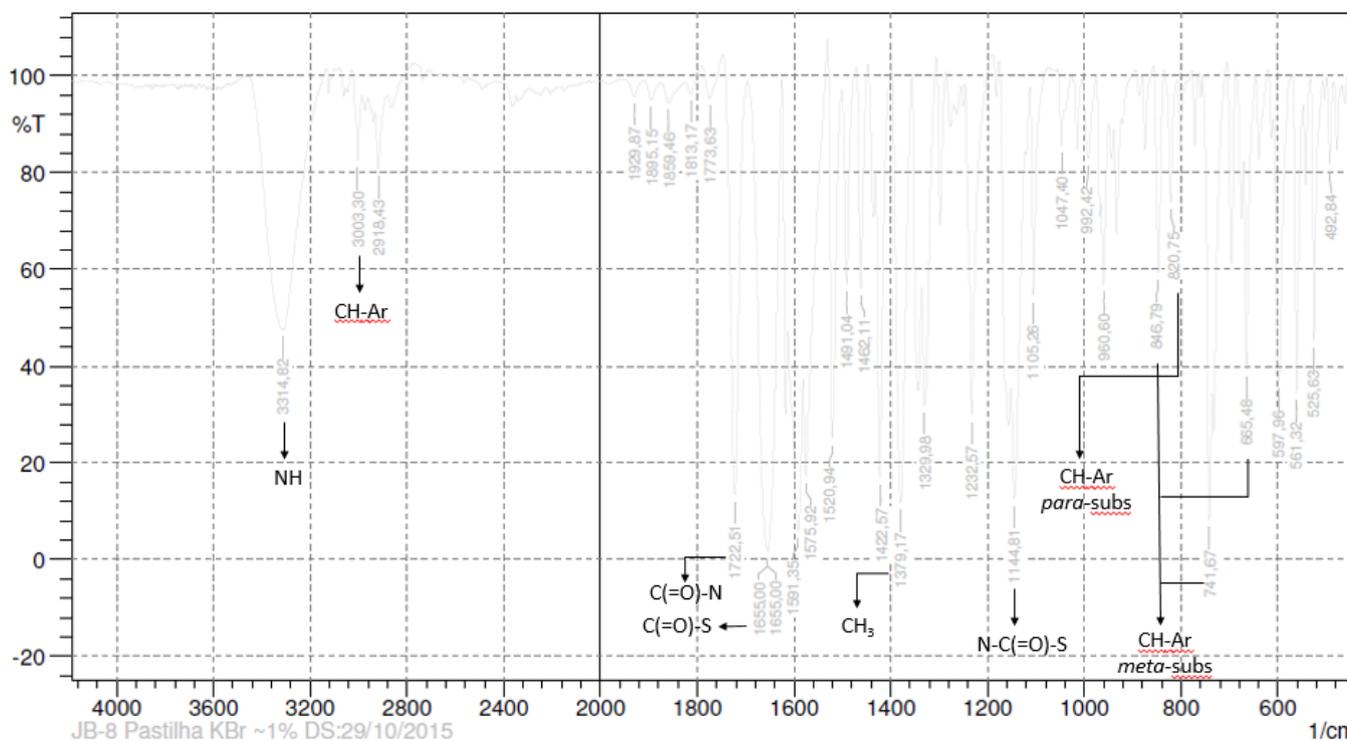
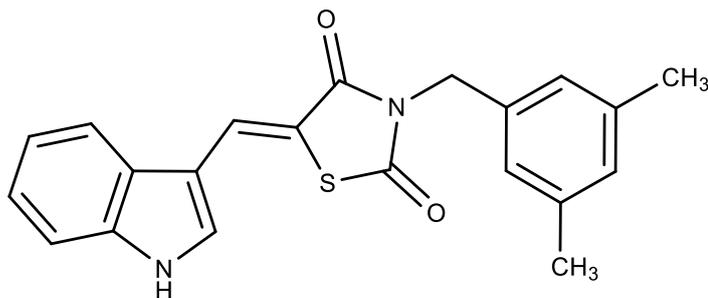
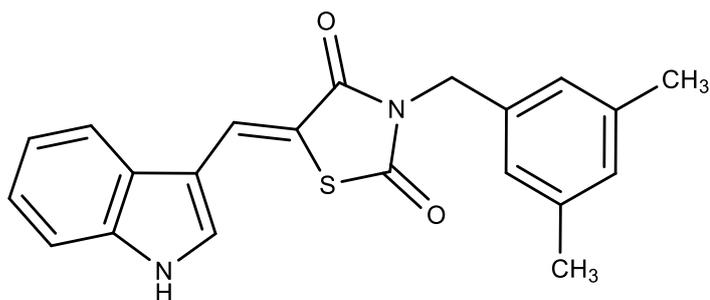


Figura 49 Espectro de IR do LPSF/JB-8. Deformação axial de NH de anel heterocíclico, 3314 cm^{-1} ; Deformação axial de CH de aromático, 3003 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila C(=O)-N do anel Tiazolidínico, 1722 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila C(=O)-S do anel Tiazolidínico, 1655 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH₃, 1389 cm^{-1} ; Deformação angular da carbonila N-C(=O)-S do anel Tiazolidínico, 1144 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 846 , 741 e 665 cm^{-1} (anel *meta*-substituído).



Line#:1 R.Time:30.8(Scan#:3041)

RawMode:Single 30.8(3041) BasePeak:173(38778)

BG Mode:26.1(2470) Group 1 - Event 1

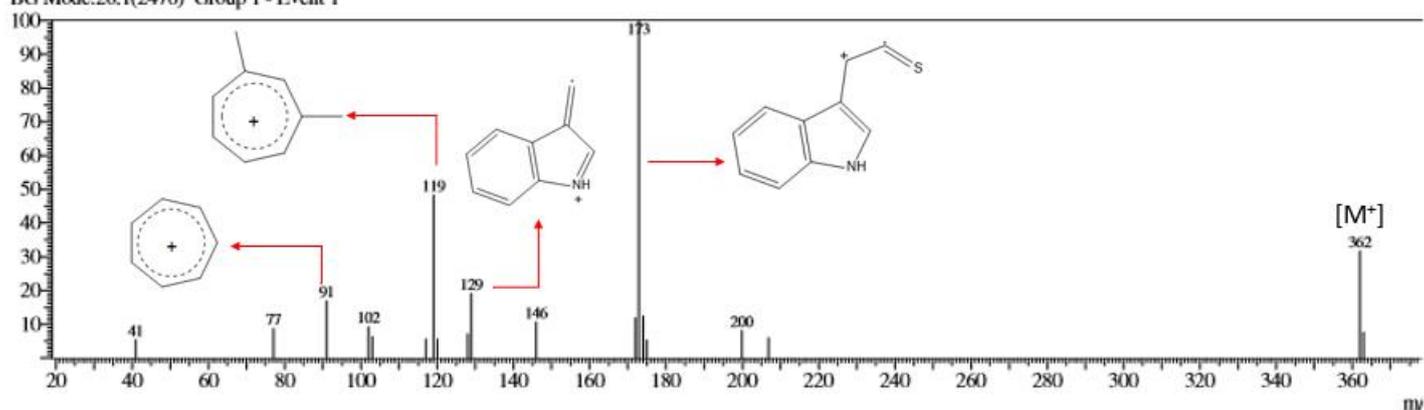
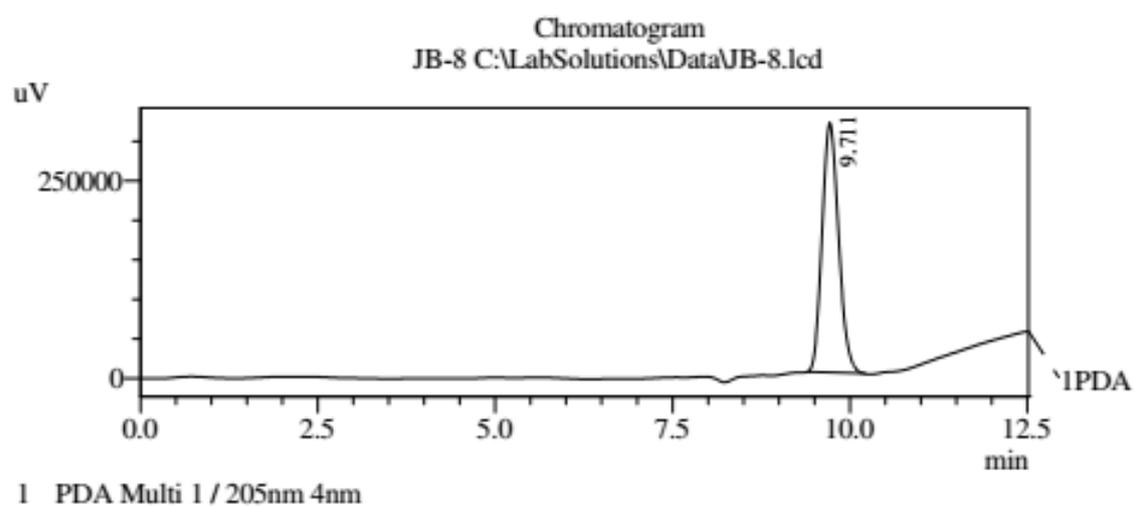
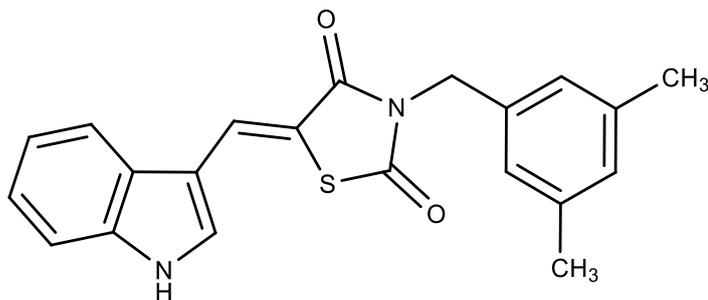


Figura 50 Espectro de Massas do LPSF/JB-8 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétron (IE). O pico de 362 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M^+) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 173 m/z (100%), 129 m/z (19%), 119 m/z (48%), 91 m/z (17%).



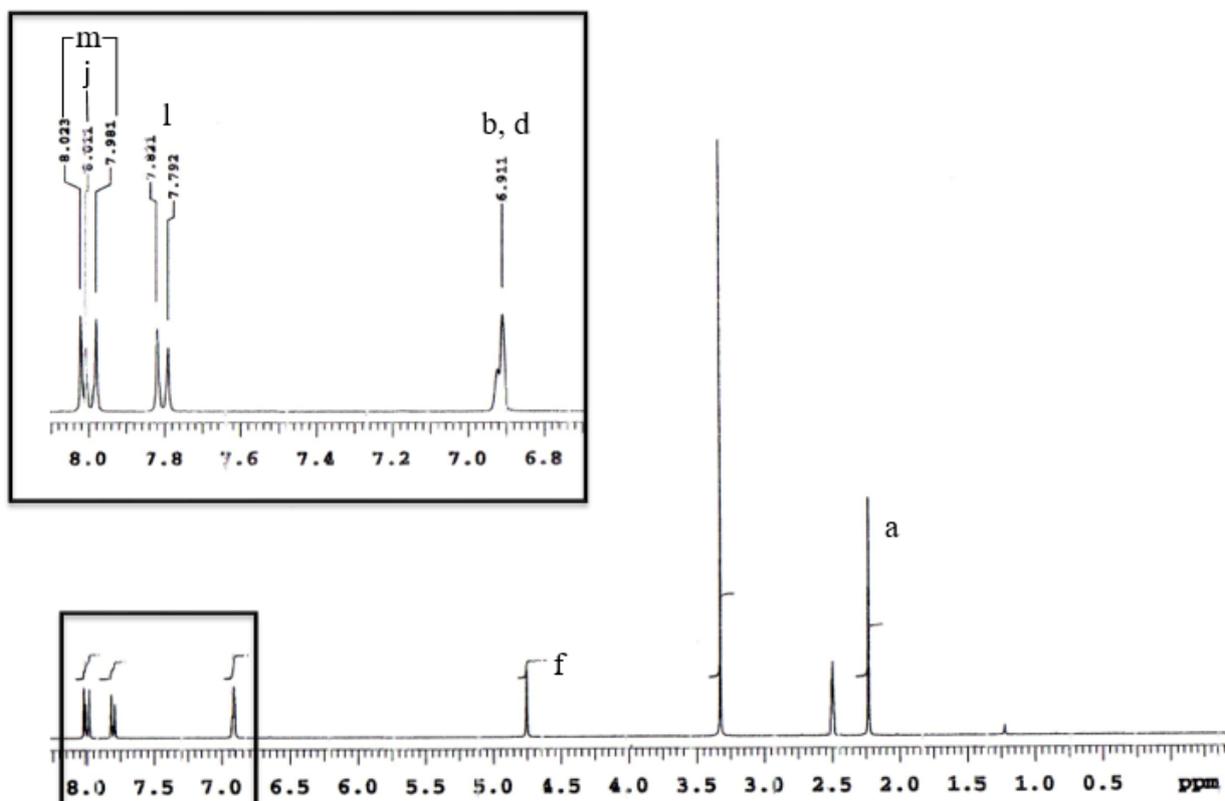
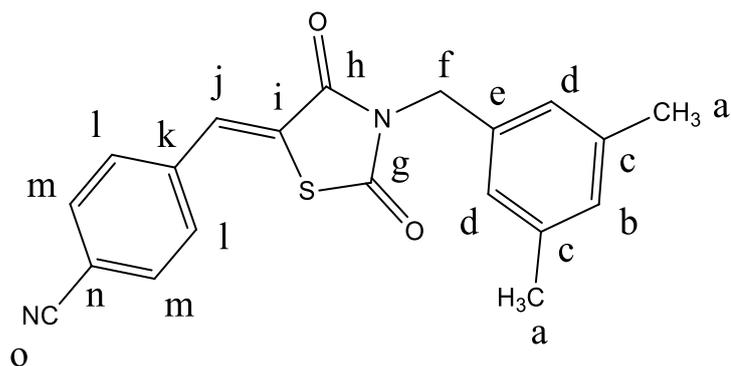
PeakTable

PDA Ch1 205nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.711	5120536	315866	100.000	100.000
Total		5120536	315866	100.000	100.000

Figura 51 Cromatograma do LPSF/JB-8 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 100%, de acordo com a área do pico.

4-((3-(3,5-dimetilbenzil)-2,4-dioxotiazolidina-5-ilideno)metil)benzonitrila (LPSF/JB-9)

Figura 52 Espectro de RMN ¹H do LPSF/JB-9

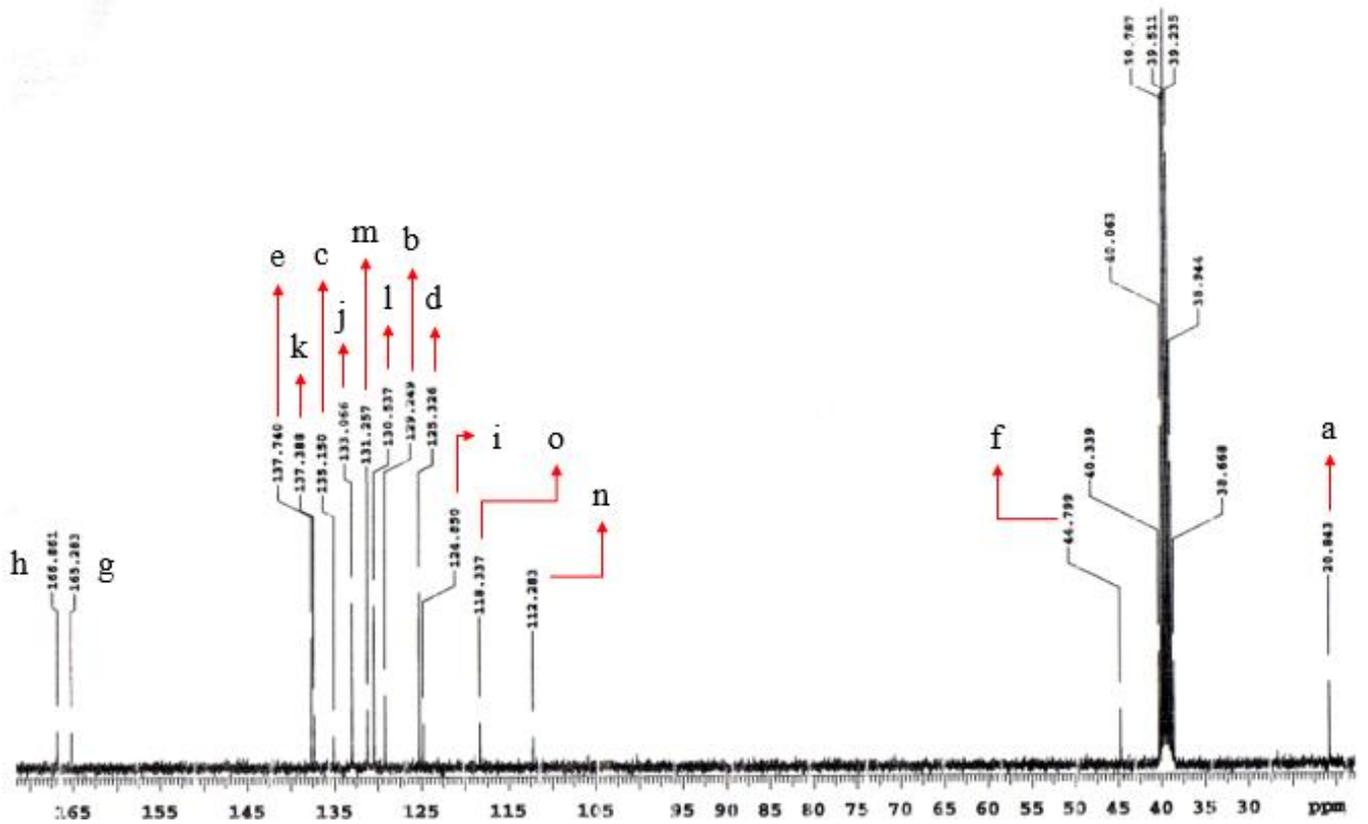
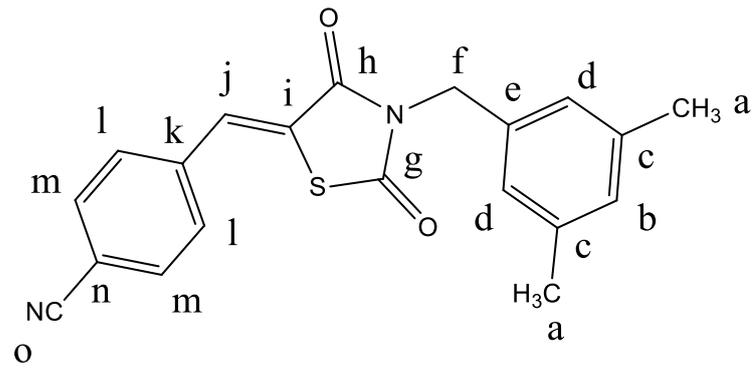


Figura 53 Espectro de RMN ^{13}C do LPSF/JB-9

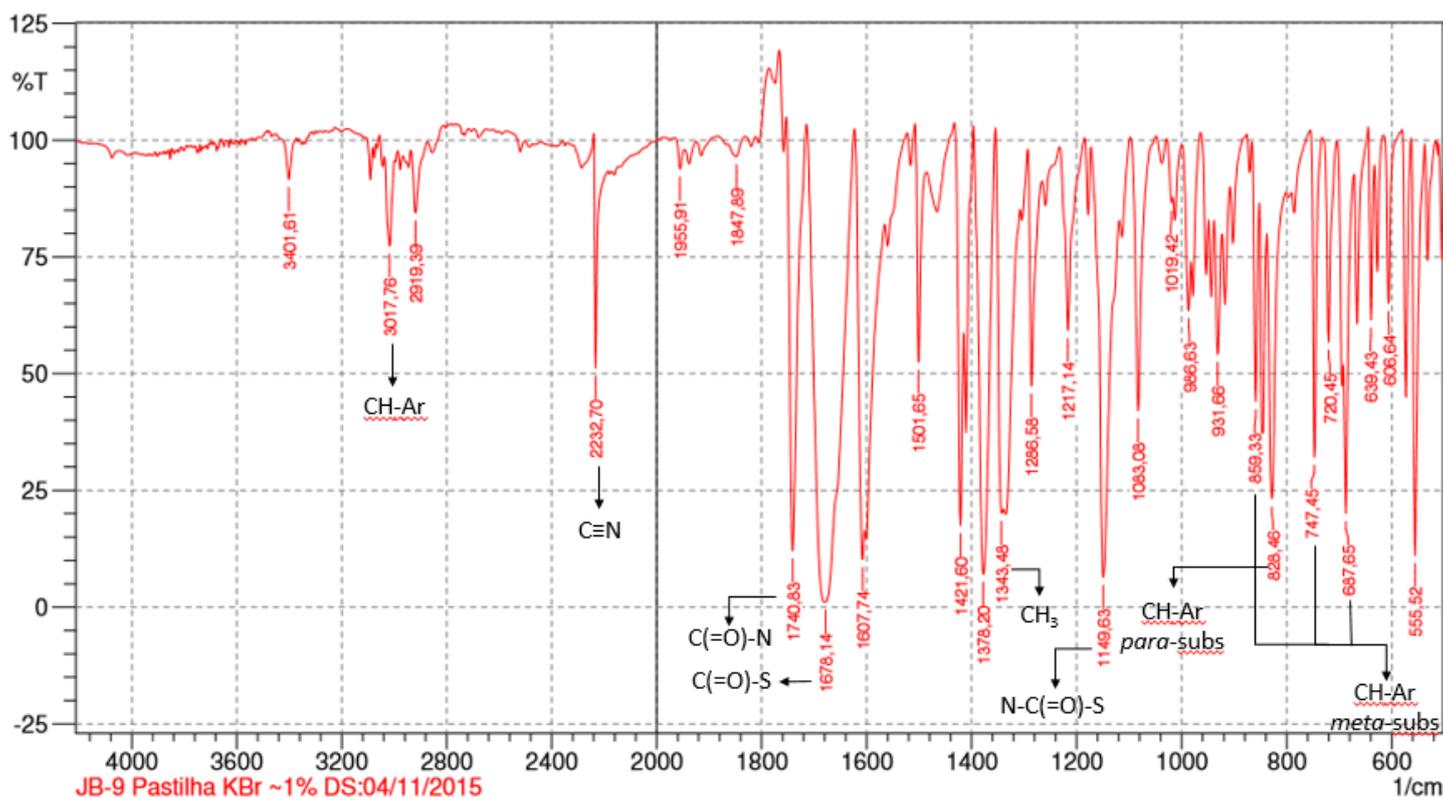
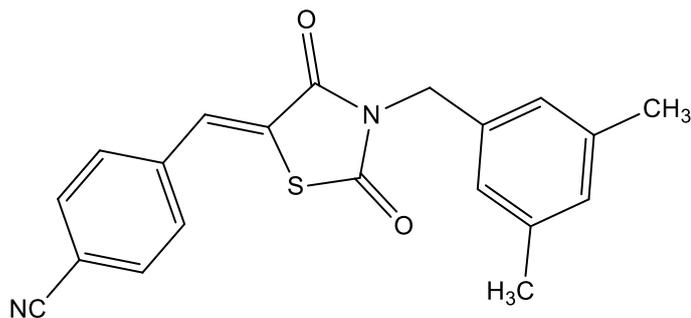
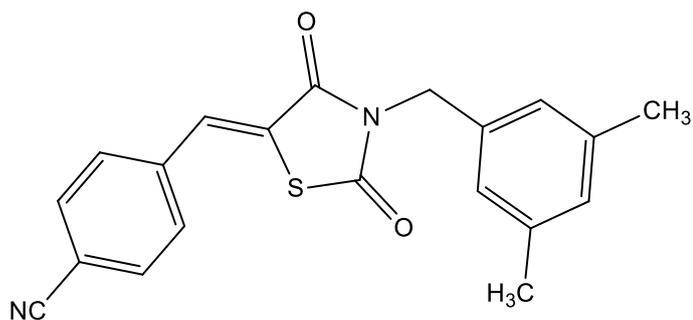


Figura 54 Espectro de IR do LPSF/JB-9. Deformação axial de CH de aromático, 3017 cm^{-1} ; Deformação axial da ligação $\text{C}\equiv\text{N}$, 2232 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila $\text{C}(=\text{O})-\text{N}$ do anel Tiazolidínico, 1740 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila $\text{C}(=\text{O})-\text{S}$ do anel Tiazolidínico, 1678 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH_3 , 1343 cm^{-1} ; Deformação angular da carbonila $\text{N}-\text{C}(=\text{O})-\text{S}$ do anel Tiazolidínico, 1149 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 828 (anel *para*-substituído) e 859 , 747 e 687 cm^{-1} (anel *meta*-substituído).



Line#: 1 R.Time:23.2(Scan#:2127)

RawMode:Single 23.2(2127) BasePeak:119(376314)

BG Mode:22.6(2048) Group 1 - Event 1

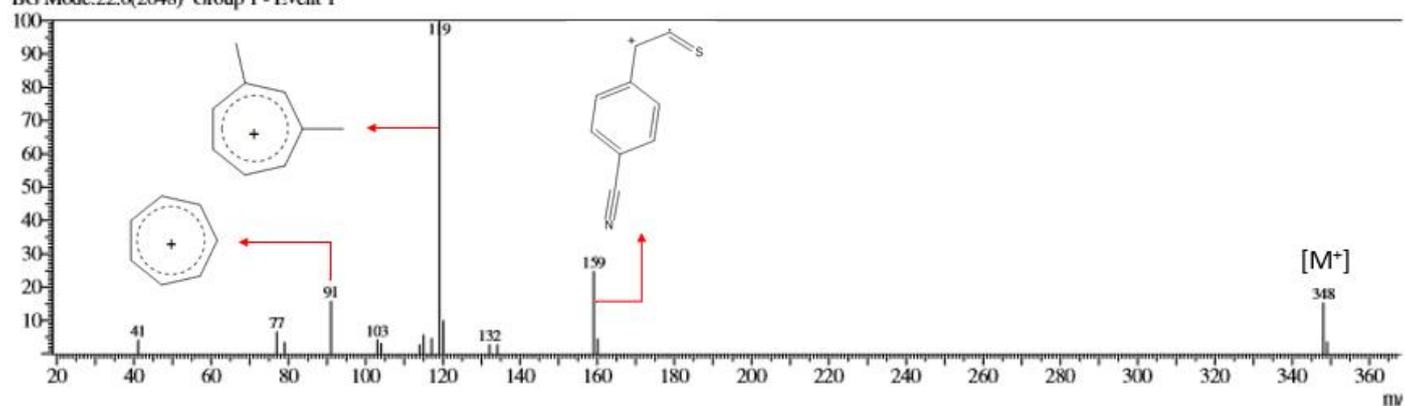
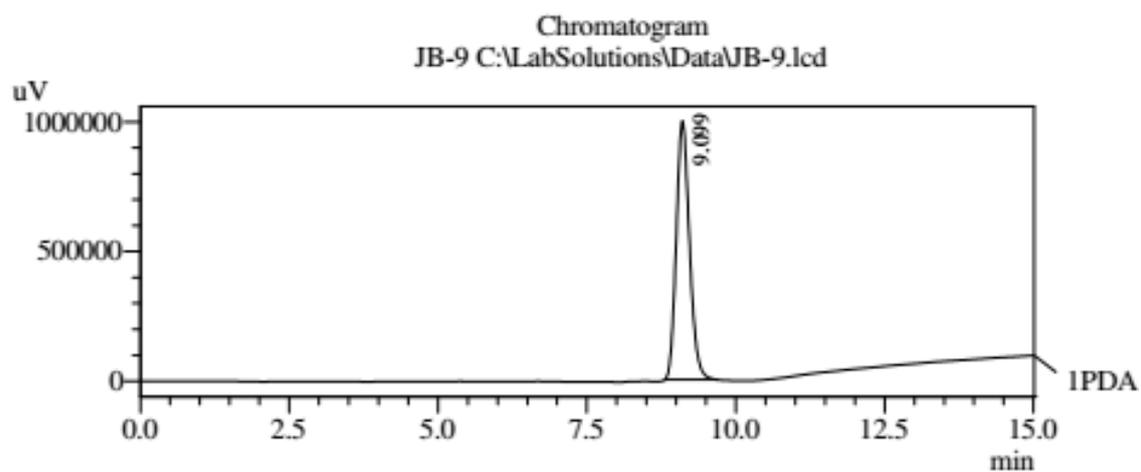
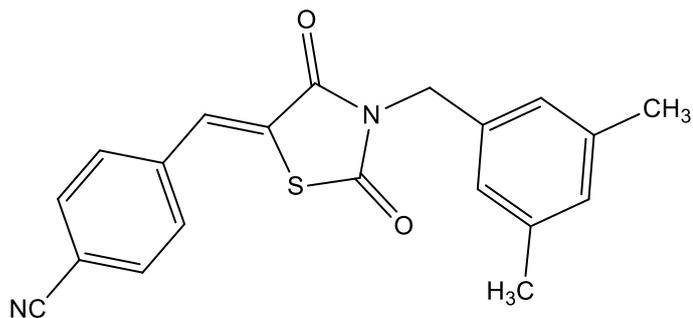


Figura 55 Espectro de Massas do LPSF/JB-9 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 348 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M^+) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 119 m/z (100%), 159 m/z (24%), 91 m/z (15%).



1 PDA Multi 1 / 205nm 4nm

PeakTable

PDA Ch1 205nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.099	15387795	996907	100.000	100.000
Total		15387795	996907	100.000	100.000

Figura 56 Cromatograma do LPSF/JB-9 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 100%, de acordo com a área do pico.

3-(3,5-dimetilbenzil)-5-(4-fluorobenzilideno)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-11)

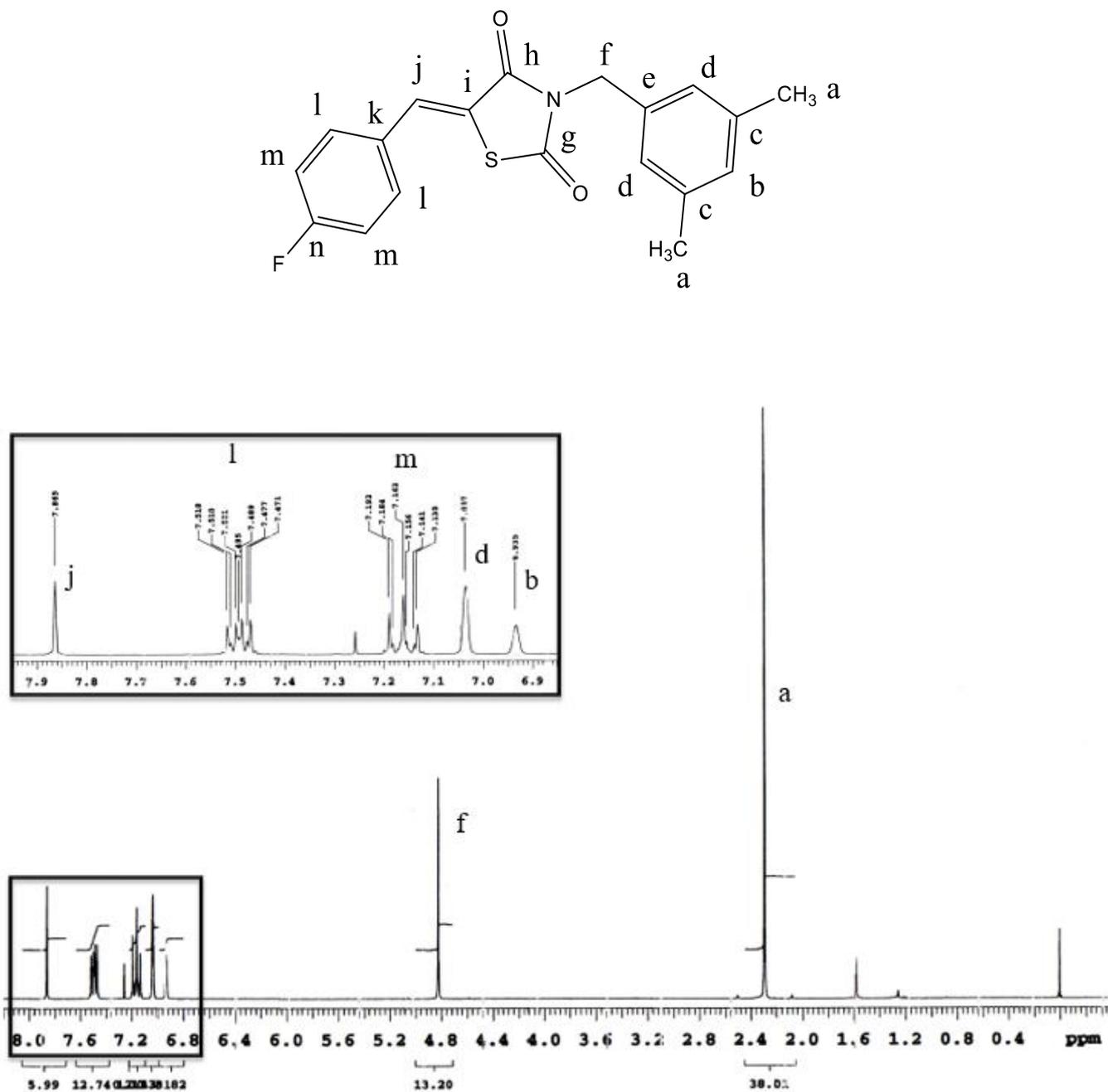


Figura 57 Espectro de RMN ^1H do LPSF/JB-11

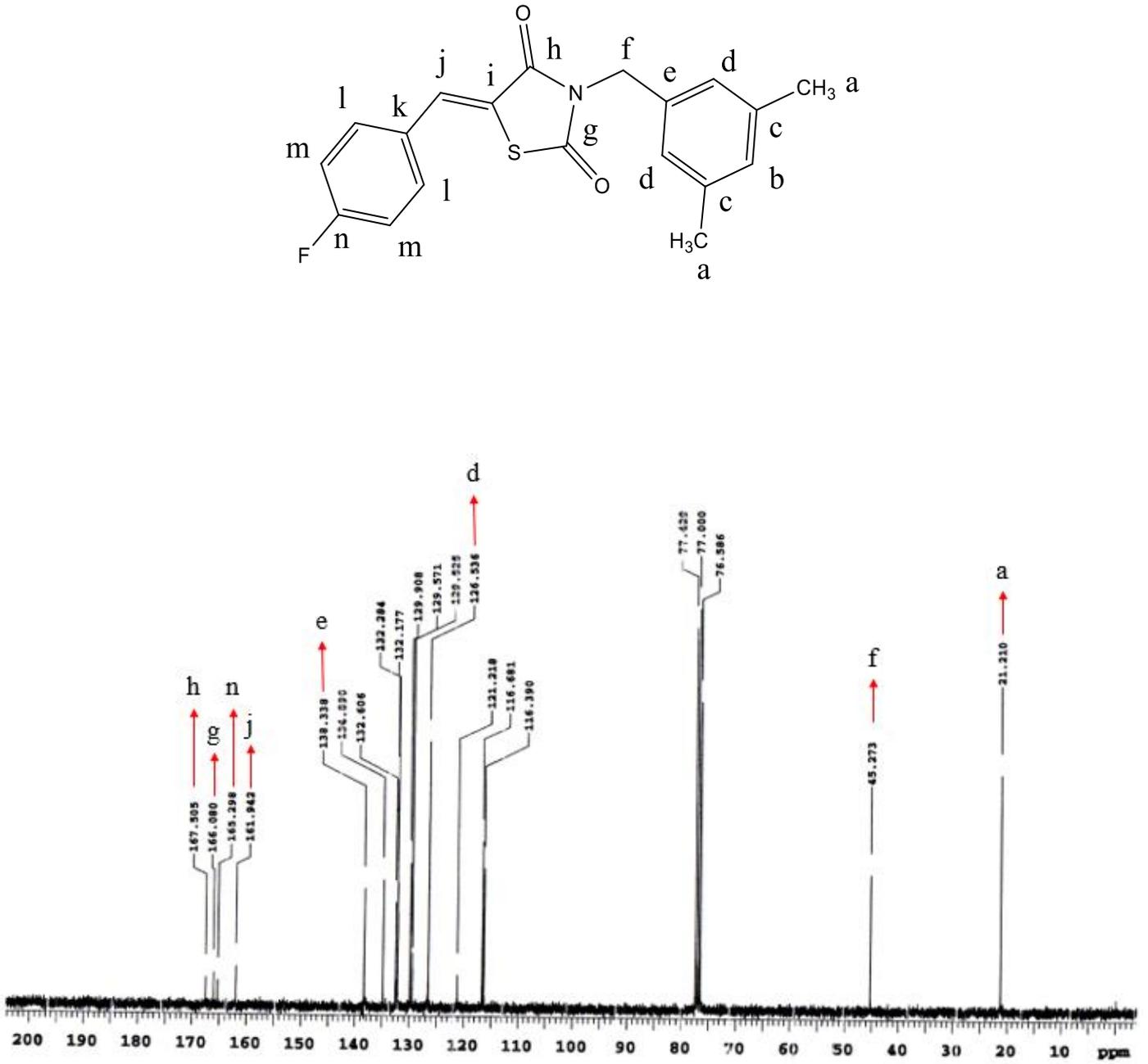


Figura 58 Espectro de RMN ^{13}C do LPSF/JB-11

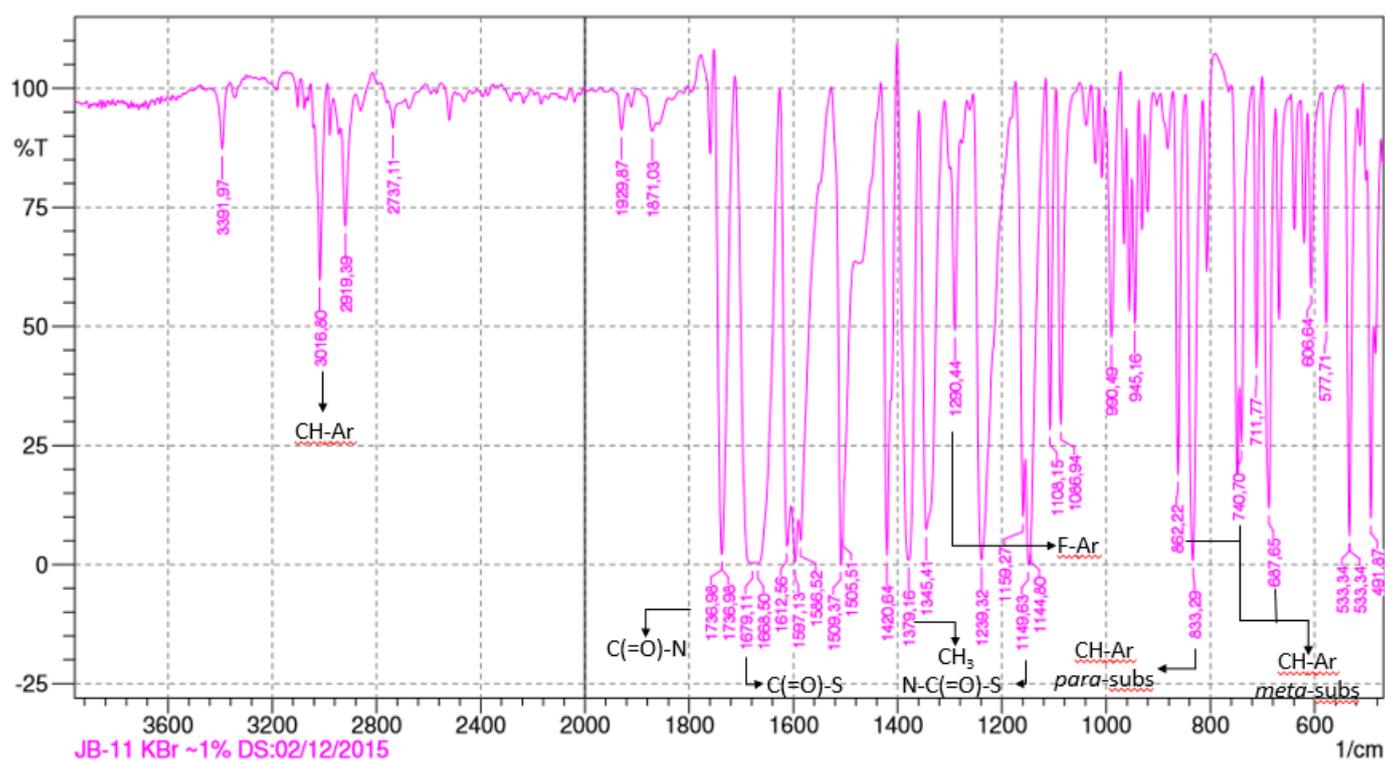
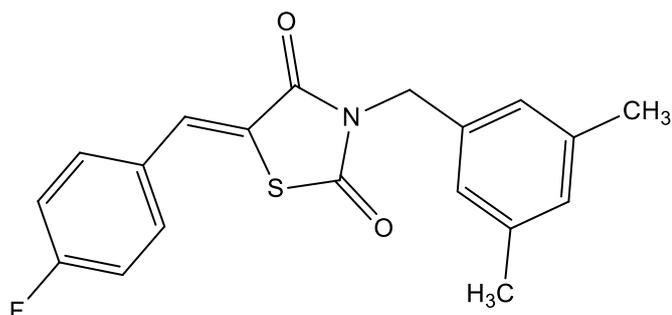
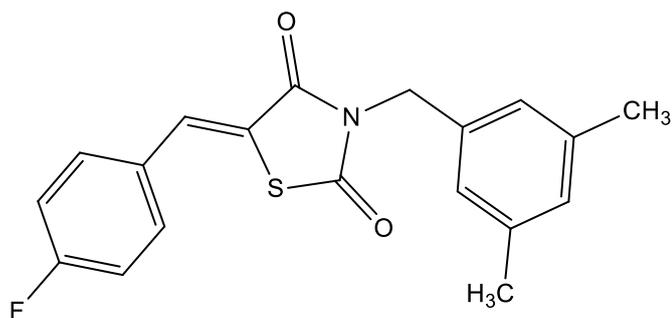


Figura 59 Espetro de IR do LPSF/JB-11. Deformação axial de CH de aromático, 3016 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila $\text{C}(=\text{O})\text{-N}$ do anel Tiazolidínico, 1736 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila $\text{C}(=\text{O})\text{-S}$ do anel Tiazolidínico, 1679 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH_3 , 1379 cm^{-1} ; Deformação axial de anéis monoflorados, 1290 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila $\text{N-C}(=\text{O})\text{-S}$ do anel Tiazolidínico, 1149 cm^{-1} Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 833 (anel *para*-substituído) e 862 , 740 e 687 cm^{-1} (anel *meta*-substituído).



Line#: 1 R.Time: 21.5(Scan#: 1923)

RawMode: Single 21.5(1923) BasePeak: 119(1717734)

BG Mode: 23.4(2148) Group 1 - Event 1

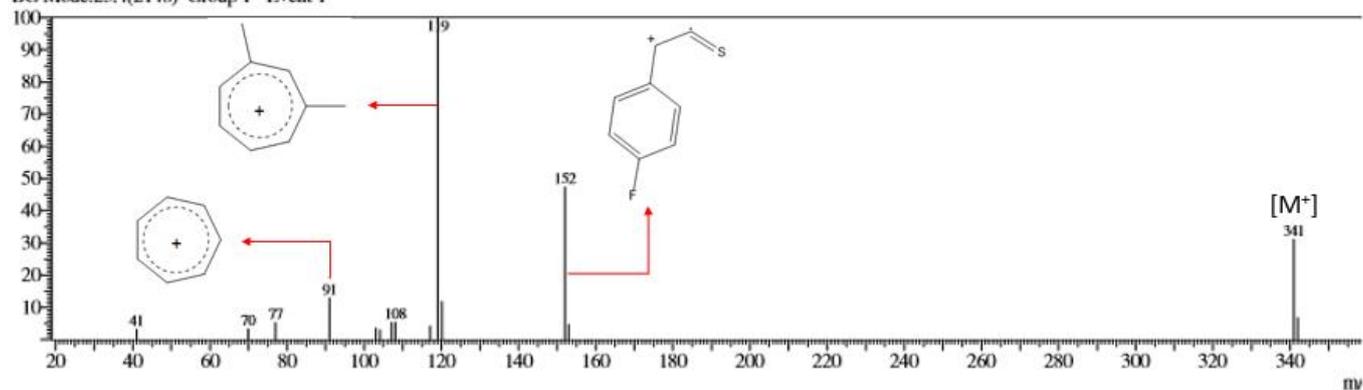
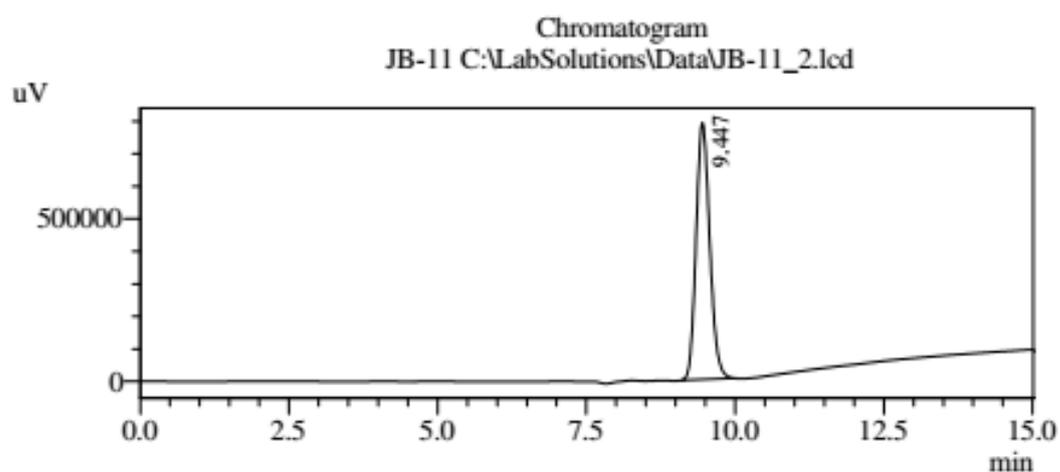
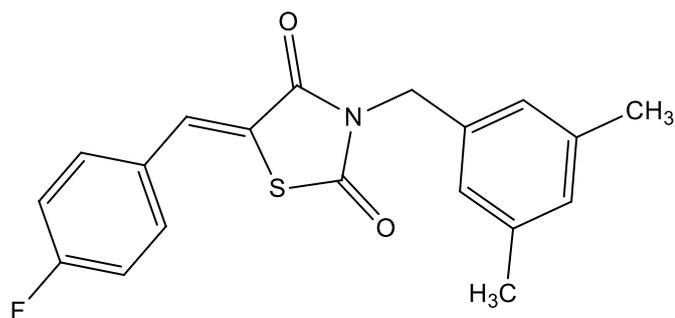


Figura 60 Espectro de Massas do LPSF/JB-11 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 341 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M^+) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 119 m/z (100%), 152 m/z (47%), 91 m/z (13%).



PeakTable

PDA Ch1 205nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.447	12596343	788914	100.000	100.000
Total		12596343	788914	100.000	100.000

Figura 61 Cromatograma do LPSF/JB-11 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 100%, de acordo com a área do pico.

5-(2-bromobenzilideno)-3-(3,5-dimetilbenzil)thiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-12)

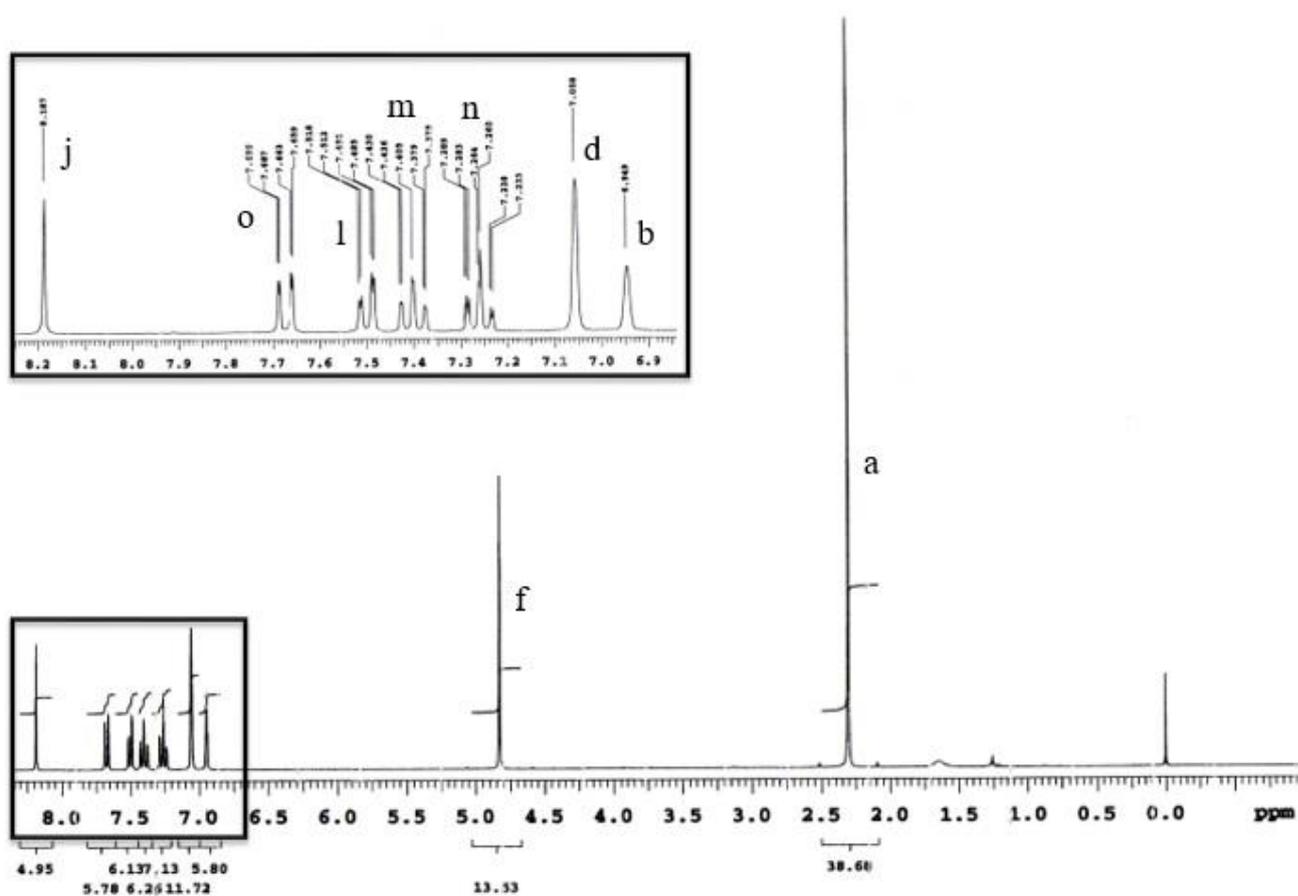
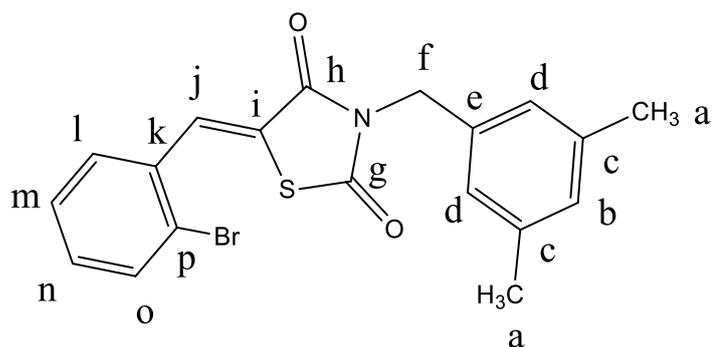


Figura 62 Espectro de RMN ^1H do LPSF/JB-12

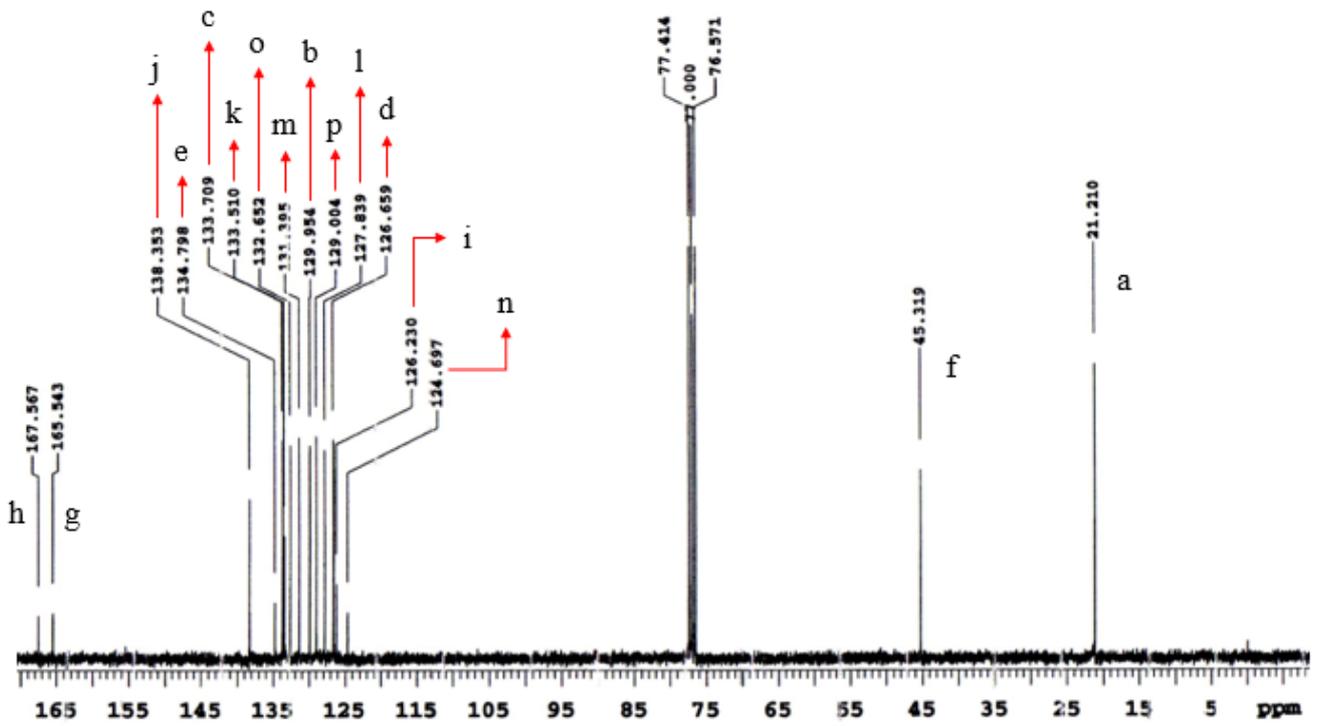
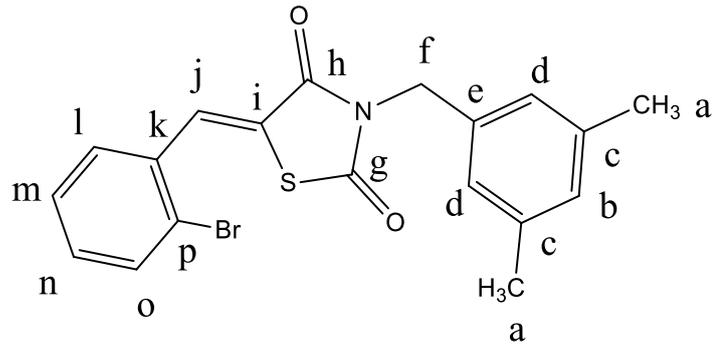


Figura 63 Espectro de RMN ^{13}C do LPSF/JB-12

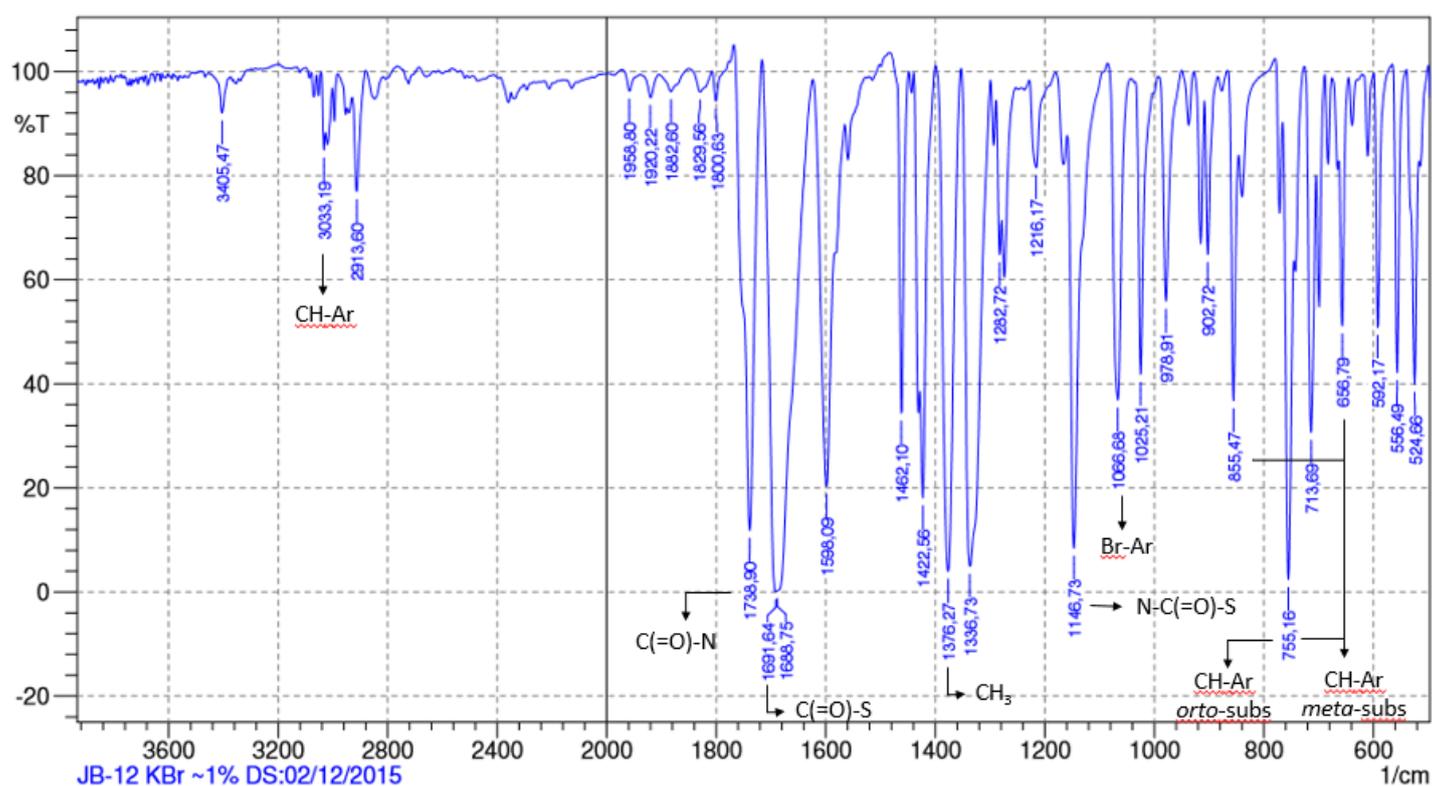
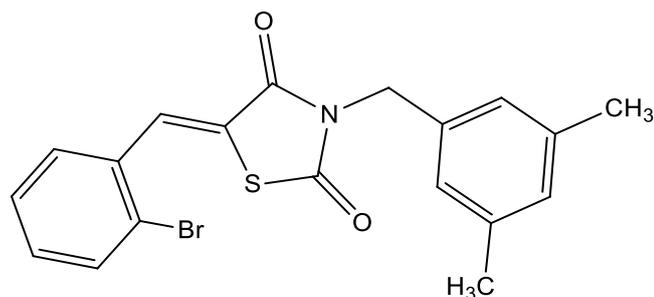
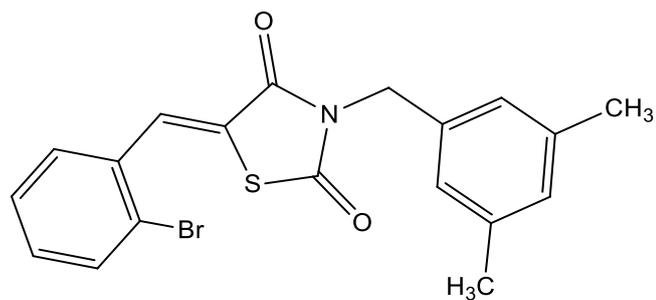


Figura 64 Espetro de IR do LPSF/JB-12. Deformação axial de CH de aromático, 3033 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila N-C(=O) do anel Tiazolidínico, 1738 cm^{-1} ; Deformação axial da carbonila C(=O)-S do anel Tiazolidínico, 1691 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH_3 , 1376 cm^{-1} ; Deformação angular da carbonila N-(C=O)-S do anel Tiazolidínico, 1146 cm^{-1} ; Deformação axial do grupo bromobenzil, 1066 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 755 (anel *orto*-substituído) e 855 , 755 (bandas sobrepostas) e 656 cm^{-1} (anel *meta*-substituído).



Line#:1 R.Time:24.2(Scan#:2239)

RawMode:Single 24.2(2239) BasePeak:119(3851612)

BG Mode:25.5(2396) Group 1 - Event 1

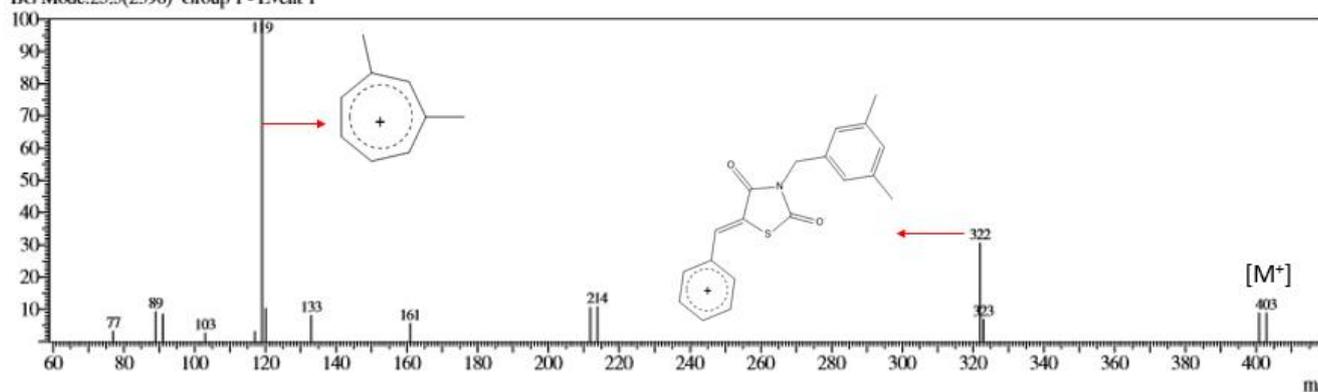
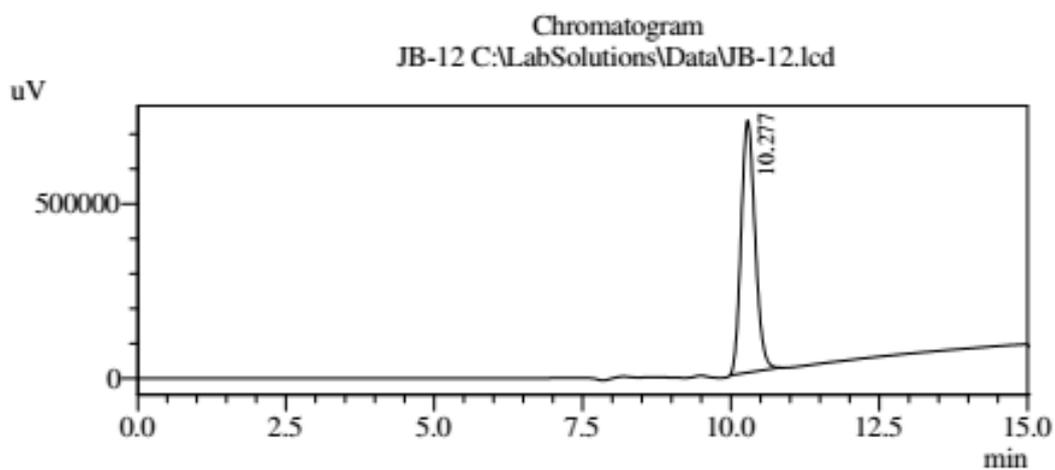
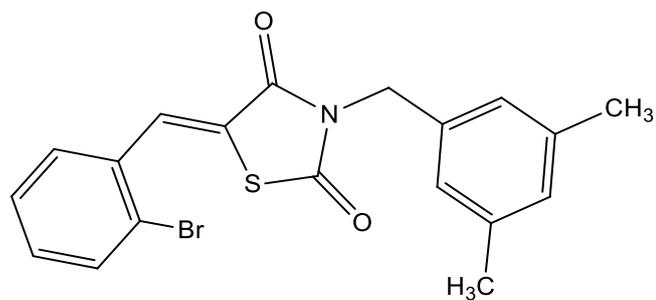


Figura 65 Espectro de Massas do LPSF/JB-12 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 403 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M^+) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 119 m/z (100%), 401 m/z (9%) (pico referente ao composto com isótopo ^{79}Br), 322 m/z (30%).



PeakTable

PDA Ch1 205nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
I	10.277	11843543	722865	100.000	100.000
Total		11843543	722865	100.000	100.000

Figura 66 Cromatograma do LPSF/JB-12 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 100%, de acordo com a área do pico.

5-(2,6-diclorobenzilideno)-3-(3,5-dimetilbenzil)tiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-13)

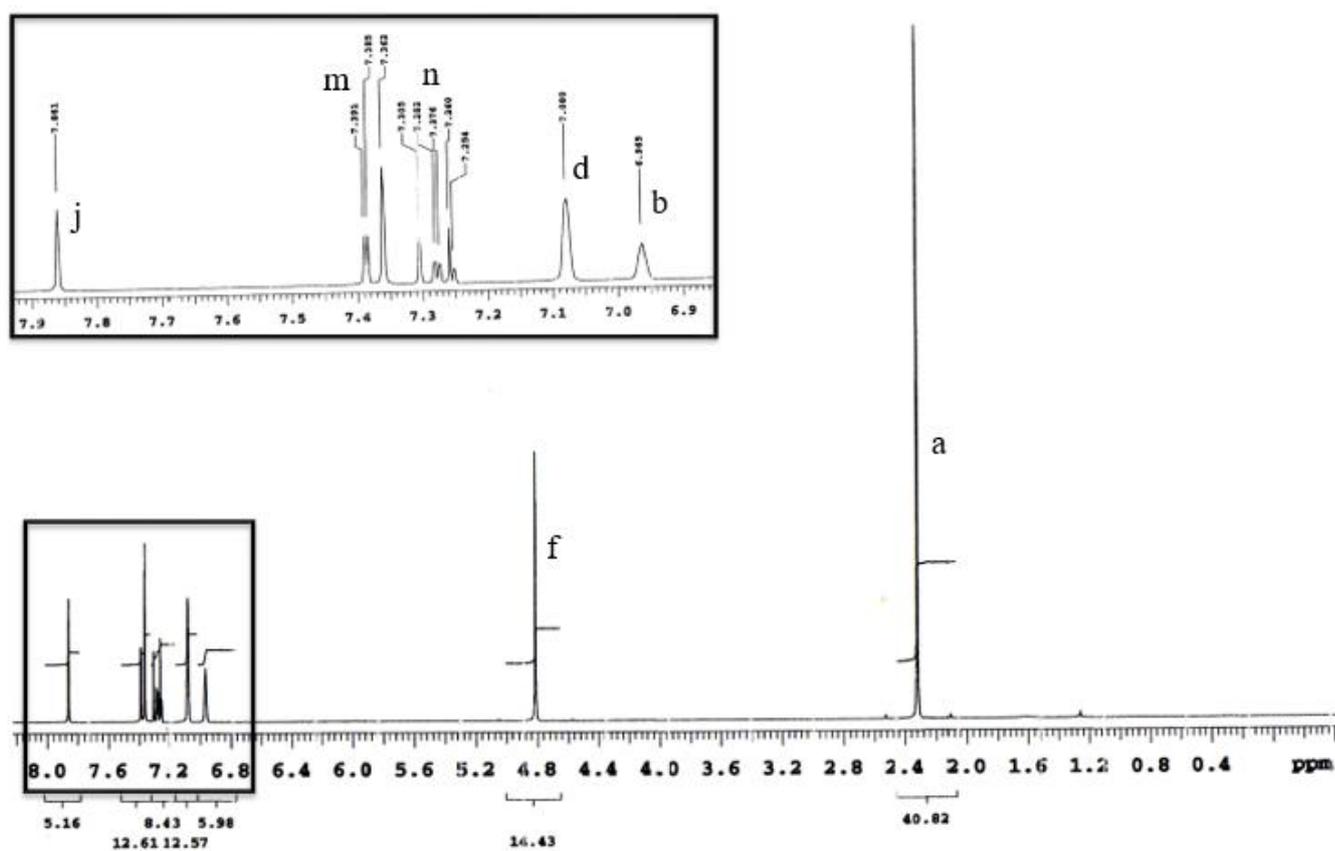
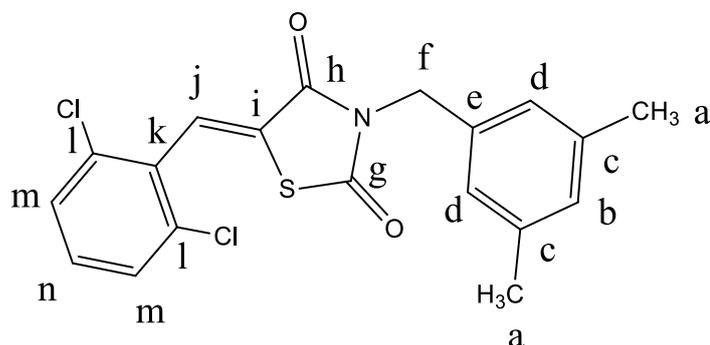


Figura 67 Espectro de RMN ¹H do LPSF/JB-13

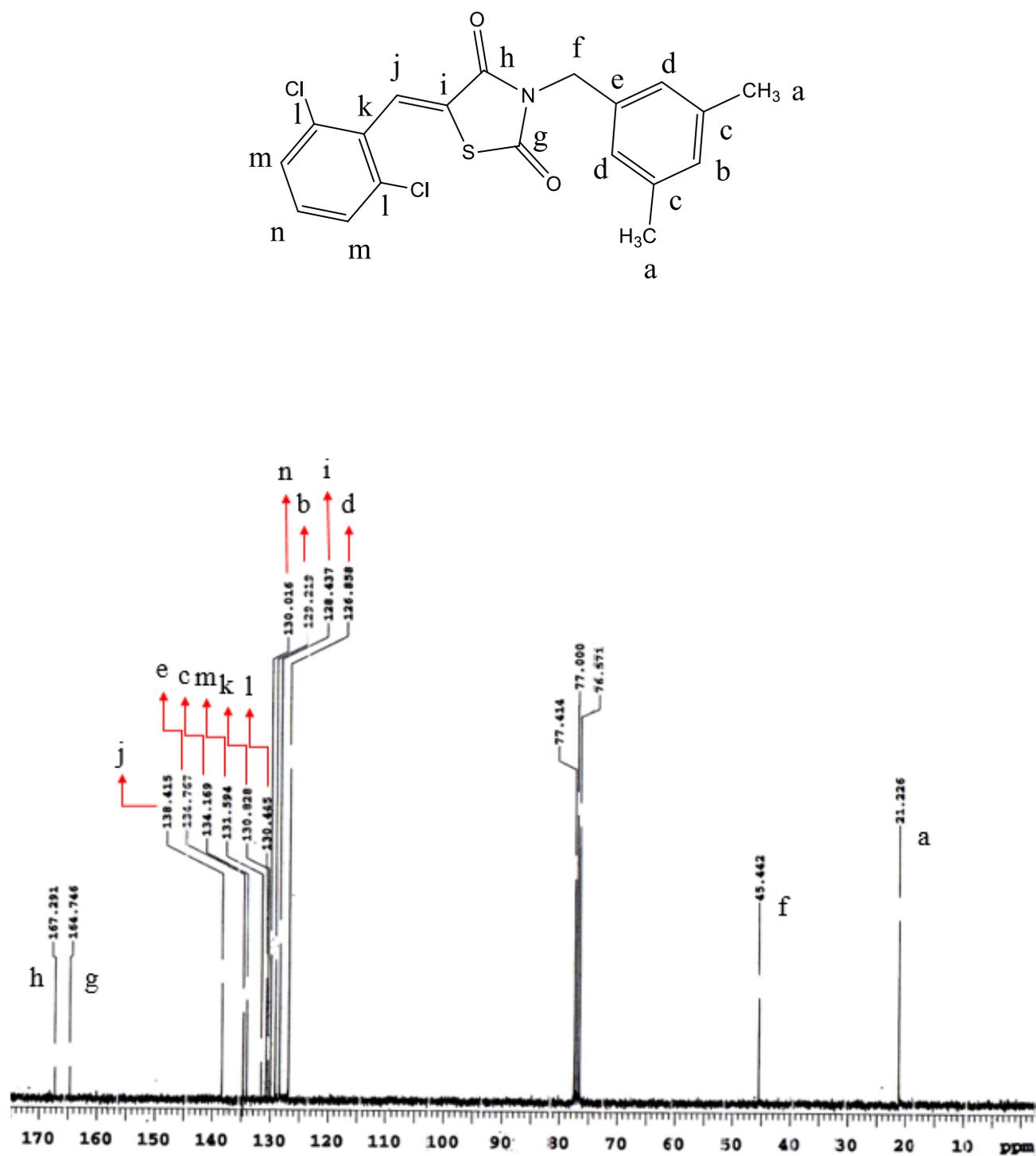


Figura 68 Espectro de RMN ^{13}C do LPSF/JB-13

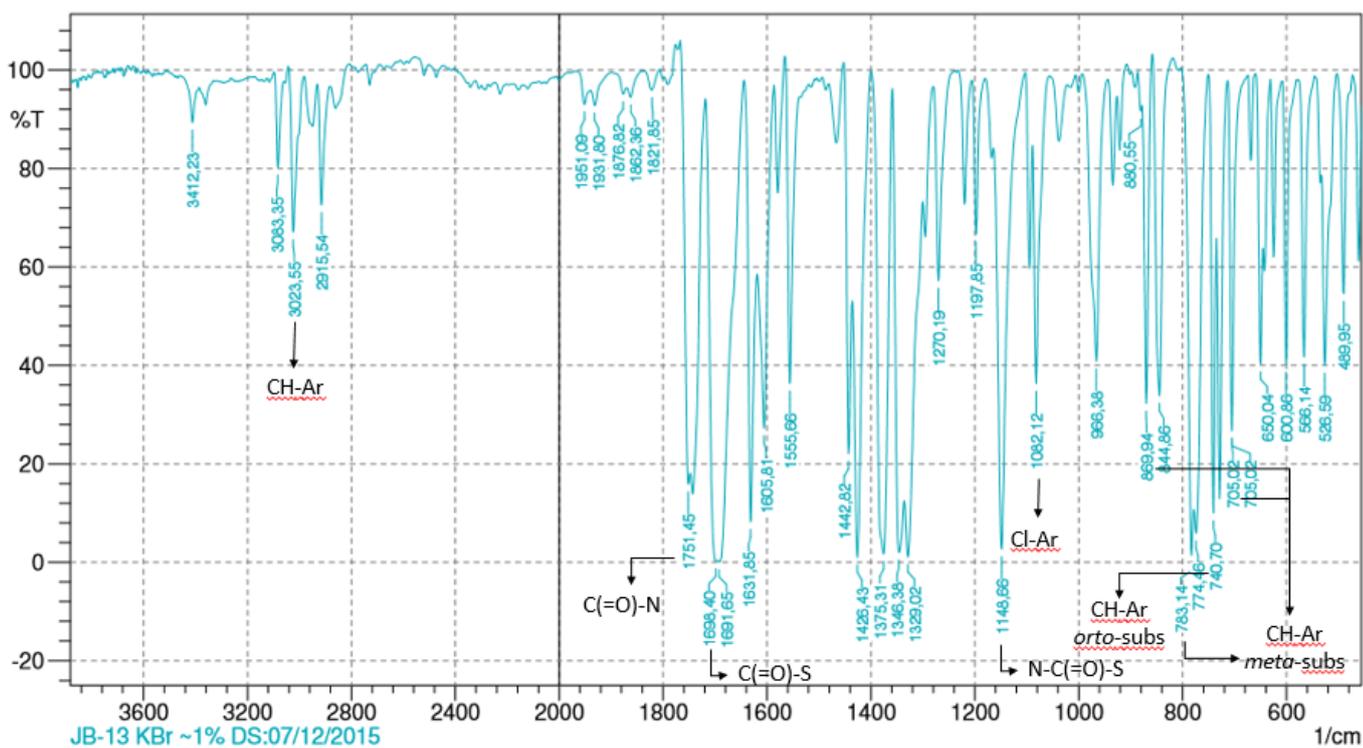
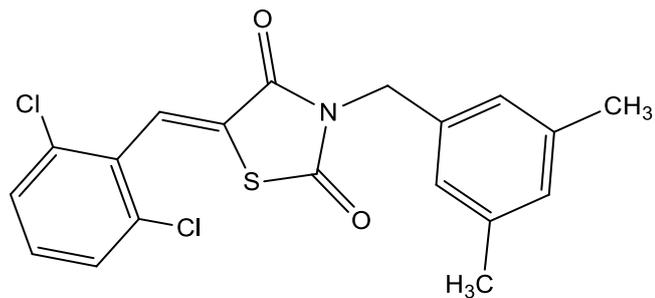
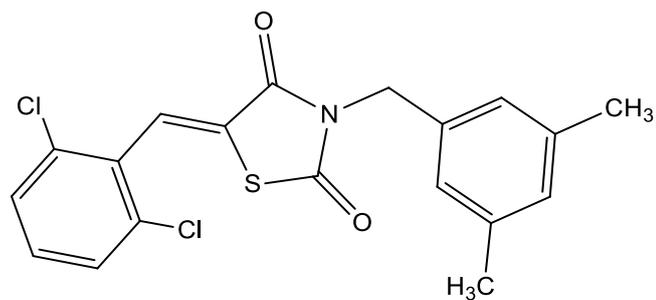


Figura 69 Espectro de IR do LPSF/JB-13. Deformação axial de CH de aromático, 3083 e 3023 cm^{-1} ; Deformação axial das ligações C=O do anel Tiazolidínico, 1751 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH_3 , 1375 cm^{-1} ; Deformação axial C-N, 1197 cm^{-1} ; Deformação axial do grupo Clorobenzil, 1062 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 740 (anel *orto*-substituído) e 869, 783 (bandas sobrepostas) e 705 cm^{-1} (anel *meta*-substituído).



Line#:1 R.Time:23.4(Scan#:2147)

RawMode:Single 23.4(2147) BasePeak:119(1010061)

BG Mode:25.1(2349) Group 1 - Event 1

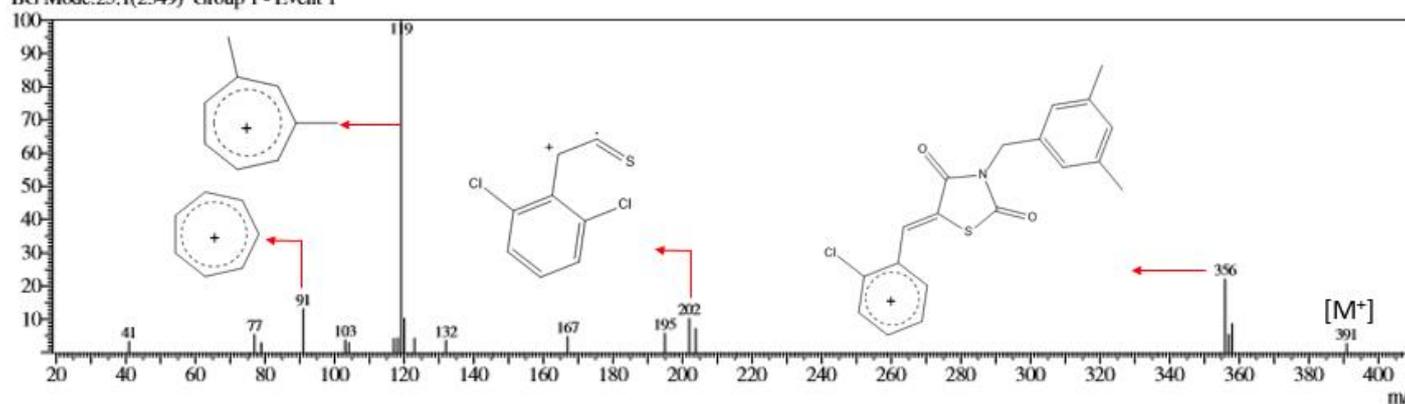
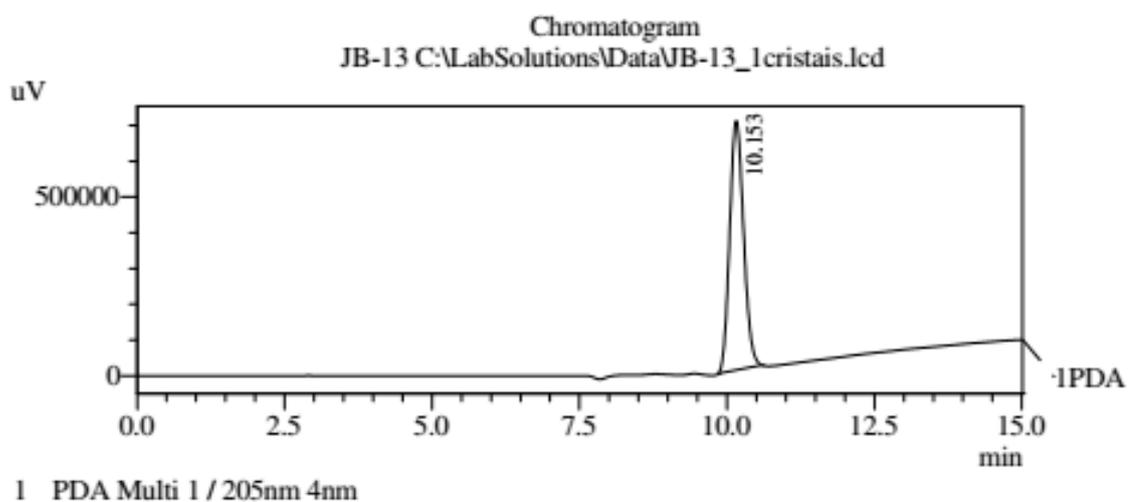
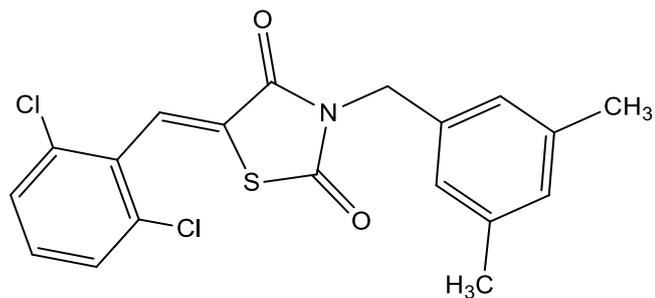


Figura 70 Espectro de Massas do LPSF/JB-13 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 391 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M+) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 119 m/z (100%), 356 (22%), 202 (10%) e 91 (13%).



PeakTable

PDA Ch1 205nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	10.153	11443173	697282	100.000	100.000
Total		11443173	697282	100.000	100.000

Figura 71 Cromatograma do LPSF/JB-13 realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A pureza do produto foi de 100%, de acordo com a área do pico.

5-(4-(dimetilamino)benzilideno)-3-(3,5-dimetilbenzil)thiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-14)

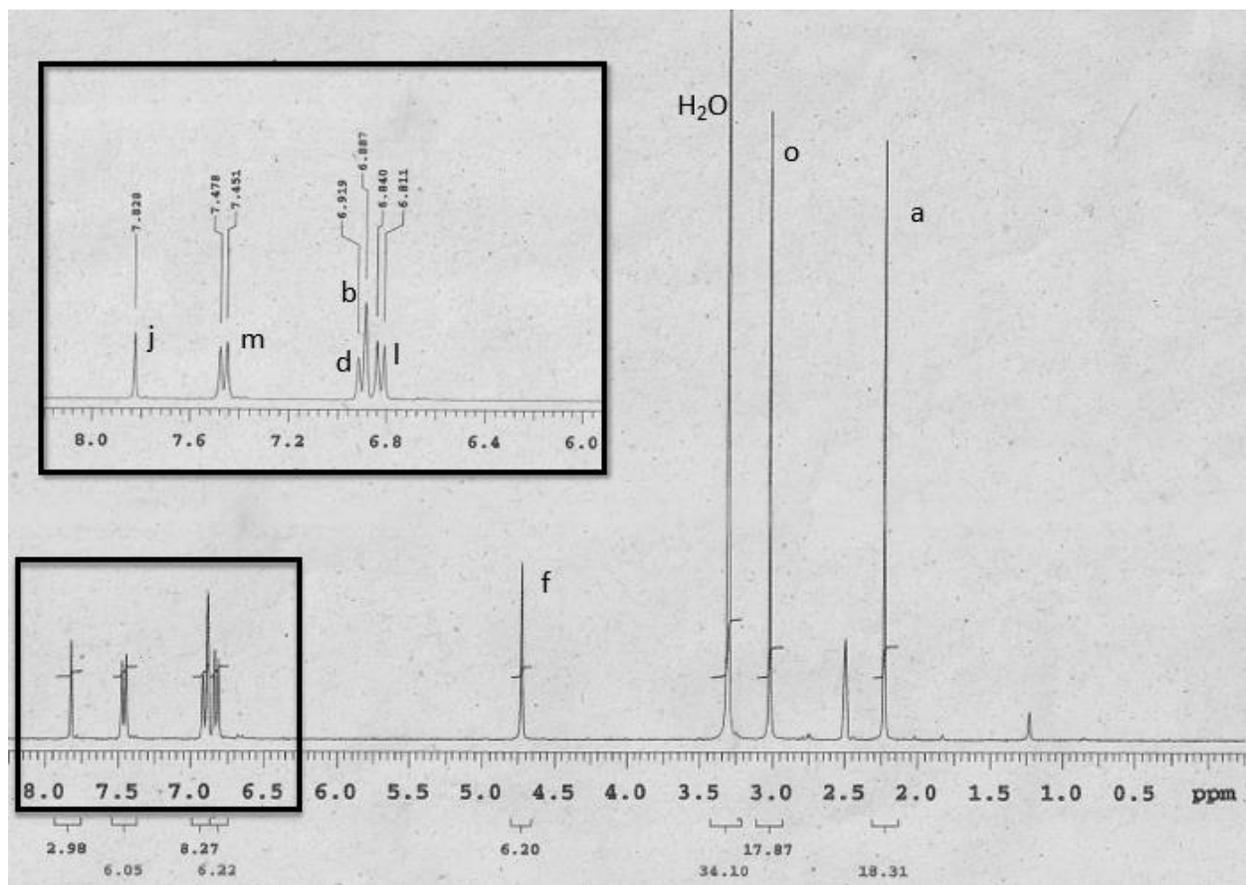
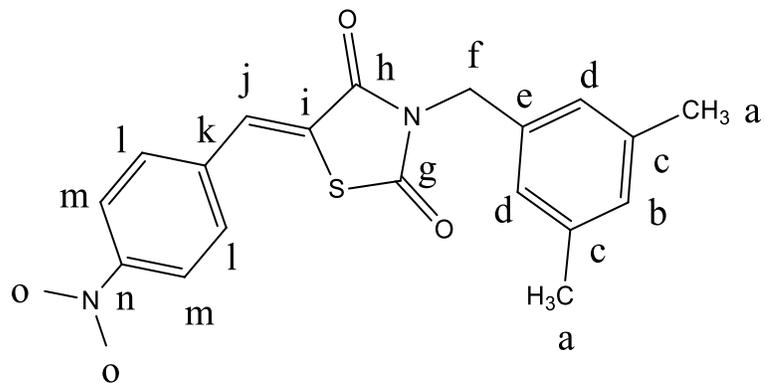


Figura 72 Espectro de RMN¹H do composto LPSF/JB-14

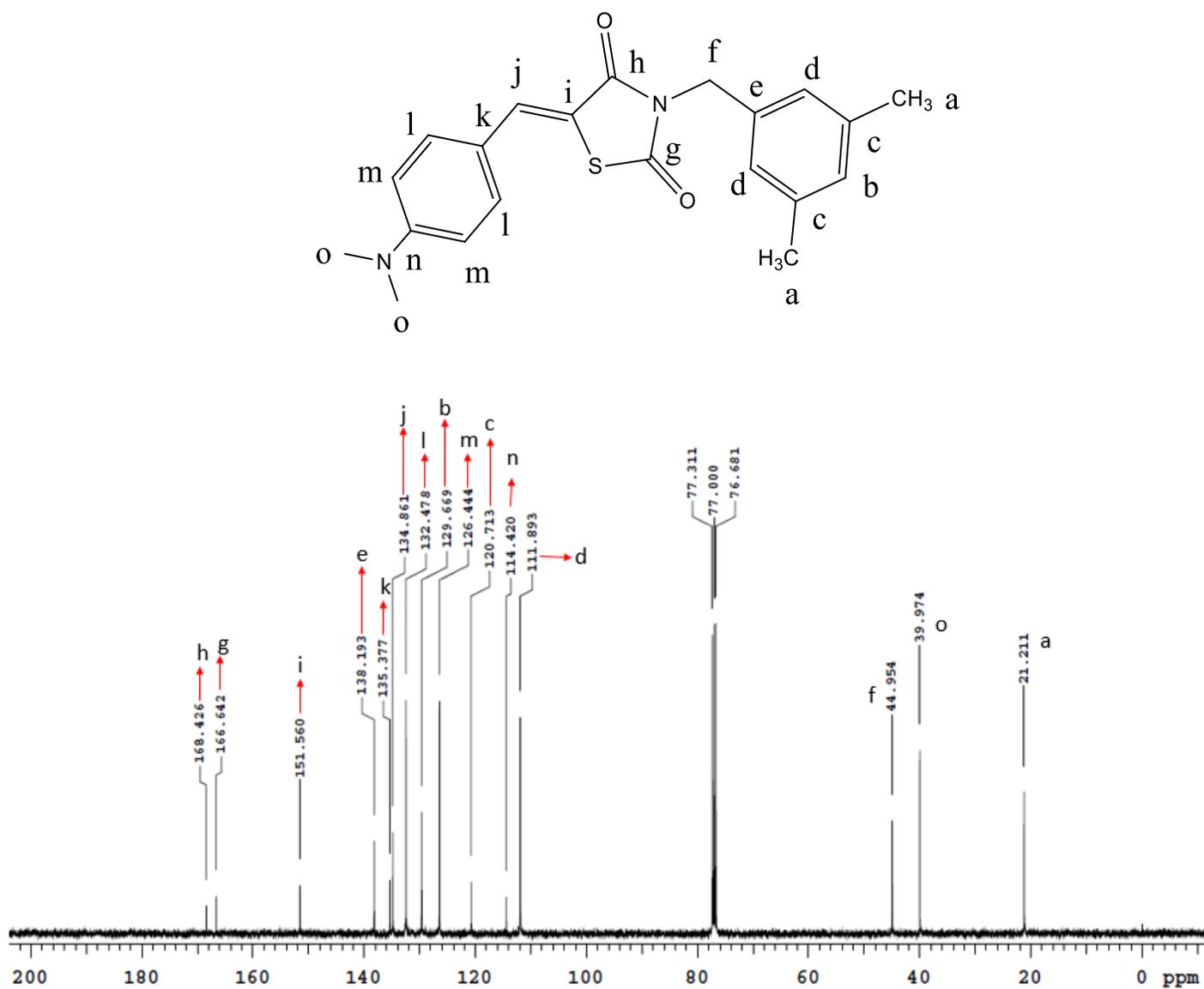


Figura 73 Espectro de RMN ^{13}C do composto LPSF/JB-14

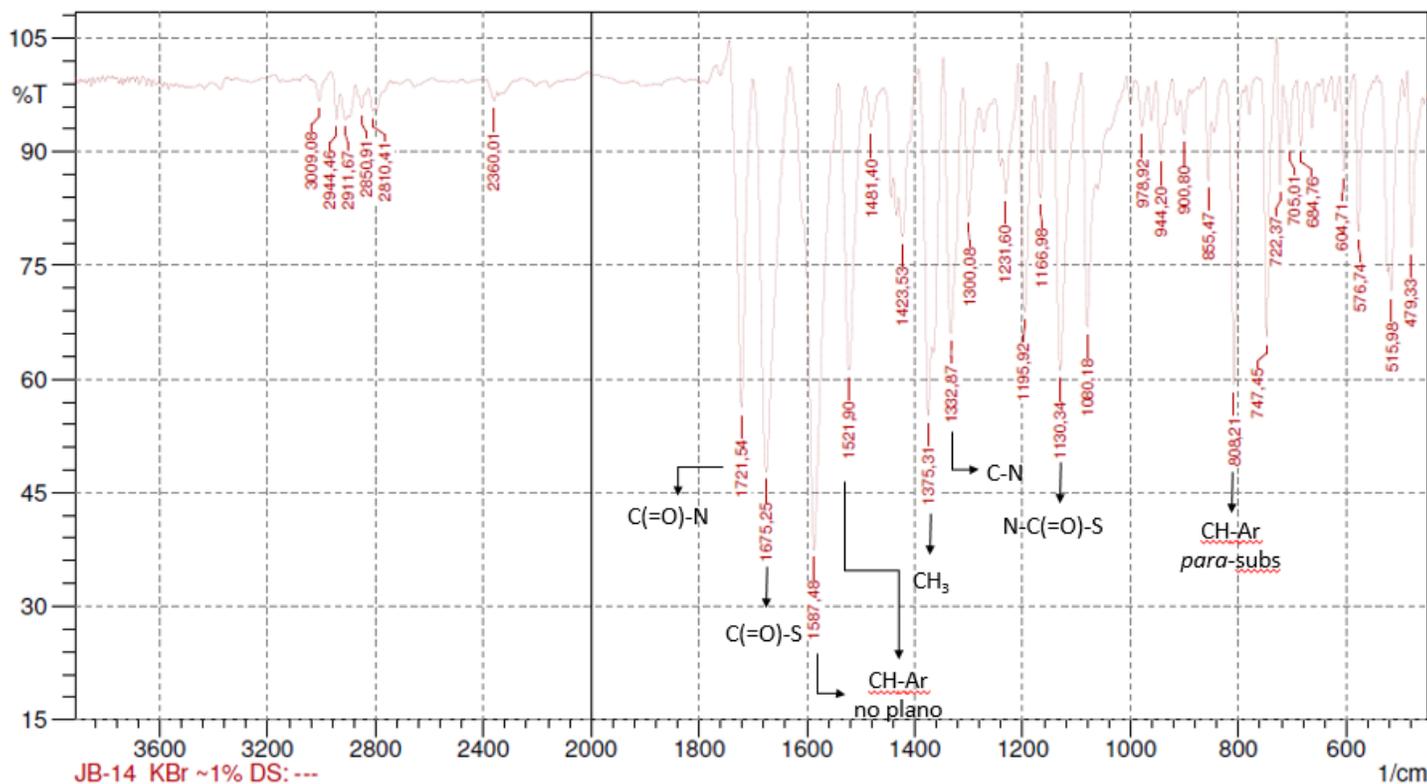
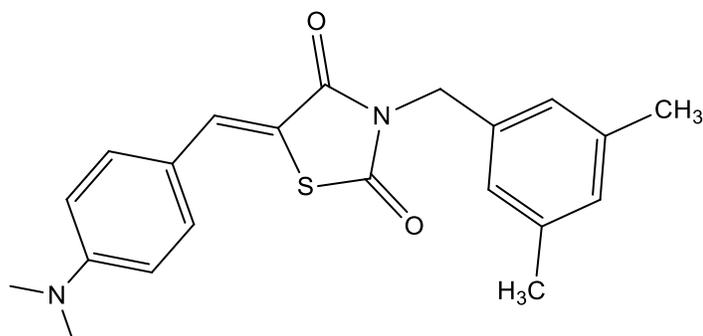
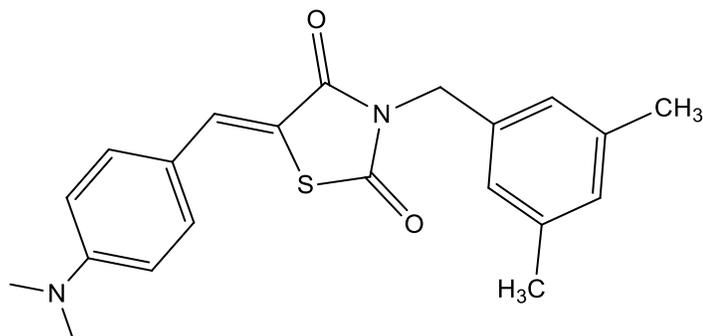


Figura 74 Espectro de IR do LPSF/JB-14. Deformação axial das ligações N-C(=O) do anel Tiazolidínico, 1721 cm^{-1} ; Deformação axial das ligações C(=O)-S do anel Tiazolidínico, 1675 cm^{-1} ; Deformação C-H de anéis aromáticos dissustituídos no plano, 1587 e 1521 cm^{-1} ; Deformação angular simétrica de CH₃, 1375 cm^{-1} ; Deformação axial C-N de amina terciária, 1332 cm^{-1} ; Deformação angular das ligações C(=O)-S do anel Tiazolidínico, 1130 cm^{-1} ; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 808 cm^{-1} (anel *para*-substituído).



Line#:1 R.Time:26.7(Scan#:2610)

RawMode:Single 26.7(2610) BasePeak:177(2357)

BG Mode:28.2(2780) Group 1 - Event 1

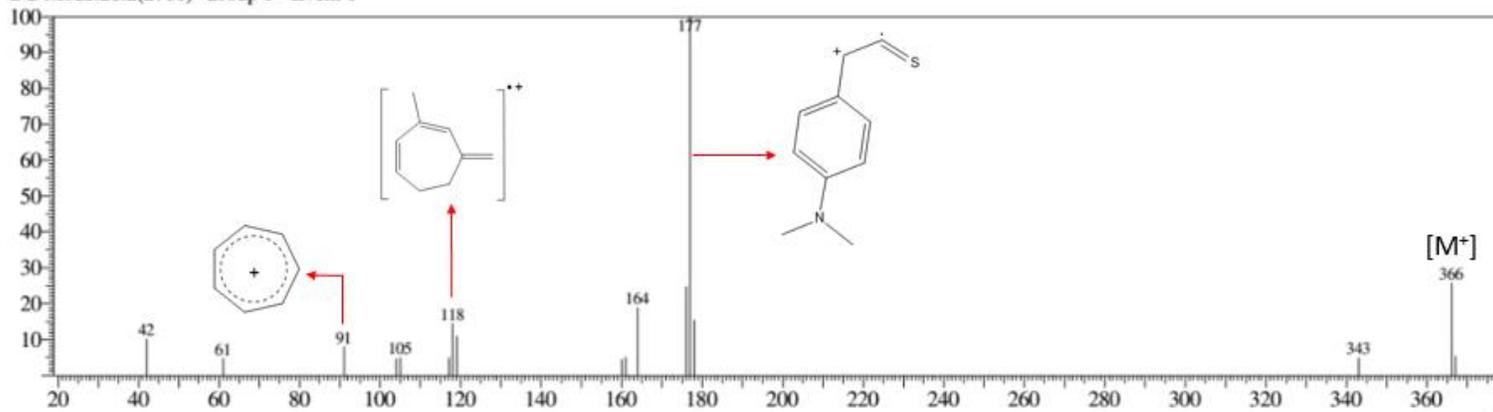
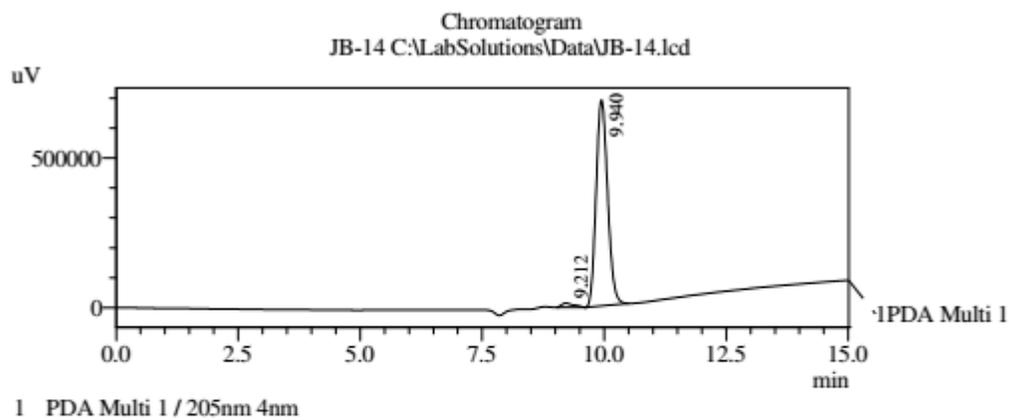
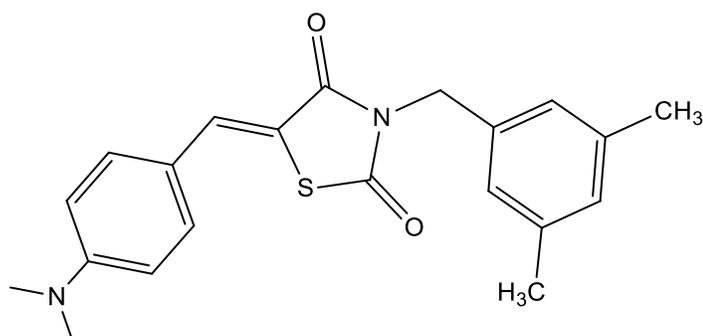


Figura 75 Espectro de Massas do LPSF/JB-14 obtido através da técnica de ionização de Impacto de Elétrons (IE). O pico de 366 m/z foi referente à Massa Molecular ionizada (M⁺) do composto, enquanto os principais picos de fragmentos foram: 177 m/z (100%) (clivagens α e β), 164 (18%) (estrutura não identificada), 118 (14%) (íon tropílio rearranjado) e 91 (8%) (íon tropílio).



PeakTable

PDA Ch1 205nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.212	234789	13527	2.041	1.931
2	9.940	11270866	687110	97.959	98.069
Total		11505655	700636	100.000	100.000

Figura 76 Cromatograma do LPSF/JB-14 obtido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). O produto apresentou 97,95% de pureza.

5-((5-bromo-1H-indol-3-il)metileno)-3-(3,5-dimetilbenzil)thiazolidina-2,4-diona (LPSF/JB-20)

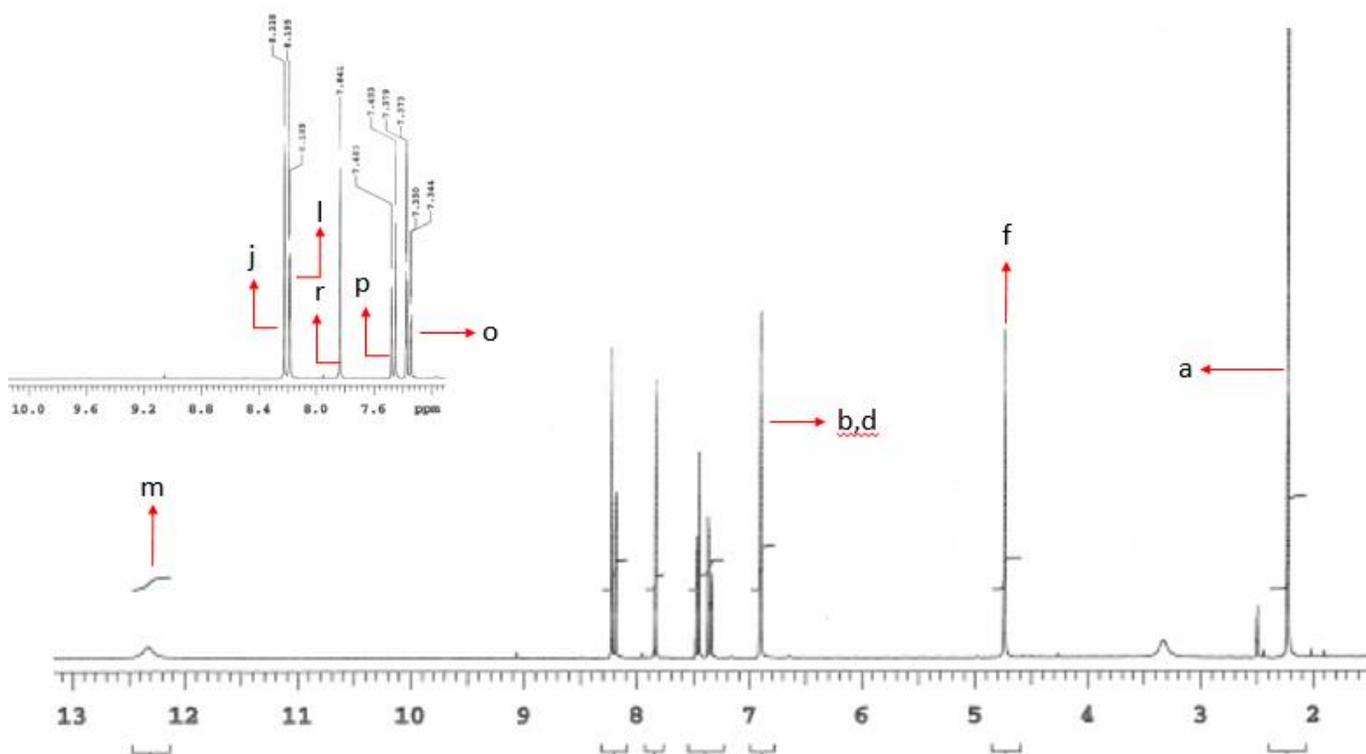
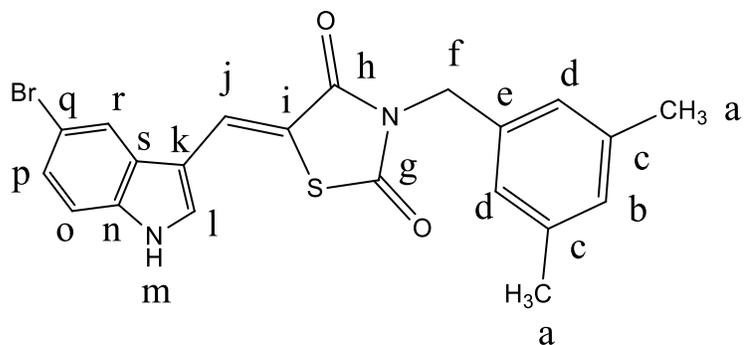


Figura 77 Espectro de RMN¹H do composto LPSF/JB-20

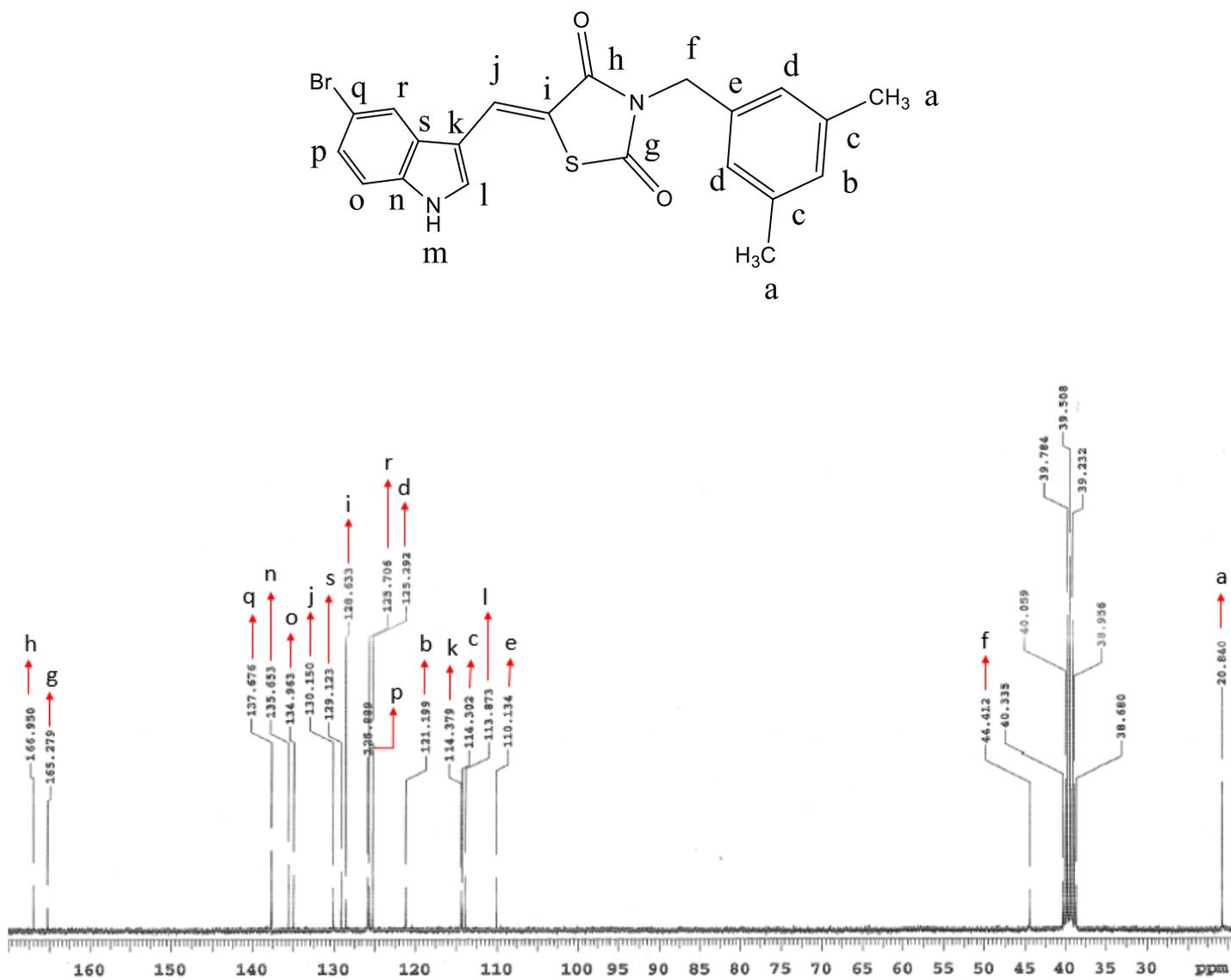


Figura 78 Espectro de RMN ^{13}C do composto LPSF/JB-20

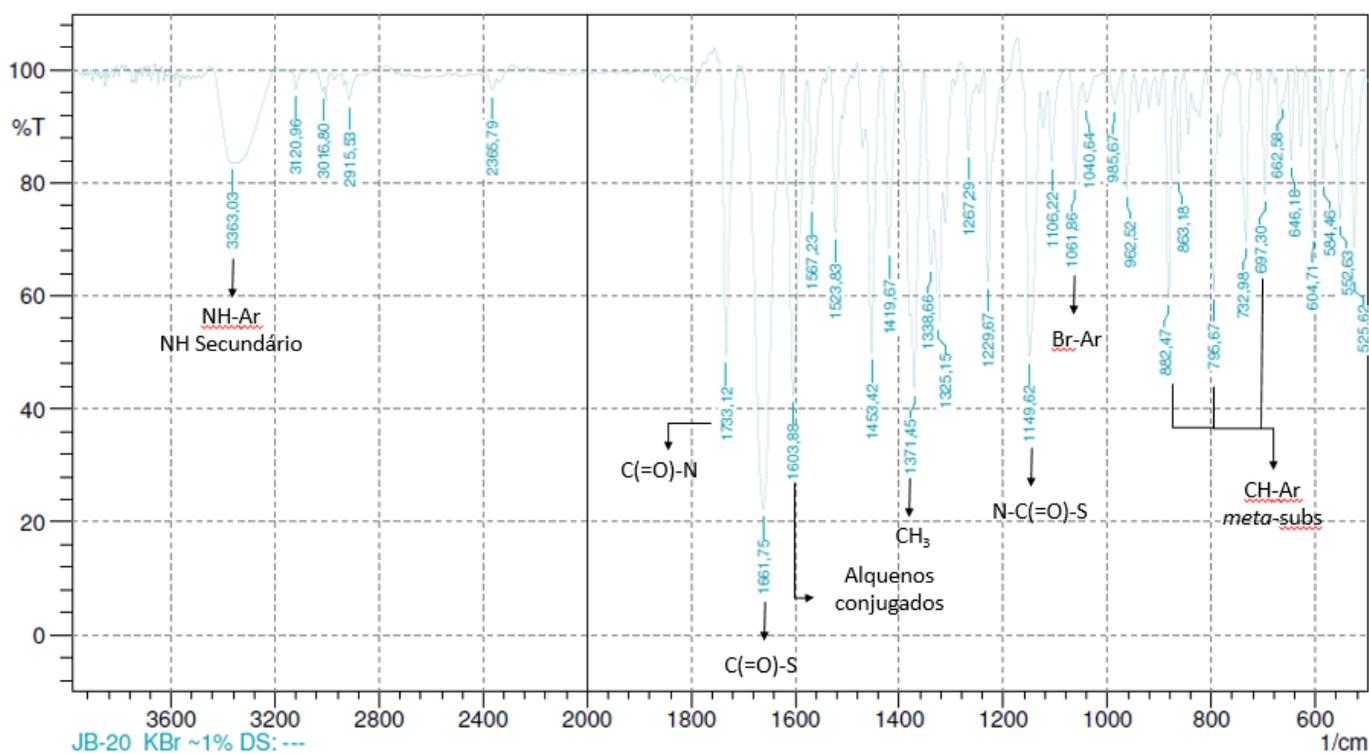
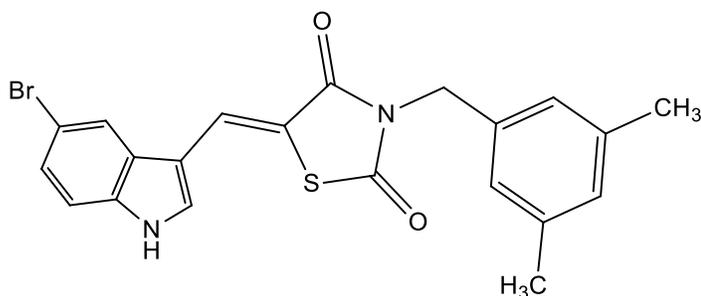


Figura 79 Espetro de IR do LPSF/JB-14. Deformação angular NH de amina secundária aromática, 3363 cm⁻¹; Deformação axial das ligações N-C(=O) do anel Tiazolidínico, 1733 cm⁻¹; Deformação axial das ligações C(=O)-S do anel Tiazolidínico, 1661 cm⁻¹; Deformação angular simétrica de CH₃, 1371 cm⁻¹; Deformação angular das ligações C(=O)-S do anel Tiazolidínico, 1130 cm⁻¹; Deformação axial Br-Ar, 1061 cm⁻¹; Deformação angular de CH de aromático fora do plano, 882, 796 e 697 cm⁻¹ (anel *meta*-substituído).

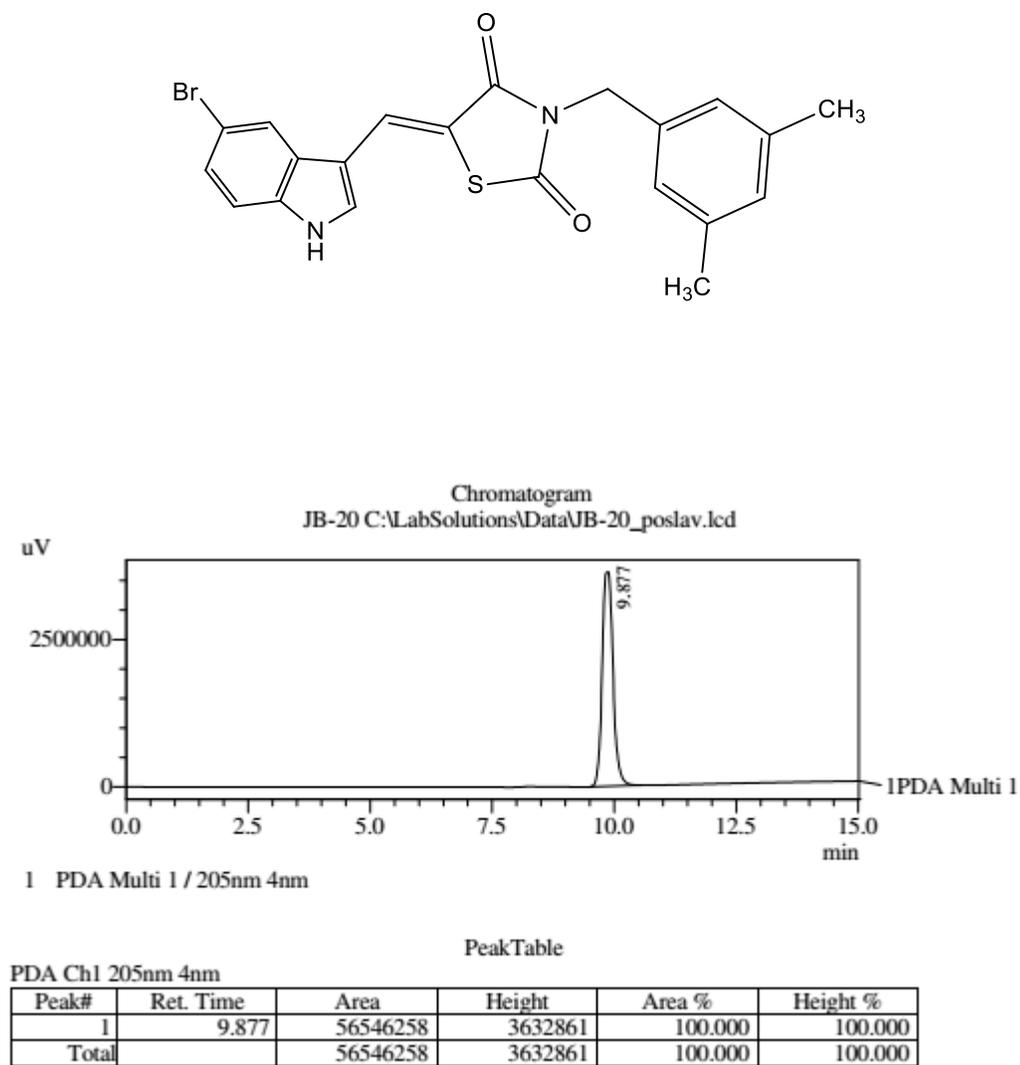


Figura 80 Cromatograma do LPSF/JB-20 obtido por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). O produto apresentou 100% de pureza.