

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos**

**NOVAS TIAZOLIDINADIONAS 3,5-DISSUBSTITUÍDAS:
SÍNTESE, COMPROVAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIINFLAMATÓRIA**

RAFAELLA MICHELLE DE LIRA MIRANDA

RECIFE - 2008

RAFAELLA MICHELLE DE LIRA MIRANDA

**NOVAS TIAZOLIDINADIONAS 3,5-DISSUBSTITUÍDAS:
SÍNTESE, COMPROVAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIINFLAMATÓRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientador:

Prof. Dr. Ivan da Rocha Pitta

Co-orientadora:

Profa. Dra. Maria do Carmo Alves de Lima

RECIFE - 2008

Miranda, Rafaella Michelle de Lira
Novas Tiazolidinadionas 3, 5-Dissubstituidas: síntese, comprovação estrutural e avaliação da atividade antiinflamatória / Rafaella Michelle de Miranda. – Recife: O Autor, 2008.

134 folhas : il., fig.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Ciências Biológicas, 2008.

Inclui bibliografia.

**1. Tiazolidinadionas 3, 5-Dissubstituidas 2. Farmacologia
3. Antiinflamatórios I. Título.**

**615.276
615.7**

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

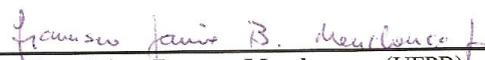
**UFPE
CCB – 2008-016**

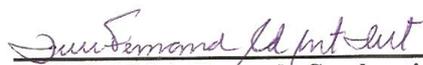
COMISSÃO EXAMINADORA

" Novas Tiazolidinadionas 3,5-dissubstituídas: Síntese, comprovação estrutural e avaliação da atividade antiinflamatória "

TITULARES


Prof. Dr. **Ivan Pitta** - (Orientador/UFPE)


Prof. Dr. **Francisco Jaime Bezerra Mendonça** - (UFPB)


Prof.^a Dr.^a **Lúcia Fernanda Cavalcanti da Costa Leite** - (UNICAP)

DEDICATÓRIA

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

Aos meus pais Hagápto e Ana, e a minha irmã Hallanna, pelo apoio que sempre me foi dado;

Ao meu esposo Fabrício, pelo carinho, força, companheirismo em todos os momentos e pela ajuda e paciência permanentes.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Ivan da Rocha Pitta, do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos do Departamento de Antibióticos da UFPE pela orientação, incentivo, colaboração e credibilidade na realização deste trabalho;

À Professora Maria do Carmo Alves de Lima, do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos do Departamento de Antibióticos da UFPE pela cooperação, amizade e incentivo;

À Professora Suely Lins Galdino, do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos do Departamento de Antibióticos da UFPE pela cordialidade, incentivo e pela colaboração nos estudos teóricos realizados;

À Professora Teresinha Gonçalves da Silva, do Laboratório de Bioensaio para Pesquisa de Fármacos, pela colaboração e atenção dispensadas no decorrer da realização dos testes para avaliação da atividade antiinflamatória dos produtos sintetizados;

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

Às colegas Juliana Cruz da Silva, Maria Andréa de Sousa Carmino e Juliana Kelle de Andrade Lemoine Neves pelo apoio, incentivo, companheirismo e pelos agradáveis momentos passados juntos;

Aos colegas do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos Anekécia Lauro da Silva; Maria Juliana Dantas de Paula; Sandra Paula Botelho; Sandra Cristina de Alcântara; Lindalva Marques da Silva; Natália Freitas de Souza; Natália Cavalcanti Colaço; Sarah Lira de Vasconcelos; Fabiana Oliveira dos Santos Gomes; Aracelly

França Luiz; Manuela dos Santos Carvalho; Micheline Miranda da Silva; Andréa Cristina Apolinário da Silva; Breno Moacir Farias de Albuquerque; Raphael Alapenha, Tiago Bento de Oliveira; Luiz Carlos Apolinário da Silva; Cleiton Diniz Barros; Ricardo Olímpio de Moura; Marina Galdino da Rocha Pitta e Iane Bezerra Vasconcelos pela força, companheirismo em todos os momentos, ajuda e paciência permanentes e pelo agradável convívio durante o período de desenvolvimento do trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Bioensaio para Pesquisa de Fármacos Thiago Ubiratan Lins e Lins; Sílvia Rafaelli Ramos; Anna Sofya V. S. da Silva; Rodrigo Felipe; Marília Maria Sitônio; Pedro Canuto V. da Costa; Sirlene Lucena de Moura e Katariny Calheiros pela colaboração e pelo convívio amigo;

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

À toda a minha família e ao meu esposo pelo apoio que sempre me foi dado;

A todos os funcionários do Departamento de Antibióticos.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas.

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

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS E DIAGRAMAS	x
LISTA DE TABELAS E ESQUEMAS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	21
2.1 GERAL	21
2.2 ESPECÍFICOS	21
3. REVISÃO DA LITERATURA	23
3.1 ANTIINFLAMATÓRIOS ESTERÓIDES (AIES)	27
3.1.1 AÇÃO SOBRE OS MEDIADORES DAS RESPOSTAS INFLAMATÓRIAS E IMUNES	27
3.1.2 EFEITOS ADVERSOS	28
3.2 ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO-ESTERÓIDES (AINES)	28
3.3 TIAZOLIDINADIONAS	36
3.4 RECEPTORES ATIVADOS POR PROLIFERADORES DE PEROXISSOMO (PPARS): ALVO PROMISSOR PARA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA	39

4. ESTUDO QUÍMICO: SÍNTESE DOS DERIVADOS	47
 TIAZOLIDINADIÔNICOS	
4.1 OBTENÇÃO DA TIAZOLIDINA-2,4-DIONA	48
4.2 REAÇÕES DE N-ALQUILAÇÃO DA TIAZOLIDINA-2,4-DIONA	48
4.3 REAÇÕES DE CONDENSAÇÃO DA 3-BENZIL-TIAZOLIDINA-2,4-DIONA COM ALDEÍDOS AROMÁTICOS OU SEUS DERIVADOS	49
4.4 MATERIAL E MÉTODOS	51
4.4.1 REAGENTES E SOLVENTES	51
4.4.2 CROMATOGRAFIA	51
4.4.3 EQUIPAMENTOS	51
4.5 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	51
4.5.1 OBTENÇÃO DA 3-BENZIL-TIAZOLIDINA-2,4-DIONA (LPSF/GQ)	51
4.5.2 OBTENÇÃO DO 2-CIANO-3-FENIL-ACRILATOS DE ETILA (LPSF/IP)	52
4.5.3 SÍNTESE DA 5-BENZILIDENO-3-(4-METIL-BENZIL)-TIAZOLIDINA-2,4-DIONA (LPSF/GQ) E DA 5-BENZILIDENO-3-(2,4-DICLORO-BENZIL)-TIAZOLIDINA-2,4-DIONA (LPSF/GQ)	52
4.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.6.1 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA	52
4.6.2 ANÁLISE ESPECTROSCÓPICA	54
4.6.2.1 ANÁLISE DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO	54
4.6.2.2 ANÁLISE DE INFRAVERMELHO	56
5. ESTUDO BIOLÓGICO	59
5.1 ANIMAIS	59
5.2 REAGENTES	60

5.3 COMPOSTOS TESTADOS	60
5.4 METODOLOGIA	61
5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
6. CONCLUSÕES	71
7. PERSPECTIVAS	74
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76

LISTA DE FIGURAS E DIAGRAMAS

Figura 1 – Cascata de recrutamento das quimiocinas (igmb.fmrp.usp.br/genex, 2007)	23
Figura 2 – Metabolismo do ácido araquidônico e classes de inibidores usados Clinicamente (Adaptado de CELOTTI e DURAND, 2003)	26
Figura 3 – Ácido acetilsalicílico	29
Figura 4 – Celecoxib e rofecoxib	32
Figura 5 – Diidrodimetilbenzofurano e licofelone	35
Figura 6 – TZDs com atividade hipoglicemiante	37
Figura 7 – Estrutura e ativação transcricional dos PPARs (MORAES et al., 2006)	39
Figura 8 - Mecanismo dos efeitos antiinflamatórios do PPAR γ (MORAES et al., 2006)	41
Figura 9 - Mecanismo dos efeitos antiinflamatórios do PPAR α (MORAES et al., 2006)	44
Figura 10 - Mecanismo dos efeitos antiinflamatórios do PPAR β/δ (MORAES et al., 2006)	45
Figura 11 - Compostos testados LPSF/GQ-14 e LPSF/GQ-18	66
Figura 12 - Compostos testados LPSF/14 e LPSF/GQ-235	67
Figura 13 - Compostos testados LPSF/GQ-18 e LPSF/GQ-108	67
Figura 14 - Composto testado LPSF/GQ-235	68
Diagrama 1 - Percentual de inibição da migração celular na dose de 3mg/Kg dos compostos testados	65
Diagrama 2 - Percentual de inibição da migração celular nas doses de 3, 0,3 e 0,03 mg/Kg dos compostos LPSF/GQ-14 e LPSF/GQ-18	66

LISTA DE TABELAS E ESQUEMAS

Tabela 1 - Características físico-químicas dos derivados tiazolidínicos metilados (LPFS/GQ)	53
Tabela 2 - Características físico-químicas dos derivados tiazolidínicos clorados (LPFS/GQ)	53
Tabela 3 - Deslocamentos Químicos (δ) dos derivados tiazolidínicos metilados (LPSF/GQ)	54
Tabela 4 - Deslocamentos Químicos (δ) dos derivados tiazolidínicos clorados (LPSF/GQ)	55
Tabela 5 - Frequências de absorção no infravermelho, em cm^{-1} para a série 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ)	56
Tabela 6 - Frequências de absorção no infravermelho, em cm^{-1} para a série 5-benzilideno-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ)	57
Tabela 7 - Atividade antiinflamatória dos derivados da série 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona	63
Tabela 8 - Atividade antiinflamatória dos derivados da série 5-benzilideno-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona	64
Tabela 9 - Percentual de inibição da migração celular e percentual de atividade comparado ao composto padrão Rosiglitazona	68
Esquema 1 – Diagrama de síntese dos derivados 5-benzilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona substituídos (LPSF/GQ)	47
Esquema 2 - Reação de N-alquilação da tiazolidina-2,4-diona	49

Esquema 3 - Reação da tiazolidina-2,4-diona de acordo com Finkbeiner (1965)	49
Esquema 4 - Reação de adição tipo Michael conduzindo aos derivados 5-benzilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ)	50
Esquema 5 - Etapas realizadas no modelo de inflamação da peritonite induzida por carragenina em camundongos	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AINEs** = Antiinflamatórios não-esteróides
- AMPc** = Adenina monofosfato cíclica
- APPROVE** = Adenomatous Polyp Prevention on Vioxx
- COX** = Ciclooxigenase
- FDA** = Food and Drug Administration
- GPIT** = Grupo de Pesquisa e Inovação Terapêutica
- HDL** = Lipoproteína de alta densidade
- IL** = Interleucina
- iNOS** = Óxido nítrico sintase induzida
- IV** = Infravermelho
- LDL** = Lipoproteína de baixa densidade
- LOX** = Lipooxigenase
- NFκB** = Fator Nuclear κB
- PAF** = Fator Ativador de Plaquetas
- PGI₂** = Prostaciclina I₂
- PGA-1** = Prostaglandina A-1
- PGD₂** = Prostaglandina D₂
- PPAR** = Receptor ativador de proliferação de Peroxissomo
- RMN¹H** = Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
- TNFα** = Fator de Necrose Tumoral alfa
- TXA₂** = Tromboxano A₂
- TZDs** = Tiazolidinas
- VIGOR** = Vioxx Gastrintestinal Outcomes Research
- VSMCs** = Células da musculatura lisa vascular
- UFPE** = Universidade Federal de Pernambuco
- LPSF** = Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos
- EDTA** = Etileno Diamino Tetra Acetato de sódio
- MNC** = Células mononucleares circulantes
- MCP-1** = Monocyte chemotatic protein-1

ICAM-1 = Intercelular adhesion molecule-1

VCAM-1 = Vascular cell adhesion molecule-1

I-TAC = Interferon-inducible T cell chemoattractant

MIG = Monokine induced by gamma interferon

IP-10 = Proteína induzível por interferon a

RESUMO

Ao núcleo tiazolidínico, devido à sua reatividade química, são atribuídas diversas atividades biológicas, fato que direcionou nossas pesquisas na busca de novos agentes biologicamente ativos. Estudos recentes têm demonstrado o potencial dos derivados tiazolidínicos em inibir a resposta inflamatória, caracterizada pela liberação de diferentes mediadores endógenos pró-inflamatórios (prostaglandinas e leucotrienos), a partir da conversão do ácido araquidônico pelas enzimas ciclooxigenase e lipoxigenase. Alguns estudos têm relacionado esta atividade à ativação do receptor PPAR γ , pelo fato das tiazolidinas serem ligantes sintéticos desses receptores. Neste trabalho foram sintetizados três compostos da série 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-14, LPSF/GQ-18, LPSF/GQ-21) e quatro compostos da série 5-benzilideno-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-108, LPSF/GQ-109, LPSF/GQ-235, LPSF/GQ-265). A preparação desses derivados tiazolidínicos foi realizada a partir da reação de adição de Michael entre a 3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-1) e a 3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-53) com derivados 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila substituídos (LPSF/IP). Esses derivados foram obtidos de forma satisfatória com rendimento na última etapa variando entre 35 e 83%. As estruturas químicas foram devidamente comprovadas por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H) e infravermelho. Seis compostos (LPSF/GQ-14, LPSF/GQ-18, LPSF/GQ-108, LPSF/GQ-109, LPSF/GQ-235 e LPSF/GQ-265) foram selecionados e tiveram sua atividade antiinflamatória avaliada frente ao modelo de inflamação da peritonite induzida por carragenina em camundongos. Todos os compostos testados demonstraram significativa atividade antiinflamatória com percentual de inibição da migração celular variando entre 43 e 79%. O composto LPSF/GQ-235 se revelou o mais ativo dentre os compostos testados na dose de 3mg/Kg, apresentando uma inibição de 79% da migração celular e 97% da atividade da Rosiglitazona (composto padrão). Os resultados obtidos são importantes e comprovam o potencial dos derivados tiazolidínicos substituídos nas posições 3 e 5 como candidatos a novos agentes antiinflamatórios.

Palavras-Chaves: Tiazolidinona, Atividade antiinflamatória.

To the thiazolidinic nucleus, due to their chemical reactivity, are attributed several biological activities, fact that directed our research in search of new biologically active agents. Recent studies have demonstrated the potential of thiazolidinics derivatives in inhibiting the inflammatory response, characterized by the release of various endogenous pro-inflammatory mediators (prostaglandins and leukotrienes) from the conversion of arachidonic acid by the cyclooxygenase and lipoxygenase enzymes. Some studies have linked this activity to the activation of PPAR γ receptor, because of thiazolidinas are synthetic ligands of these receptors. In this work three compounds were synthesized in the series 5-benzylidene-3-(4-methyl-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione (LPSF/GQ-14, LPSF/GQ-18, LPSF/GQ-21) and four compounds of the series 5-benzylidene-3-(2,4-dichloro-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione (LPSF/GQ-108, LPSF/GQ-109, LPSF/GQ-235, LPSF/GQ-265). The preparation of these thiazolidinics derivatives was conducted from the reaction of addition of Michael between 3-(4-methyl-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione (LPSF/GQ-1) and 3-(2,4-dichloro-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione (LPSF/GQ-53) with substituted derivatives ethyl-(2-cyano-3-phenyl)-acrylates (LPSF/IP). These derivatives were obtained in a satisfactory manner with yield in last stage between 35 and 83%. The chemical structures were properly supported by nuclear magnetic resonance hydrogen (RMN¹H), and infrared. Six compounds (LPSF/GQ-14, LPSF/GQ-18, LPSF/GQ-108, LPSF/GQ-109, LPSF/GQ-235 e LPSF/GQ-265) were choosed and their antiinflammatory activity was evaluated in the inflammation model of peritonitis carrageenan-induced in mice. All tested representatives of the series mentioned above showed significant antiinflammatory activity with percentage of inhibition of cell migration varying between 43 and 79%. The compound LPSF/GQ-235 proved to be the most active among the compounds tested in the dose of 3 mg/Kg, reaching a level of inhibition of 79% of cell migration and 97% of Rosiglitazone's activity (reference compound). The results are important and show the potential of thiazolidinics derivatives replaced in positions 3 and 5 as candidates for new antiinflammatory agents.

Keywords: Thiazolidinone, Antiinnflamatory



INTRODUÇÃO



1. INTRODUÇÃO

A Química Medicinal, área interdisciplinar do conhecimento, baseada essencialmente na Química, mas também envolvendo princípios da Biologia, Medicina e Ciências Farmacêuticas, se preocupa com a invenção, descoberta, planejamento, identificação e preparação de compostos biologicamente ativos, bem como, o estudo de seu metabolismo, a interpretação de seu modo de ação a nível molecular e a construção de relações entre estrutura química e atividade biológica (IUPAC, 1998). Assim, a química medicinal figura-se como um grande desafio para os pesquisadores que almejam contribuir para o avanço dessa área multi-, trans- e interdisciplinar (MONTANARI, 2000).

Dentre os recursos utilizados pelos químicos medicinais objetivando o desenvolvimento de um fármaco com uma atividade biológica específica, é bastante útil a modificação estrutural de um composto protótipo - aquela substância que apresenta atividade biológica desejada, mas que ainda revela certos efeitos indesejados - com o intuito de obter sua otimização. Na pesquisa para a identificação de um novo composto protótipo ou uma nova entidade química que possa representar um novo candidato a fármaco, elege-se o melhor alvo farmacológico para aquela aplicação terapêutica e, em função do nível de conhecimento estrutural disponível sobre este receptor, identifica-se a melhor estratégia para a construção da arquitetura molecular do novo ligante desejado.

Em anos recentes, as 4-tiazolidinonas e as oxazolidinonas são as classes de compostos mais extensivamente investigadas. Substâncias contendo estes heterociclos apresentam diversas atividades biológicas, tais como antifúngica e antibacteriana (LABOUTA et al., 1987; GOES et al., 1991; LIMA et al., 1992), hipoglicemiante (MOURÃO et al., 2005) inibidora do crescimento de plantas, repelente contra o mosquito da espécie *Aedes aegypti* e antiinflamatória (RANI et al., 2002), dentre outras.

A inflamação, resposta fisiológica do organismo desencadeada por um trauma ou infecção, devido à sua complexidade e diversidade de mediadores fisiopatológicos envolvidos, pode ser tratada por diferentes abordagens terapêuticas. Fármacos antiinflamatórios não-esteróides (AINEs), família estruturalmente não homogênea de inflamatórias, dor e febre (PAVLOV e TRACEY, 2005; OTTANA et al., 2005). Vane (1971) propôs que o mecanismo de ação da aspirina e outros AINEs estaria relacionado à inibição da biossíntese das prostaglandinas, mediadores fisiológicos que participam da resposta inflamatória.

18

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

Tendo por alicerce a Química Medicinal, as atividades de pesquisa desenvolvidas no Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos do Departamento de Antibióticos (LPSF/GPIT/UFPE) têm como objetivo principal o estudo de substâncias sintéticas, possuidoras de ação biodinâmica, como matéria prima para o desenvolvimento de novos fármacos. A necessidade de novas substâncias terapêuticas mais eficazes, com baixa toxicidade e maior especificidade, tem levado pesquisadores a intensificar os estudos para a descoberta de novos fármacos.

A partir desses dados propomos no presente trabalho a síntese e avaliação biológica de novas moléculas 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-benzilideno-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ), que foram sintetizadas e estruturalmente comprovadas para que sejam avaliadas suas propriedades biológicas, especificamente a atividade antiinflamatória.



OBJETIVOS



2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Obter novas moléculas 5-benzilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ), substituídas no radical benzila por cloro e metila.

2.2 Específicos

Sintetizar novas moléculas 5-benzilideno-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) contribuindo na introdução de novos agentes com potencial atividade antiinflamatória;

Comprovar as estruturas dos compostos sintetizados utilizando métodos espectroscópicos convencionais: ressonância magnética nuclear de hidrogênio e infravermelho.

Avaliar a atividade antiinflamatória dos compostos sintetizados através do teste da medida da peritonite induzida por carragenina em camundongos.

REVISÃO DA LITERATURA



3. REVISÃO DA LITERATURA

O processo inflamatório consiste na resposta orgânica diante de lesão tissular ou infecção (TILLEY et al., 2001). A finalidade do processo inflamatório é o de livrar o organismo do responsável pela injúria e das suas conseqüências. A reparação do tecido lesado é parte integrante deste processo, após eliminação do fator agressivo (LOUZADA et al., 2003). Esta resposta padrão é comum a vários tipos de tecidos vivos e é mediada através de substâncias produzidas pelas células danificadas chamadas mediadores químicos (substâncias químicas produzidas durante a inflamação que modulam os processos vasculares e a ativação leucocitária). Como observado na figura 1, esses mediadores iniciais são produzidos pela ativação de células imunes como monócitos, macrófagos e neutrófilos (BEUTLER e RIETSCHER, 2003; FUJIHARA et al., 2003), que liberam as primeiras citocinas pró-inflamatórias (Fator de necrose tumoral α (TNF α) e interleucina-1 (IL-1)) provocando respostas imunes locais, também chamadas de resposta inflamatória aguda (DHILLON et al., 2005). Esta resposta inicial é impulsionada por um quadro de mediadores pró-inflamatórios secundários (espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e degradação de ácidos graxos) (SINGH e EVANS, 2006).

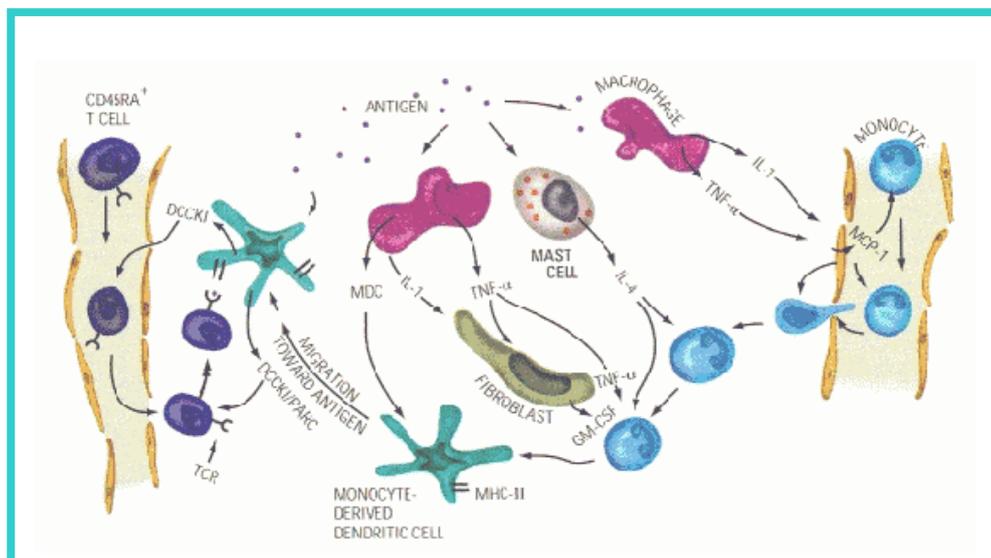


Figura 1. Cascata de recrutamento das quimiocinas (igmb.fmrp.usp.br/genex, 2007)

Este processo fisiológico envolve uma ação coordenada entre o sistema imunológico e o tecido no qual ocorreu a lesão (TILLEY et al., 2001). Entretanto, há um delicado equilíbrio entre os efeitos benéficos da cascata da inflamação e seu

23

resolvidos, a cascata da inflamação pode conduzir ao desenvolvimento de doenças inflamatórias crônicas tais como asma crônica, artrite reumatóide, esclerose múltipla, doença inflamatória do intestino e psoríase.

As moléculas mediadoras da inflamação mais frequentemente investigadas são os compostos eicosanóides (prostanóides e leucotrienos), citocinas, fatores de crescimento tumoral, óxido nítrico, dentre outras (SARZI-PUTTINI et al., 2005; VAN KEMPEN et al., 2006; WERNER e ALZHEIMER, 2006) podendo ser agrupadas da seguinte forma: Aminas vasoativas (Histamina e Serotonina) que medeiam a vasodilatação e o aumento da permeabilidade vascular (HARMAN, 1957); Proteases do plasma (Sistema complemento) que medeiam a permeabilidade vascular, quimiotaxia, adesão de leucócitos, ativação, opsonização e fagocitose (RILEY, 1994); Cininas (bradicinina) que aumentam a permeabilidade vascular e ativam o sistema de coagulação, gerando trombina e Fator Xa, que aumentam a adesão de leucócitos e proliferação de fibroblastos; Calicreína (fator ativador do plasminogênio); Fatores do sistema de coagulação; Metabólitos do ácido araquidônico (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos e leucotrienos) que medeiam o aumento da permeabilidade vascular, quimiotaxia e adesão leucocitária (FARBER et al., 1990); PAF – Fator Ativador de Plaquetas; Citocinas (TNF- α , IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, interferons e quimiocinas como IL-8 e MCP-1) que tem propriedades multifuncionais influenciando todos os aspectos do processo inflamatório (FLOREY, 1970); Óxido nítrico, que age como um potente vasodilatador (MAJNO, 1975); Radicais livres derivados de oxigênio que podem ser liberados extracelularmente pelos leucócitos após exposição à agentes quimiotáticos ou complexos imunes dentre outros.

Dentre as muitas rotas ou cascatas da inflamação, existem alguns alvos moleculares pivôs que, quando antagonizados ou neutralizados, bloqueiam a produção da rota ou cascata. Historicamente, nos últimos 20 anos da era moderna da descoberta

de fármacos baseada em alvos, um pequeno número relativo de alvos pivôs têm sido identificados por terem produzido com sucesso alguns efeitos antiinflamatórios. Muitos deles são antagonistas dos mediadores pró-inflamatórios endógenos tais como prostaglandinas, leucotrienos e histamina. Esses alvos incluem o receptor H1 da histamina, as enzimas Ciclooxygenase 1 e 2 (COX 1 e COX 2), a citocina Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α) e o receptor cisteinil de leucotrienos C4 e D4 (DREWS e RYSER, 1997).

O processo inflamatório pode ser tratado por diferentes intervenções terapêuticas, visto sua complexidade e a diversidade de mediadores fisiológicos envolvidos. A maneira mais clássica compreende o emprego de inibidores da prostaglandina-endoperóxido sintase, também denominada ciclooxygenase (COX), enzima responsável pela transformação do ácido araquidônico em prostaglandinas, efeito associado aos agentes antiinflamatórios não-esteróides (AINEs) clássicos (VANE, 1971). As prostaglandinas são produzidas pela maioria das células, desempenhando também papéis importantes como citoprotetora no trato gastrointestinal, no rim como responsáveis pela função renal normal, e permitindo também a agregação plaquetária. Diante de um trauma tissular, o acúmulo local de prostaglandinas, tromboxanos e outros mediadores químicos provocam um número de feições características da resposta do corpo à injúria tecidual ou inflamação como dilatação dos pequenos vasos sanguíneos conduzindo ao desenvolvimento do rubor e calor e aumentando a permeabilidade vascular conduzindo ao inchaço característico do tecido e também ocasionam a “sensibilização periférica” da dor, que se caracteriza por uma alteração no limiar dos nociceptores. Assim, sabe-se no momento que as prostaglandinas desempenham um importante papel tanto na patologia como nos processos fisiológicos (ALLISON et al., 1992).

Nas células do organismo humano, com exceção dos glóbulos vermelhos do sangue, vários ácidos graxos essenciais, tais como, o ácido α -linolênico e o ácido α -linoléico, obtidos a partir da dieta são convertidos a ácido araquidônico e incorporado a estrutura da membrana celular, o qual desempenha um papel regulador chave na biossíntese das prostaglandinas, tendo sua rota metabólica ilustrada na figura 2, onde mostra ser metabolizado por duas importantes famílias de enzimas, as ciclooxygenases

(COX-1 e 2) e as lipooxigenases (5-, 8- 12 e 15-LOX), dando origem aos mediadores químicos pró-inflamatórios. As prostaglandinas pró-inflamatórias, produzidas via rota das COX, e os leucotrienos, produzidos via rota das LOX, estão implicados em processos fisiológicos tais como inflamação, febre, dor, artrite, broncoespasmo (CHARLIER e MICHAUX, 2003) e na etiologia do câncer (POMMERY et al., 2004). As prostaglandinas que induzem esses efeitos indesejáveis são produzidas pela via da isoenzima induzida COX-2 visto que, as prostaglandinas que regulam desejavelmente a citoproteção gastrointestinal e funções renais são produzidas pela via da isoenzima constitutiva COX-1 (CHARLIER e MICHAUX, 2003). Diferentes processos infecciosos, inflamatórios, imunógenos, irritantes químicos, assim como traumas físicos podem estimular a liberação de ácido araquidônico mediado pelas fosfolipases (VANE e CORIN, 2003; STAMP et al., 2005; MILLER, 2006).

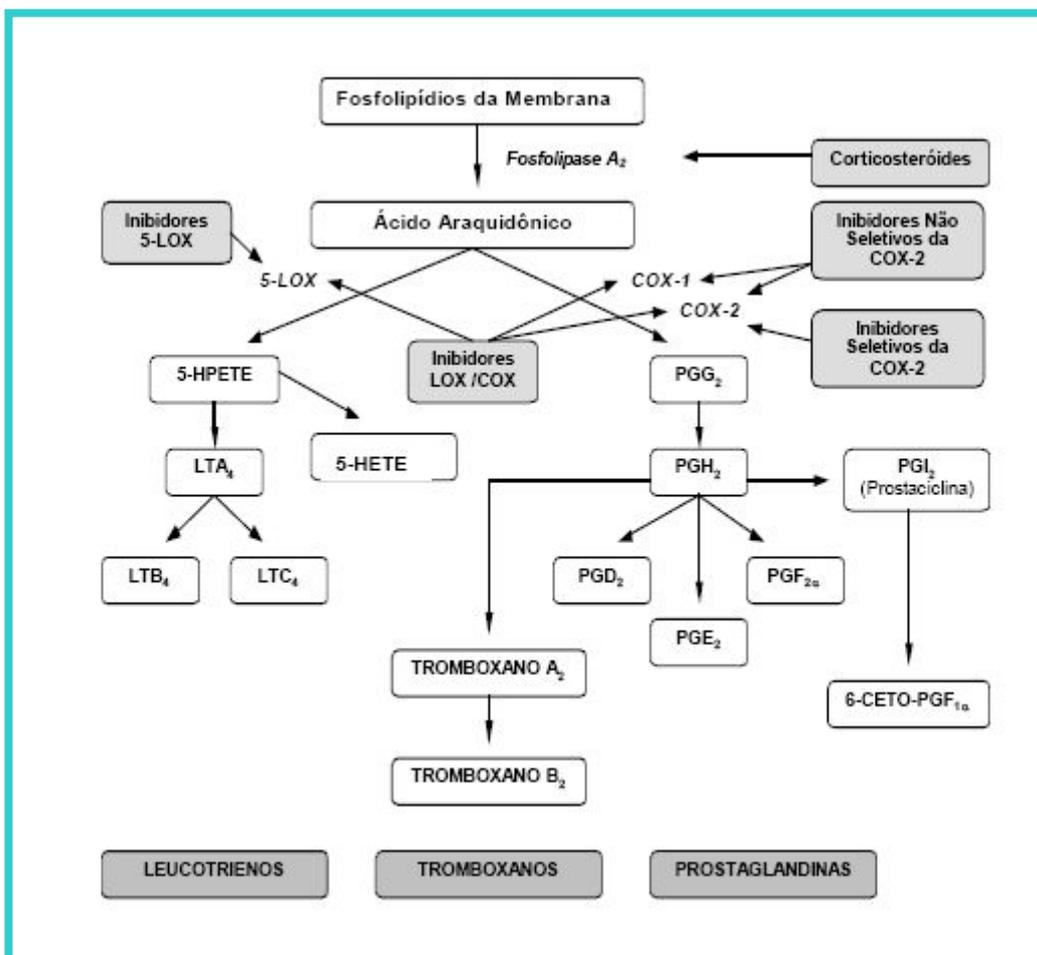


Figura 2. Metabolismo do ácido araquidônico e classes de inibidores usados clinicamente (Adaptado de CELOTTI e DURAND, 2003)

3.1. Antiinflamatórios Esteróides (AIEs)

Os principais esteroides supra-renais são aqueles com atividade mineralocorticóide e glicocorticóide. As duas ações não são totalmente separadas nos esteróides de ocorrência natural, e alguns glicocorticóides exercem efeitos muito significativos sobre o equilíbrio hidroeletrolítico. Além de seus efeitos metabólicos, os glicocorticóides também exibem atividade antiinflamatória e imunossupressora, e é por estas ações que são mais comumente utilizados na terapêutica. Quando são administrados como agentes antiinflamatórios e imunossupressores, todas as suas outras ações transformam-se em efeitos colaterais indesejáveis. Eles inibem as manifestações tanto iniciais quanto tardias da inflamação, isto é, não apenas o rubor, o calor, a dor, e o edema iniciais, mas também os estágios posteriores de cicatrização, reparo dos tecidos e reações proliferativas observadas na inflamação crônica. Foram desenvolvidos esteróides sintéticos nos quais foi possível separar as ações glicocorticóides das ações mineralocorticóides, entretanto, não foi possível separar as ações antiinflamatórias das outras ações dos glicocorticóides (RANG et al., 2001).

Os antiinflamatórios esteróides, ou seja, os corticóides são os antiinflamatórios mais eficazes disponíveis, suplantando em eficácia os AINEs. Promovem uma melhora de várias manifestações clínicas, porém em princípio sem alterar a evolução da doença básica. Seu mecanismo de ação consiste em reprimir a expressão de genes reguladores do processo inflamatório. Esta repressão é obtida em parte, por inibição da ação de vários fatores de transcrição, como AP-1 e NFκB. Estes fatores de transcrição normalmente “liberam” os genes da COX-2, de várias citocinas e da forma indutível da óxido nítrico sintase (RANG et al., 2001). Os corticóides diferem entre si quanto à potência e à duração de ação, que pode ser curta (menos de 12 horas), intermediária (18 a 36 horas) ou longa (36 a 54 horas).

3.1.1. Ação sobre os mediadores das respostas inflamatórias e imunes

Esta classe de antiinflamatórios promove a redução de prostanóides, devido à expressão reduzida da COX-2; redução na produção de citocinas – IL-1, IL-2, IL-3, IL-

4, IL-5, IL-6, IL-8, TNF- α e fatores de adesão celular (devido à inibição da transcrição dos genes relevantes); redução na concentração plasmática de componentes do complemento; redução na produção de óxido nítrico induzido (RANG et al., 2001).

Embora possuam muitos benefícios, há risco de potenciais efeitos adversos vistos em vários tecidos orgânicos. Isto dependerá basicamente das doses empregadas e da duração do tratamento. Para casos agudos, geralmente a tolerância é boa, com os pacientes não apresentando qualquer problema. Para uso por longo tempo porém, podem haver efeitos adversos graves.

3.1.2. Efeitos adversos

Podem ocorrer efeitos adversos em casos de tratamento prolongado, como por exemplo a maior predisposição a infecções e supressão da capacidade de sintetizar corticosteróides. São citados como efeitos adversos: osteoporose com conseqüente risco de fratura, redução da massa muscular (atrofia e fraqueza), adelgaçamento da pele, diabetes, úlcera péptica, modificações do humor (euforia, depressão) e do psiquismo (sintomas psicóticos), edema, catarata, glaucoma, hipercoagulabilidade do sangue, febre, distúrbios da menstruação, aftas (infecção fúngica - quando administrados por inalação), acúmulo de gordura na área posterior do pescoço (“pescoço de búfalo”) e na face (“face de lua”) e inibição do crescimento em crianças (RANG et al., 2001).

3.2. Antiinflamatórios Não-Esteróides (AINEs)

Conhecidos pela humanidade há cerca de 100 anos, os fármacos antiinflamatórios não-esteróides (AINEs) estão entre os agentes farmacológicos mais utilizados na prática médica. Eles apresentam um amplo espectro de indicações terapêuticas, tais como: analgésicos, antiinflamatórios, antipiréticos e profilático contra doenças cardiovasculares (ácido acetilsalicílico) (DUBOIS et al., 1998). A grande popularidade dos AINEs é atribuída à sua eficácia e à segurança relativa que se tem com seu uso, principalmente, quando utilizados em doses terapêuticas, por curto espaço de tempo (BENNET et al., 1996). Entretanto, seu uso por tempo prolongado, em indivíduos suscetíveis, está associado a efeitos adversos em múltiplos órgãos, incluindo

o trato gastro-intestinal e os rins (KHAN et al., 1998). Estima-se que 25% dos pacientes que fazem uso de AINEs experimentam algum tipo de efeito colateral e até 5% podem sofrer conseqüências graves (DUBOIS et al., 1998).

O primeiro AINE sintetizado foi o ácido acetilsalicílico, pelo químico alemão Felix Hoffman, em 1893. Mas até 1971 pouco se conhecia sobre o real mecanismo de ação dos fármacos antiinflamatórios como a aspirina (ácido acetilsalicílico - Figura 3). Algumas evidências demonstravam que elas produziam efeitos antiinflamatórios que eram qualitativamente e quantitativamente diferentes dos antiinflamatórios esteroidais, e sua ação analgésica era de natureza diferente que a produzida pelos compostos opióides. Neste mesmo ano foi proposto por Vane que as substâncias antiinflamatórias inibiam a síntese de prostaglandinas (CARMICHAEL e SHANEL, 1985). Desta forma, Vane em 1971 foi o primeiro a propor que os efeitos terapêuticos e colaterais dos antiinflamatórios não-esteróides resultavam da inibição da enzima ciclooxigenase por estes compostos. Assim, tais agentes reduzem a síntese de prostaglandinas, diminuindo a intensidade do processo inflamatório e conseqüentemente a nocicepção periférica. Também tem sido atribuído a tais agentes um possível efeito antinociceptivo central (DAHL e AEDER, 2000; YAKSH et al., 2001). Esta hipótese amplia os horizontes para investigação futura da compreensão da biorregulação e implicações terapêuticas da fisiologia das prostaglandinas.

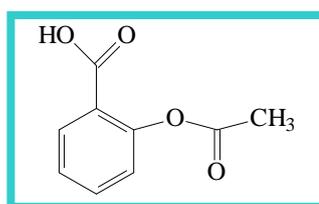


Figura 3. Ácido acetilsalicílico

Os primeiros AINEs desenvolvidos foram os clássicos AINEs não-específicos, que inibem as duas isoformas da enzima ciclooxigenase (FITZGERALD, 2002) e, apesar de terem eficácia comprovada quanto ao efeito antiinflamatório a que se propõem, têm uso contínuo limitado devido a incidência de efeitos gastrintestinais adversos (BOMBARDIER et al., 2000), como dispepsia e dor abdominal, além de

perfuração ou sangramento gastroduodenal em menor proporção (FITZGERALD e PATRONO, 2001) e, menos freqüentemente, nefro-tóxicos (SCHLONDORFF, 1993).

Com o passar do tempo, o tratamento das doenças inflamatórias ganhou uma nova abordagem pela descoberta de uma segunda isoforma da COX, a COX-2, descrita em 1992 por Holtzman e colaboradores (HOLTZMAN et al., 1992). Os resultados subseqüentes dos estudos sobre sua função fisiológica indicaram que esta isoforma da enzima, é a forma induzida por estímulos inflamatogênicos em células que promovem a inflamação tais como fibroblastos, macrófagos, monócitos e células sinoviais. O reconhecimento das diferenças morfofisiológicas entre as duas isoformas da COX, sendo a forma constitutiva (COX-1) relacionada aos efeitos secundários dos AINEs clássicos e a segunda isoforma, mais recentemente descoberta (COX-2), a forma induzida, permitiu prever-se a possibilidade de se desenvolverem inibidores seletivos desta última isoforma, como estratégia para se obter efeito antiinflamatório desprovido de efeitos colaterais indesejáveis (REITZ et al., 1994). A indução da COX-2 por agentes pró-inflamatórios conhecidos, como por exemplo: Interleucina-1 (MITCHELL et al., 1994), lipopolissacarídeo (HEMPEL et al., 1994), fator de necrose tumoral- α (MITCHELL et al., 1994), éteres de forbol, fator de transformação de crescimento β 1, soro, endotelina e fator de ativação plaquetária explicam a elevada concentração desta isoforma nos tecidos inflamados e, conseqüentemente, a maior concentração de prostaglandinas nos sítios inflamatórios. Por outro lado, a COX-1 é a isoforma da COX que, sob condições fisiológicas, produz prostaglandinas necessárias à modulação da homeostase vascular das funções renais e gastro-intestinais (a COX-1 faz parte da constituição do trato gastrintestinal, sendo associada à produção de muco protetor e à inibição da secreção gástrica, portanto, drogas que inibem essa isoforma da enzima causam diversos distúrbios no trato digestivo; nas plaquetas, está associada à síntese do tromboxano A₂, substância que favorece a agregação e adesão plaquetária, portanto, sua inibição está associada ao risco de sangramento cutâneo e gastrintestinal). Os AINEs clássicos disponíveis no mercado reduzem a biossíntese de prostaglandinas fisiológicas e fisiopatológicas através da inibição indiscriminada da COX-1 e COX-2. É possível que a inibição da COX-2 seja responsável pelo efeito antiinflamatório apresentado pelos AINEs e que a inibição da COX-1 seja responsável pelos efeitos secundários indesejados destes agentes (GIERSE et al., 1996). Embora aproximadamente 60% homólogas, ambas com peso molecular de aproximadamente 70 kD, e com similares

mecanismos de metabolização do ácido araquidônico (SCHONBECK et al., 1999), as isoformas COX-1 e 2 apresentam algumas diferenças como:

- Seqüência genética diferente para cada isoforma. Os genes são regulados por dois sistemas independentes e diferentes, apesar da reação enzimática por eles catalisada ser idêntica (REDDY e HERSCHMAN, 1996; DUBOIS et al., 1998);
- O sítio de ligação do agente inibidor na isoforma COX-2 é estruturalmente cerca de 25% maior que o da COX-1 (BROOKS et al., 1999), apresentando também local de ligação secundário, além do sítio catalítico. Isto tem permitido o desenvolvimento de agentes que bloqueiam a atividade da COX-2, especificamente em concentrações que apresentam mínimos efeitos sobre a COX-1. O mesmo composto pode funcionar como um inibidor COX-2 em baixas concentrações e inibidor competitivo da COX-1 quando em altas dosagens (LIPSKY, 2000). As bases moleculares para tais diferenças ainda não são completamente entendidas (MARNETT et al., 1999);
- A COX-1 é uma enzima presente na maioria dos tecidos. Diante de quadros inflamatórios, a atividade desta isoforma não parece ser alterada ou apresenta um aumento discreto de duas a quatro vezes na sua expressão (DUBOIS et al., 1998; FITZGERALD e PATRONO, 2001). Em menores quantidades, a COX-2 encontra-se em determinados tecidos como cérebro, intestinos, rins, testículos, glândula tireóide e pâncreas (BEEJAY e WOLFE, 1999); diante de quadro inflamatório, sua expressão é aumentada cerca de 20 vezes ou mais;
- Além do ácido araquidônico, a COX-2 também é capaz de agir no metabolismo de outras substâncias como: ácido linolênico e ácido linoleico (SCHONBECK et al., 1999).

Alguns estudos propõem a existência de uma terceira isoforma desta família enzimática, denominada COX-3, a qual, ao contrário da COX-1 e da COX-2, não produziria prostanóides pró-inflamatórios, mas sim substâncias antiinflamatórias (WILLOUGHBY et al., 2000). Tal evidência poderia explicar os períodos de remissão visto em casos de doenças inflamatórias crônicas, como a artrite reumatóide.

Foi proposto por Frolich em 1997 uma nova classificação para os AINEs, baseada na seletividade relativa entre COX-1 e COX-2. Esta classificação, que foi bastante contribuiu no sentido de classificar estes agentes em função da seletividade que apresentam frente a cada uma das isoformas da COX. O planejamento de inibidores seletivos da COX-2 passou a representar para o químico medicinal uma nova e atraente estratégia terapêutica, mais efetiva e segura, de combate aos quadros inflamatórios, especialmente crônicos, como a artrite reumatóide (KHANNA et al., 1997).

Desta forma, os compostos seletivos da COX-2 foram intitulados Coxibs. O primeiro composto a ser aprovado pela “Food and Drug Administration” (FDA) para uso nos Estados Unidos foi o Celecoxib (WHELTON, 2001), em dezembro de 1998. Meses após, em maio de 1999, foi introduzido outro inibidor específico de COX-2, chamado Rofecoxib (CHAN et al., 1999) (Figura 4). Por pouparem a COX-1, os Coxibs foram introduzidos como uma nova classe de antiinflamatórios não-esteróides de eficácia equivalente (CANNON e BREEDVELD, 2001) e provavelmente um menor índice de complicações que os tradicionais AINES (JAIN, 2000).

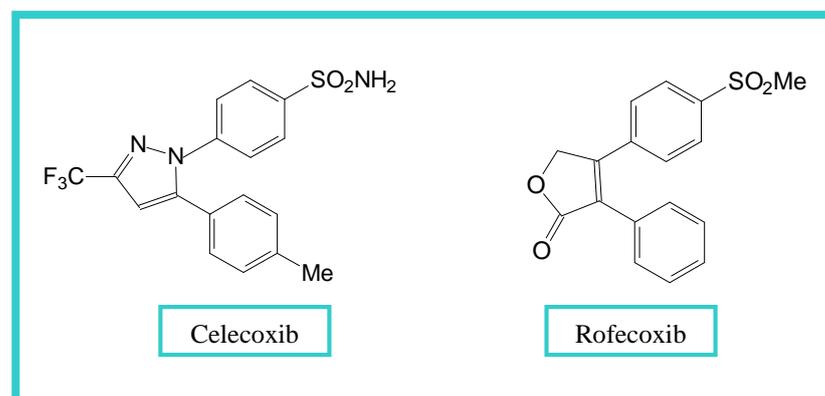


Figura 4. Celecoxib e rofecoxib

No entanto, evidências da presença da COX-2 em determinados tecidos humanos e de animais, pôs em discussão se o uso de agentes antiinflamatórios com inibição específica desta isoforma teria realmente vantagens sobre os AINES convencionais. Assim, parece que os inibidores seletivos de COX-2 não representam

uma resposta completa para a necessária segurança, nem drogas mais efetivas para serem usadas na terapia das doenças inflamatórias.

Diversos estudos foram desenvolvidos, desde a introdução dos inibidores específicos de COX-2 no mercado em 1999, relacionando seu potencial antiinflamatório à sua segurança gastrointestinal e, a partir daí, surgiram dados que sugeriram um potencial da subclasse em elevar o risco de eventos cardiovasculares adversos (FITZGERALD, 2002). Em 2000, foi publicado o primeiro estudo a apontar tais riscos, que o fez ao comparar o Rofecoxib e o Naproxeno (BOMBARDIER et al., 2000). Seguiram a ele diversas publicações com resultados controversos sobre o potencial risco cardiovascular do Rofecoxib e da classe de inibidores específicos de COX-2, até que o medicamento foi prontamente retirado de circulação, em setembro de 2004, após a suspensão prematura de um estudo de adenomas colônicos (FITZGERALD, 2004). Este estudo, Vioxx Gastrointestinal Outcomes Research (VIGOR) (BOMBARDIER et al., 2000), indicou elevação significativa de 3,9 na incidência de efeitos tromboembólicos adversos no grupo recebendo Rofecoxib, comparado ao grupo recebendo placebo. Em seguida, foi também detectado aumento significativo do risco de evento adverso cardiovascular com o uso de Celecoxib comparado ao placebo, além de Valdecoxib comparado ao placebo. Esses efeitos cardiovasculares adversos são atribuídos à uma diminuição nos níveis de prostaciclina vasodilatadora e anti-agregante I₂ (PGI₂) e um aumento no nível de um potente agregador plaquetário, o tromboxano A₂ (TXA₂) (DOGNE et al., 2005) e ao fato de que à medida que a via da enzima COX (mais especificamente a COX-2) é bloqueada por esses inibidores, a via da enzima LOX é up-regulada. Com isso, a isoenzima 15-LOX é ativada e exerce seu papel (essa enzima é ligada à complicações vasculares desde que se conhece sua participação na modificação oxidativa de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), conduzindo ao desenvolvimento da aterosclerose). Foram os resultados do estudo Adenomatous Polyp Prevention on Vioxx (APPROVe) (BRESALIER et al., 2005) os responsáveis pela maior comoção por parte de órgãos de fiscalização, comunidade científica, empresas farmacêuticas e opinião pública.

Entretanto, tem sido apontado que inibindo a rota da COX poderia desviar o metabolismo do ácido araquidônico para a rota da 5-LOX (ASAKO et al., 1992), aumentando a formação de leucotrienos, direcionando à inflamação e efeitos adversos

AINE-induzidos, como por exemplo, asma e danos gastrointestinais que são os efeitos colaterais mais incômodos (ASAKO et al., 1992). Conseqüentemente, essas informações tem apreciado o papel da rota da 5-LOX, na promoção e manutenção da inflamação. Além disso, tem-se percebido que a COX-2 e a 5-LOX tem funções convergentes não apenas na inflamação, mas também na proliferação celular e na neoangiogênese. A este respeito, existe evidência de que a COX-2 e a 5-LOX são co-expressadas e up-reguladas em algumas desordens inflamatórias e neoplásicas, e que tanto inibidores da COX-2 quanto da 5-LOX tem efeitos benéficos nas doenças inflamatórias (KIRCHNER et al., 1997; CLARIA e ROMANO, 2005). Neste caminho, várias famílias estruturais de inibidores duais têm sido projetadas e muitos compostos estão sendo submetidos atualmente a desenvolvimento pré-clínico e clínico (CELOTTI e LAUFER, 2001; CHARLIER e MICHAUX, 2003; BANNWARTH, 2003).

Duas das três principais isoformas da LOX (5-, 12- e 15-LOX) observadas em humanos induzem efeitos fisiológicos indesejáveis. Por exemplo, a 5-LOX é implicada na produção dos leucotrienos que estão associados com a ação inflamatória, broncoconstritora, reações de hipersensibilidade, anafiláticas e asmáticas (CHARLIER e MICHAUX, 2003). A 15-LOX está envolvida na aterosclerose uma vez que catalisa a oxidação de lipoproteínas (LDL, HDL) para formas aterogênicas (VILA, 2004). Bem recentemente, estudos genéticos tem associado a 5-LOX e sua proteína acessória, proteína ativadora da 5-LOX, com doenças cardiovasculares, infartos do miocárdio e ataque. Concorda-se que uma inibição dual das rotas enzimáticas da COX/LOX oferece uma aproximação alternativa para o projeto de agentes antiinflamatórios mais eficazes com um perfil de segurança melhorada em relação a drogas antiinflamatórias não-esteróides ulcerogênicas e inibidores seletivos da COX-2.

Conformemente, o desenvolvimento de inibidores duais das COX e LOX (Figura 5) tem mostrado resultados promissores (JULEMONT et al., 2004; CHARLIER e MICHAUX, 2003). Nesta consideração, o inibidor dual das COX/LOX Diidrodimetilbenzofurano mostrou excelente atividade antiinflamatória com reduzidos efeitos gastrointestinais adversos, visto que o Licofelone, um inibidor dual COX/LOX, tem sido efetivo no tratamento da osteoartrite exibindo baixa toxicidade gastrointestinal comparado aos AINES convencionais (JANUSZ et al., 1998; ALVARO-GRACIA,

2004). Além disso, estudos recentes têm mostrado também que inibidores duais de COX/LOX poderiam ser úteis como agentes supressores de tumores no tratamento do câncer de próstata e cólon (POMMERY et al., 2004; YE et al., 2005).

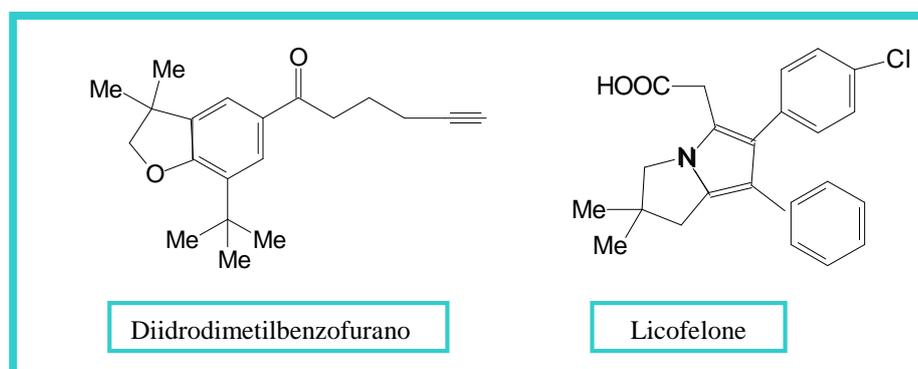


Figura 5. Diidrodimetilbenzofurano e licofelone

Um outro heterociclo promissor que já se encontram no mercado e vem apresentando atividade hipoglicemiante e hipolipidêmica são os derivados TZDs (Rosiglitazona, a troglitazona e a pioglitazona). Substâncias contendo este heterociclo apresentam diversas atividades biológicas, dentre elas, estão a anti-bacteriana, anti-fúngica (LABOUTA et al., 1987; GOES et al., 1991; LIMA et al., 1992), hipoglicemiante (MOURÃO et al., 2005), anti-viral, anti-covulsivante (EL-FEKY et al., 1993), anti-parasitária, cardiotônica (ANDREANI et al., 1993), atividade inibitória da ciclooxigenase e lipooxigenase (BOSCHELLI et al., 1992), antiinflamatória (RANI et al., 2002), analgésica e anti-edematosa (DE LIMA et al., 1994). O desenvolvimento de fármacos a partir de modificações moleculares no núcleo TZD oferece novas oportunidades terapêuticas, possibilitando a introdução de medicamentos mais eficazes e seguros.

De acordo com Jeong e colaboradores (2004) as TZDs mostraram não só a já tão comprovada ação como agentes hipoglicemiantes, mas também mostraram a existência da ação antiinflamatória, agindo como potentes inibidores enzimáticos, inibindo diretamente as enzimas da via ciclooxigenase e da via lipooxigenase. Assim, a síntese e as atividades biológicas das TZDs têm sido extensivamente investigadas,

especialmente aquelas encontradas como potentes inibidores duais das enzimas 5-lipooxigenase e Ciclooxigenase (BARROS-GARCIA et al., 2004).

3.3 Tiazolidinadionas

A diversidade estrutural e terapêutica acoplada com a viabilidade comercial de pequenas moléculas heterocíclicas tem fascinado químicos orgânicos e medicinais. Em anos recentes, 4-tiazolidinonas e oxazolidinonas são as classes de compostos mais extensivamente investigadas. Enquanto as oxazolidinonas estão emergindo como uma nova classe dos antibióticos representada pela Linezolida (TOKUYAMA et al., 2001), as 4-tiazolidinonas tem muitos perfis de atividade interessantes nomeados inibidores da COX-1, inibidores da enzima bacteriana MurB, inibidores não-nucleosídeos do HIV-RT e agentes anti-histamínicos.

A TZD foi a primeira molécula obtida na qual o núcleo tiazol foi caracterizado e sua síntese ocorreu através da isomerização do ácido tiocianoacético (BROWN, 1961). A estrutura da TZD foi elucidada por Liberman e colaboradores (1881 *apud* BROWN, 1961), onde chamam a atenção sobre uma possível tautomeria, demonstrando que a TZD poderia reagir também sob a forma de diidro-hidroxitiazol. Entretanto, as propriedades físicas e químicas desse núcleo, bem como as de seus derivados, favorecem a forma tiazolidina, uma vez que nenhuma molécula apresenta as propriedades do ciclo tiazol aromático (SPRAGUE e LAND, 1957 *apud* LIMA, 1998). A expressiva reatividade química apresentada pelo núcleo TZD possibilita a introdução de inúmeros substituintes e, desta forma, a obtenção de compostos sintetizados por diferentes vias.

A troglitazona foi a primeira TZD aprovada para o tratamento do diabetes tipo 2. Atualmente outras duas TZDs, a rosiglitazona e a pioglitazona, estão no mercado para o uso como hipoglicemiantes e estão ilustradas na figura 6. Muitos dos efeitos benéficos das TZDs no tratamento do diabetes tipo 2 foram atribuídos ao potencial dessas moléculas ativarem o receptor ativado por proliferadores de peroxissomo gama (PPAR γ), um regulador crítico do metabolismo lipídico e da homeostase da glicose. Trabalhos recentes têm demonstrado que a insulina exerce efeitos antioxidantes e antiinflamatórios potentes e rápidos (DANDONA et al., 2001; ALJADA et al., 2002) e

que a sensibilização da insulina pela classe das TZD também exercem um efeito semelhante em humanos *in vivo* (GARG et al., 2000; GHANIM et al., 2001; ALJADA et al., 2001; HAFFNER et al., 2002; MOHANTY et al., 2004). Este efeito das TZDs foi primeiramente observado com a troglitazona e tem agora sido confirmado com a rosiglitazona (HAFFNER et al., 2002; MOHANTY et al., 2004) e a Pioglitazona (AGARWAL, 2005; MATTOO et al., 2005).

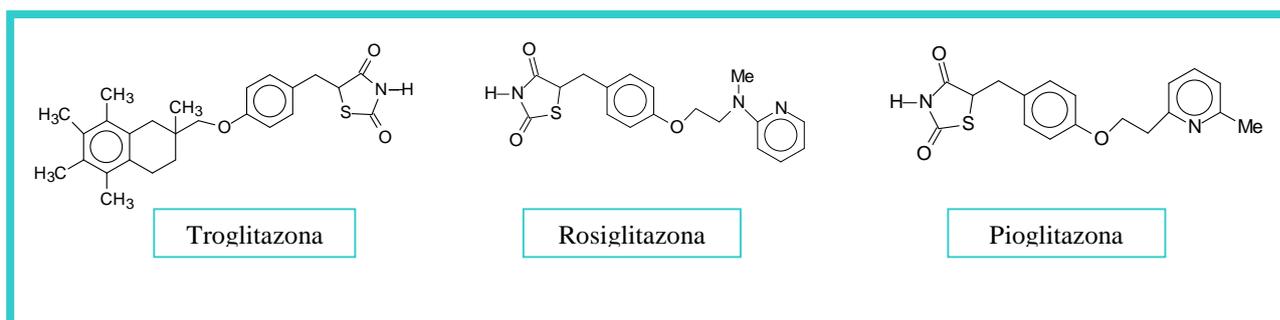


Figura 6. TZDs com atividade hipoglicemiante

Além da sua atividade hipoglicemiante, essas TZDs têm mostrado exercer efeitos antiinflamatórios em células vasculares (KUREBAYASHI et al., 2005). Elas também foram apontadas por inibir a produção de citocinas inflamatórias e a expressão da óxido nítrico sintase induzida em monócitos e macrófagos (RICOTE et al., 1998). Foram apontadas também como potentes agentes quimiopreventivos do câncer frente à carcinogênese do cólon, mama, língua e gástrica. Os derivados das TZDs têm sido mostrados por possuir propriedades imunoestimulatórias potentes, atividade anti-artrite tão bem quanto atividade oncostática (MORETTI et al., 2001).

Cuzzocrea e colaboradores (2004a) investigaram os efeitos da rosiglitazona na inflamação aguda em modelos animais (edema de pata induzido por carragenina e pleurisia induzida por carragenina). Eles observaram que a rosiglitazona, administrada por via intra-peritoneal concomitantemente com a injeção de carragenina, exerce potentes efeitos antiinflamatórios *in vivo*, tais como a inibição do edema de pata, a inibição da formação do exsudado na pleura, redução da infiltração de células mononucleares e lesões histológicas. Além disso, a rosiglitazona reduziu a expressão da iNOS, da COX-2, da ICAM-1 e da P-selectina nos pulmões dos ratos tratados com

carragenina. Este potente efeito antiinflamatório da rosiglitazona foi quase totalmente suprimido quando um antagonista do PPAR γ , o éter diglicidil bisfenol A, foi administrado antes do tratamento com a rosiglitazona, demonstrando dessa forma que os efeitos positivos rosiglitazona foram PPAR γ mediados.

Muitos indícios que sugerem um importante papel das TZDs na modulação da rota da inflamação também têm sido observados através de estudos clínicos, em indivíduos tratados por TZDs. Ghanim e colaboradores (2001) trataram sete indivíduos obesos não diabéticos com troglitazona durante quatro semanas e observaram que, em comparação à valores de base, na quarta semana de tratamento houve uma diminuição significativa do NF-kB em células mononucleares circulantes (MNC). Este decréscimo do NF-kB foi paralelo a um aumento total da I κ B, uma proteína que, através da ligação com o NF-kB no citosol, impede a sua migração no interior do núcleo e, assim, inativa o NF-kB. Além disso, MNC e espécies reativas de oxigênio, envolvidas no processo inflamatório, foram diminuídas após o tratamento com a troglitazona. Os mesmos autores ampliaram suas observações a um grupo de sete indivíduos obesos com diabetes tipo 2, observando resultados idênticos: em quatro semanas de tratamento com a troglitazona houve uma diminuição no nível das MNC, do NF-kB e espécies reativas de oxigênio (ALJADA et al., 2001). Além disso, coerente com o estudo anterior, o tratamento com a troglitazona também reduziu significativamente os níveis plasmáticos de monócitos, IL-1, ativador de plasminogênio e proteína C reativa em obesos diabéticos tipo 2. Os mesmos autores que estudaram tanto obesos não diabéticos quanto obesos diabéticos tipo 2, concluíram que o tratamento com a rosiglitazona tinha os mesmos efeitos que o realizado com a troglitazona sobre as MNC, o NF-kB e os níveis plasmáticos de MCP-1 e proteína C reativa (MOHANTY et al., 2004).

Dessa forma, novos compostos derivados do núcleo tiazolidínico com possível ação antiinflamatória despertam grandes expectativas com destino a tratamentos mais eficazes frente às doenças inflamatórias crônicas. A síntese e a atividade antiinflamatória de novas tiazolidinas-2,4-dionas e 2-tioxoimidazolidinas foram efetivadas com sucesso pelo Grupo de Pesquisa e Inovação Terapêutica GPIT/UFPE (UCHOA, 2004 e SANTOS et al, 2005).

Com isso observamos que os PPARs são alvos promissores para o desenvolvimento de novos fármacos, fazendo-se necessário um conhecimento mais aprofundado de suas estruturas e isoformas.

3.4 Receptores ativados por proliferadores de peroxissomo (PPARs): alvo promissor para atividade antiinflamatória

Os PPARs são uma família de três diferentes isoformas, PPAR α , PPAR β/δ e PPAR γ (KLIEWER et al., 1992, 1994) que foram descobertos há mais de uma década e são parte de uma sub-família de receptores nucleares hormonais. Os PPARs têm sido detectados em várias espécies com expressão tecido específica (BISHOP-BAILEY, 2000; (CUZZOCREA, 2004b). De acordo com a figura 7, pode-se observar que quando estes receptores são estimulados, possibilitam a regulação transcricional da expressão de genes (GROMMES et al., 2004), incluindo genes pró-inflamatórios. Os PPARs podem ser ativados por uma larga variedade de ligantes endógenos ou farmacológicos.

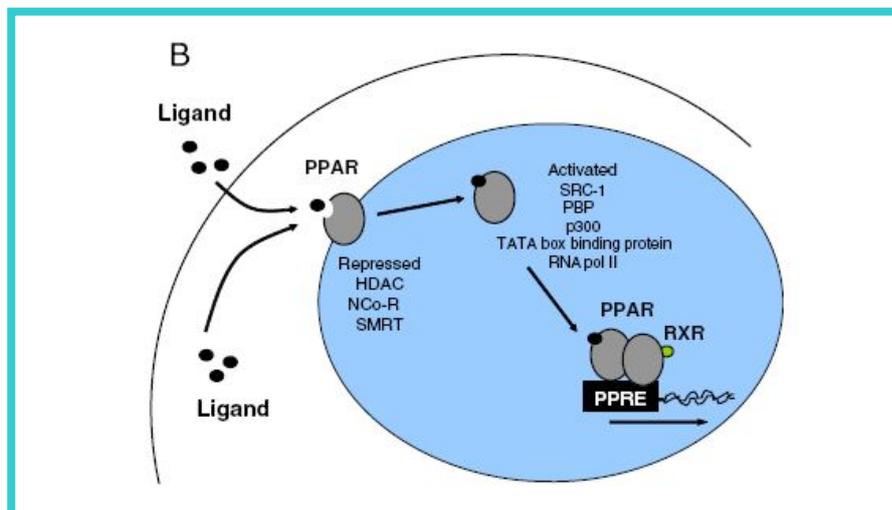


Figura 7. Estrutura e ativação transcricional dos PPARs (MORAES et al., 2006)

O PPAR γ é o mais extensivamente estudado dos três subtipos de PPAR até esta data. Este receptor tem sido clonado em algumas espécies, incluindo camundongos, hamster, sapos, porcos, macacos e humanos (ISSEMAN e GREEN, 1990; DREYER et al., 1992; GOTTLICHER et al., 1992; SHER et al., 1993; MUKHERJEE et al., 1994;

BELL et al., 1998). Este receptor funciona como fator de transcrição mediando a homeostase da glicose, diferenciação celular e rotas apoptóticas (KLIEWER e WILLSON, 1998). Ele é expresso por macrófagos, células endoteliais (*in vitro* e *in vivo*) e células da musculatura lisa vascular (VSMCs) (PERSHADSINGH, 2004).

Ligantes para este receptor incluem prostaglandinas endogenamente produzidas, o ácido docosahexanóico, TZDs hipoglicemiantes (KHAN et al., 2000), AINES, ácidos graxos de cadeia longa incluindo o ácido araquidônico e o ácido linoléico, um número de lipídios, incluindo LDL oxidado e eicosanóides, tais como 5, 8, 11, 14 - ácido eicosatetranóico e os prostanóides como a prostaglandina A1 (PGA-1), prostaglandina A2 (PGA-2), prostaglandina D2 (PGD-2) e seus produtos de desidratação.

Como exposto na figura 8, os ligantes do PPAR γ exercem efeitos antiinflamatórios *in vitro* pela inibição da produção de citocinas e antagonizando a atividade do fator nuclear κ B (NF- κ B) (ESCHER e WAHLI, 2000) direcionando à inibição da óxido nítrico sintase induzida (iNOS). Alguns ligantes do PPAR γ induzem a apoptose de células endoteliais (BISHOP-BAILEY e HLA, 1999), diminuem o recrutamento de células inflamatórias por inibir as quimiocinas IL-8 e MCP-1 (MURAO et al., 1999; LEE et al., 2000; PASCERI et al., 2001), IP-10, Mig, e I-TAC (MARX et al., 2000), e diminuem a expressão da ICAM-1 (CHEN e HAN, 2001). Similarmente ao PPAR α , ligantes do PPAR γ também reprimem a expressão da endotelina-1 trombina induzida (DELERIVE et al., 1999).

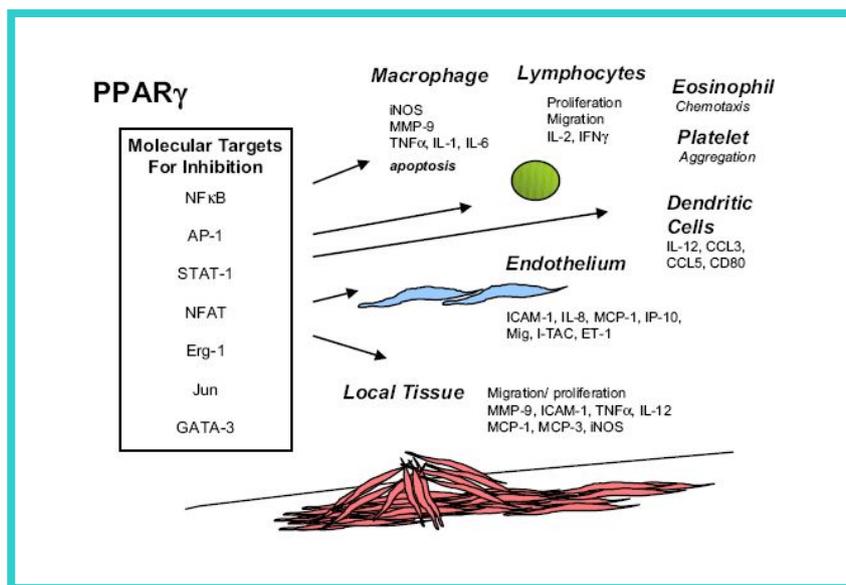


Figura 8. Mecanismo dos efeitos antiinflamatórios do PPAR γ (MORAES et al., 2006)

Mais recentemente o PPAR γ tem sido sugerido por desempenhar um papel de “down-regulation” nos processos inflamatórios, criando uma hipótese de que ligantes do PPAR γ , tais como as TZDs, poderiam ser eficientes no tratamento de doenças inflamatórias (DELERIVE et al., 2001; DAYNES e JONES, 2002). Alguns efeitos benéficos foram reportados *in vivo* em modelos animais de doenças inflamatórias humanas como a doença inflamatória do intestino (SU et al., 1999), pulmão (OKADA et al., 2002), colite ulcerativa (LEWIS et al., 2001), artrite reumatóide (KAWAHITO et al., 2000), sepse (LEE et al., 2005), pancreatite (CUZZOCREA et al., 2004b), Mal de Parkinson (BREIDERT et al., 2002), Mal de Alzheimer (LANDRETH e HENEKA, 2001), aterosclerose (LI et al., 2000), esclerose múltipla (NATARAJAN e BRIGHT, 2002) e asma (WOERLY et al., 2003), sugerindo um potencial antiinflamatório das tiazolidinas. Em modelos experimentais de pancreatite, a atividade de ligantes do PPAR γ atenuou sua severidade em parte por inibir a atividade da COX-2 e do NF κ B. Em alguns modelos animais, uma das primeiras evidências que sugere um papel do PPAR γ na inflamação veio da observação de um antagonismo entre o PPAR γ e o metabólito pró-inflamatório TNF- α (ZHANG et al., 1996; ROSENBAUM e GREENBERG, 1998). Também foi observado que ligantes do PPAR γ reduzem a expressão do TNF- α no tecido adiposo de ratos obesos e bloqueiam os efeitos inibitórios do TNF- α na sinalização da insulina (PERALDI et al., 1997).

O fator nuclear κ B (NF- κ B) é um fator de transcrição expressado ubiqüamente, que regula a expressão de vários genes inflamatórios, apoptóticos e oncogênicos (BALDWIN, 2001). A expressão up-regulada ou constitutiva deste fator tem sido identificada em muitas formas de câncer incluindo outras malignidades do trato gastrointestinal tais como câncer colo-retal e carcinoma hepatocelular (RAYET e GELINAS, 1999). A expressão tanto da IL-1 β quanto do TNF- α é estimulada pelo NF- κ B (TAK e FIRESTEIN, 2001), sugerindo um laço auto-regulatório que pode amplificar a resposta inflamatória. O NF- κ B também estimula a forma induzida do óxido nítrico sintase e da ciclooxigenase-2 (COX-2), ambos mediadores chave do processo inflamatório (YAMAMOTO e GAYNOR, 2001). Isso sugere fortemente que elevada atividade do NF- κ B contribui para desregulação do ciclo celular normal e a ativação do NF- κ B neste caso é provavelmente próprio dos mediadores inflamatórios. Existem no momento cinco membros da família do NF- κ B nos mamíferos, mas a forma ativada mais abundante é o heterodímero composto por uma subunidade p50 e p65 que tem função predominantemente como um ativador transcricional. Por agir nos mediadores pró-inflamatórios como TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, interferon γ , óxido nítrico sintase induzida (iNOS), ICAM1, VCAM1, COX2 e proteínas da fase aguda, o NF- κ B funciona como um fator de transcrição central para o desenvolvimento de doenças inflamatórias crônicas (BARNES e KARIN, 1997)

Alguns estudos *in vivo* foram realizados e uma das primeiras indicações do papel dos PPARs nos processos inflamatórios veio dos achados de que o leucotrieno B4, um potente eicosanóide quimiotático, liga e ativa o PPAR α induzindo genes da rota da ω - e β -oxidação que tem um feedback para catabolizar e remover o leucotrieno B4 (DEVCHAND et al., 1996; YOKOMIZO et al., 1997). O uso de camundongos PPAR α -deficientes tem sido crucial na elucidação de novas ações antiinflamatórias do PPAR α . Delerive e colaboradores (2001) mostraram que esplenócitos isolados de camundongos PPAR α -deficientes produziram mais IL-6 e IL-12 em resposta ao Lipopolissacarídeo do que células de camundongos selvagens. Trabalho desenvolvido por Taylor e colaboradores (2002), usando modelos de edema de pata induzido por carragenina, onde o agonista do PPAR α , o ácido perflúo-roctanóico inibiu a formação do edema, da hiperalgesia e a produção de citocinas pró-inflamatórias IL-6 e IL-12. Similarmente, em

ratos envelhecidos, ligantes do PPAR α diminuíram a produção da IL-6 e da IL-12 (SPENCER et al., 1997), efeito associado ao declínio na ativação do NF κ B.

O PPAR α regula genes envolvidos na degradação β -oxidativa de ácidos gordurosos (KELLER et al., 1993; GULICK et al., 1994). Este receptor se expressa nas células endoteliais da aorta humana, células endoteliais da artéria carótida e nas células endoteliais da veia umbilical humana (BISHOP-BAILEY e HLA, 1999; JACKSON et al., 1999; MARX et al., 1999; LEE et al., 2000). Ativadores do PPAR α incluem uma variedade de ácidos gordurosos presentes endogenamente, leucotrieno B₄, ácido hidroxicicosatetraenóico e drogas usadas clinicamente, tais como fibratos, uma classe de drogas de 1ª linha no tratamento da dislipidemia. Como pode ser visto na figura 9, seus ligantes inibem parcialmente a citocina/Lipopolissacarídeo-induzida ICAM1 ((a) CUZZOCREA et al., 2004), a expressão de VCAM-1 (JACKSON et al., 1999; MARX et al., 1999), endotelina-1 (MARTIN-NIZARD et al., 2002), moléculas pró-inflamatórias como IL-6, liberação de prostaglandinas pelas células ativadas do músculo liso e a expressão da COX-2 induzida (STAELS et al., 1998; POYNTER e DAYNES, 1998; DELERIVE et al., 1999). Sua ativação inibe também a expressão do óxido nítrico sintase induzida (COLVILLE-NASH et al., 1998) e a produção do fator tissular MMP-9 (também chamada gelatinase B) e o TNF- α nos macrófagos (CHINETTI et al., 2000). Em monócitos/macrófagos envelhecidos, ligantes do PPAR α induzem apoptose indicando um potencial mecanismo de clearance para células velhas (CHINETTI et al., 1998). Este receptor também é expresso nas células T-CD4⁺ e T-CD8⁺ (JONES et al., 2002) onde ligantes inibem a produção de IL-2 e a proliferação de células TH1 (CUNARD et al., 2002; MARX et al., 2002). Agonistas do PPAR α podem, portanto ser candidatos ao uso nas condições inflamatórias TH1 dominantes como a esclerose múltipla.

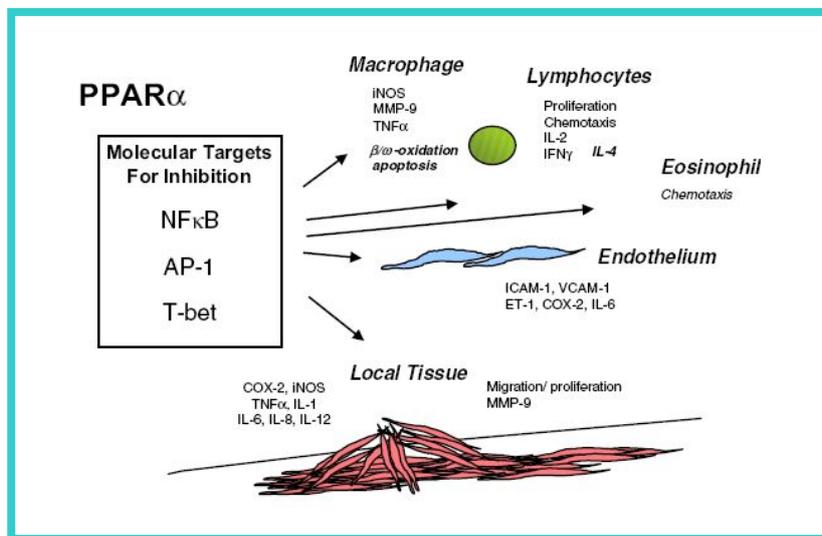


Figura 9. Mecanismo dos efeitos antiinflamatórios do PPARα (MORAES et al., 2006)

Para muitas doenças neuroinflamatórias, como a esclerose múltipla, são caracterizadas pela presença da microglia ativada; uma vez ativada, a microglia produz uma variedade de moléculas incluindo óxido nítrico (NO) e TNF-α, os quais são importantes para a eliminação de patógenos invasores, mas podem ser tóxicos às células do hospedeiro incluindo oligodendrócitos e neurônios, os quais estão envolvidos em neurodoenças como a esclerose múltipla (DEPLANQUE et al., 2003). Os agonistas do PPARα, como o gemfibrozil, ciprofibrato, e fenofibrato, inibem a produção de NO pelas células da micróglia sugerindo efeitos neuroprotetores (LOVETT-RACKE et al., 2004).

O PPARβ/δ é expresso quase que em todos os tecidos (KLIEWER et al., 1994). Embora comparado com o PPARα e γ, pouco se sabe a respeito do papel do PPARβ/δ, particularmente na clínica. Como o PPARα e o PPARγ, o PPARβ/δ também aparece como hábil para regular o metabolismo lipídico, a proliferação celular e a resposta inflamatória. Como exposto na figura 10, eles são expressos nas células endoteliais (BISHOP-BAILEY e HLA, 1999) e um simples relato tem indicado que ligantes do PPARβ/δ inibem a up-regulation do TNFα-induzido, a expressão do VCAM1, MCP-1 e translocação do NFκB (RIVAL et al., 2002). Em alguns modelos animais, um ativador sintético do PPARβ/δ, o L783483, reduziu o edema de pata induzido por carragenina

em ratos (YOUSSEF e BADR, 2004), sugerindo que o PPAR β/δ assim como os demais membros da família podem desempenhar um papel mais geral no controle da resposta inflamatória. Relata-se que o PPAR β/δ tem um importante papel na resposta do hospedeiro para inflamação na pele, pois na epiderme o receptor PPAR β/δ e seus ligantes endógenos são up-regulados durante a diferenciação do queratinócito. Além disso, respostas inflamatórias da pele são mais pronunciadas em camundongos PPAR β/δ -deficientes (PETERS et al., 2000; BARAK et al., 2002).

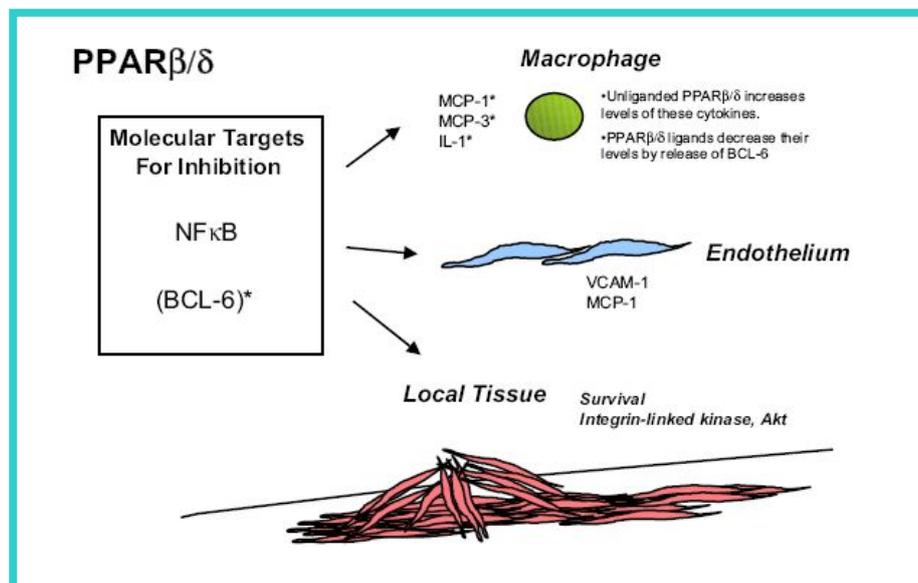
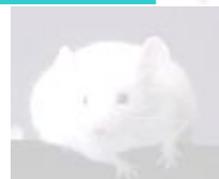


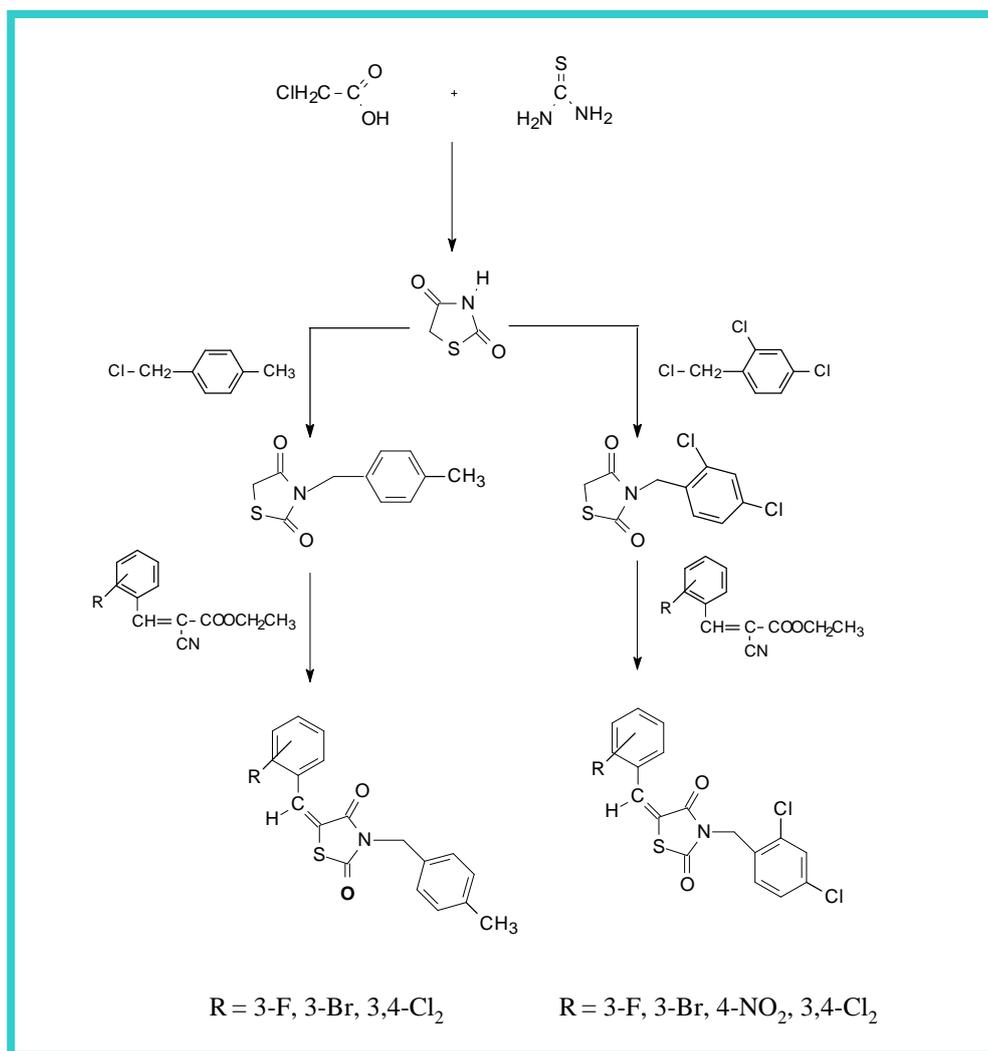
Figura 10. Mecanismo dos efeitos antiinflamatórios do PPAR β/δ (MORAES et al., 2006)

***ESTUDO QUÍMICO:
SÍNTESE DE DERIVADOS TIAZOLIDINADIÔNICOS***



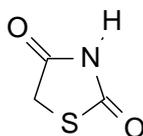
4. ESTUDO QUÍMICO: SÍNTESE DE DERIVADOS TIAZOLIDINADIÔNICOS

O Esquema 1 apresenta a rota sintética utilizada na obtenção dos derivados das séries 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-benzilideno-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ):



Esquema 1. Diagrama de síntese dos derivados 5-benzilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona substituídos (LPSF/GQ)

4.1 Obtenção da tiazolidina-2,4-diona



Em um balão adicionou-se a tiouréia à solução aquosa de ácido monocloroacético. Aqueceu-se a mistura por 18 horas. Em seguida, o produto obtido foi cristalizado em geladeira. Formaram-se cristais brancos, cuja purificação foi feita por lavagens sucessivas em água destilada.

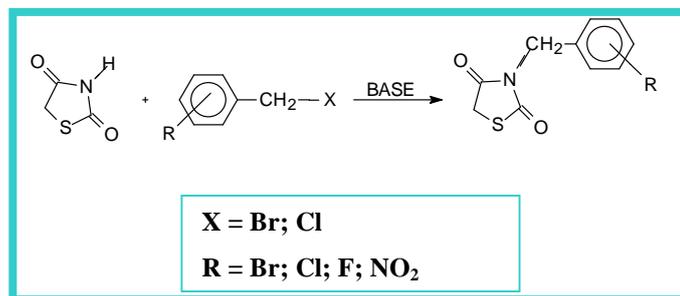
A tiazolidina-2,4-diona, de fórmula molecular $C_3H_3NO_2S$ (MM = 117), após purificação, apresenta-se na forma de cristais brancos. Este composto foi obtido com rendimento de 84%, apresentando ponto de fusão 121-122°C (ponto de fusão na literatura 122°C) (KOCHKANYAN; ISRAELYAN; ZARITOUSKII, 1978) e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

4.2. Reações de N-alkilação da Tiazolidina-2,4-diona

Quando não apresenta substituição no átomo de nitrogênio, a TZD comporta-se como um ácido fraco, que reage com haletos de alquila, substituídos ou não, em soluções alcalinas conduzindo à formação de sais. Essa reação é descrita por diversos autores, diferindo apenas em relação ao meio alcalino utilizado:

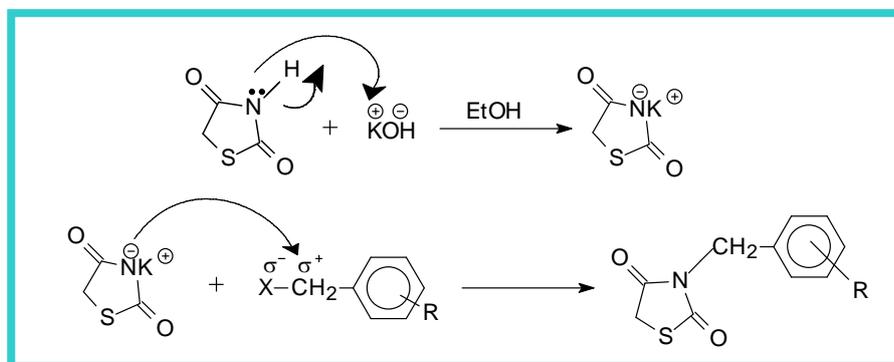
- Metóxido de sódio (BRADSHER et al, 1956);
- Hidróxido de sódio em solução etanólica (DAVIS e DAINS, 1935);
- Hidróxido de potássio em solução etanólica (LO et al., 1953);
- Hidróxido de potássio em solução metanólica (SHVAIKA et al., 1983).

Segundo Brown (1961) constatou que a reação de N-alkilação, se processa quando o sal da tiazolidina-2,4-diona é formado isoladamente e em seguida tratado com haleto de alquila de escolha (Esquema 2).



Esquema 2. Reação de N-alkilação da tiazolidina-2,4-diona

De acordo com Finkbeiner (1965), as reações de N-alkilação ocorrem através de substituições nucleofílicas de segunda ordem (S_N2), onde o hidrogênio ligado ao átomo de nitrogênio é suficientemente ácido para ser suprimido por ação de uma base, conduzindo à formação de um sal. O sal obtido atua como um agente nucleofílico atacando o haleto de alquila para formar a tiazolidina-2,4-diona substituída em posição 3 (Esquema 3).



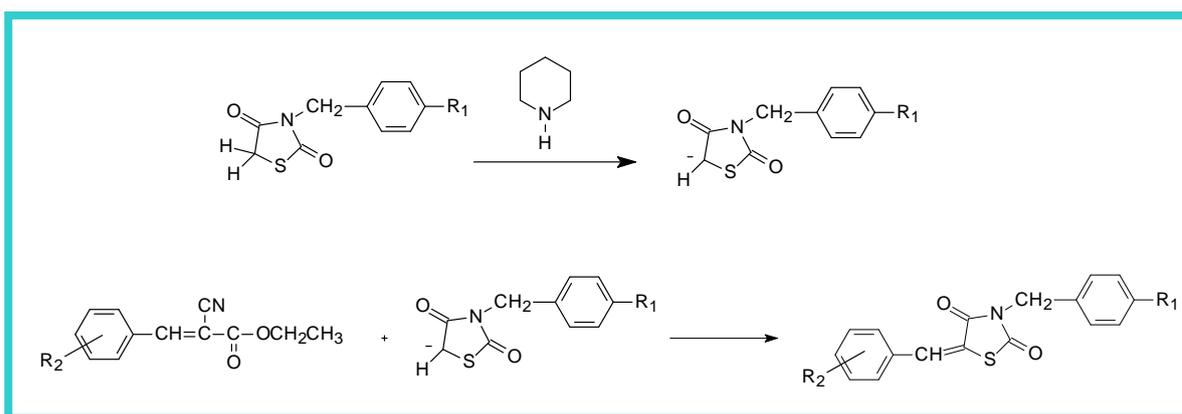
Esquema 3. Reação da tiazolidina-2,4-diona
de acordo com Finkbeiner (1965)

4.3. Reações de Condensação da 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona com aldeídos aromáticos ou seus derivados

O grupo metilênico em posição 5 da TZD apresenta uma reatividade característica frente a vários reagentes. Esse carbono metilênico comporta-se como um

nucleófilo, e as reações ocorrem normalmente em presença de uma base, a TZD reage como um ânion. A formação deste ânion é facilitada pela presença dos grupamentos carbonílicos na posição 4. Frequentemente, estas reações ocorrem em presença de um ácido mineral ou de algumas gotas de piperidina, ou ainda em presença de ácido acético glacial e acetato de sódio anidro, onde o acetato de sódio anidro atua tanto como base quanto como agente desidratante (LIBERMAN, 1948 *apud* LIMA, 1998; LO et al., 1953; MARKLEY e REID, 1930). Derivados de aldeídos aromáticos, tais como os ésteres de Cope (COPE et al., 1937; 1941), são obtidos através da reação de condensação de Knoevenagel entre aldeídos aromáticos substituídos e cianoacetato de etila, em presença de uma base, normalmente a piperidina. Este éster cianocinâmico atua como um intermediário para as reações de condensações em posição 5 da TZD N-alquilada.

A formação da dupla exocíclica no núcleo TZD a partir do éster de Cope ocorre através do seguinte mecanismo reacional: observa-se a formação de um carbânion na posição 5 da tiazolidina-2,4-diona N-alquilada, seguido de um ataque ao carbono β do éster cianocinâmico através de uma reação de adição de Michael, conduzindo aos derivados 5-benzilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) (Esquema 4).



Esquema 4. Reação de adição tipo Michael conduzindo aos derivados 5-benzilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ)

4.4. Material e Métodos

4.4.1. Reagentes e solventes

Ácido monocloroacético; tiouréia; acetato de etila; benzeno; cianoacetato de etila; etanol; *n*-hexano; piperidina; brometo de 2,4-dicloro-benzil; brometo de 4-metil-benzil; benzaldeídos substituídos; hidróxido de potássio.

4.4.2. Cromatografia

Na cromatografia em camada delgada foram utilizadas placas de sílica gel 60 F₂₅₄ Merck, de 0,25 mm de espessura, reveladas em luz ultravioleta (254 ou 366 nm). Na cromatografia em coluna, sob pressão, utilizou-se a sílica gel 60 Merck (230-400 Mesh) como adsorvente.

4.4.3 Equipamentos

A comprovação estrutural foi realizada através da espectrofotometria de absorção no infravermelho (IV), utilizando espectrofotômetro FTIR Bruker Modelo IFS 66, pastilhas de KBr. Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H) foram efetuados em espectrofotômetro Varian Modelo Plus 300 MHz. Para determinação dos pontos de fusão foi utilizado aparelho Quimis Modelo 340.27.

4.5. Procedimentos experimentais

4.5.1. Obtenção da 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ)

A uma solução etanólica de TZD adicionou-se uma solução de hidróxido de potássio em etanol, deixando-se reagir à temperatura ambiente, por 10 minutos. Ao sal de potássio da tiazolidina-2,4-diona formado, adicionou-se o brometo de 2,4-dicloro-benzila, ou cloreto de 4-metil-benzila deixando-se reagir por 15 horas à temperatura de 70 °C. O precipitado formado foi filtrado e purificado através de cromatografia flash, em sistema de eluição adequado ou através de recristalização em etanol absoluto.

4.5.2. Obtenção do 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila (LPSF/IP)

Em um balão de fundo redondo colocam-se o aldeído aromático substituído e o cianoacetato de etila, em presença de piperidina como catalisador e tolueno como solvente. A mistura reacional é aquecida a uma temperatura de 110°C, durante 4 horas. Os 3-aril-2-ciano-acrilatos de etila (LPSF/IP) foram purificados através de cristalizações sucessivas em solventes adequados ou por cromatografia “flash” (PEREIRA, 2007).

4.5.3. Síntese da 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e da 5-benzilideno-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ)

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

4.6. Resultados e discussão

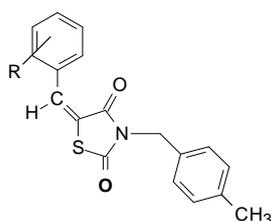
A análise dos resultados obtidos na síntese dos derivados 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-benzilideno-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) nos permite afirmar que a metodologia utilizada apresenta-se como uma boa via de acesso para a obtenção destes compostos, tal afirmativa baseia-se nos rendimentos obtidos. As características físico-químicas, os deslocamentos químicos (δ) e as bandas de absorção no infravermelho dos derivados obtidos comprovam as estruturas moleculares propostas.

4.6.1. Análise físico-química

A estrutura dos novos compostos das séries 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-14, LPSF/GQ-18, LPSF/GQ-21) e 5-benzilideno-3-

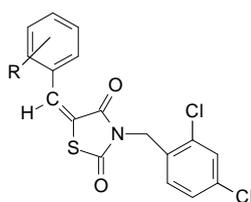
(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-108, LPSF/GQ-109, LPSF/GQ-235, LPSF/GQ-265), objetivo deste trabalho, foram confirmadas primeiramente através de suas respectivas características físico-químicas as quais são apresentadas a seguir (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Características físico-químicas dos derivados tiazolidínicos metilados (LPSF/GQ)



Compostos	Substituintes	F. M.	M. M.	P.F °C	RDT%	Rf
LPSF/GQ-14	3-F	C ₁₈ H ₁₄ NO ₂ SF	327	159-161	54	0,86 Benz/AcOEt (9,5:0,5)
LPSF/GQ-18	3,4-Cl ₂	C ₁₈ H ₁₃ Cl ₂ NO ₂ S	378	153-154	35	0,67 <i>n</i> -hex/AcOEt (7:3)
LPSF/GQ-21	3-Br	C ₁₈ H ₁₆ NO ₂ SBr	390	126-127	38	0,8 <i>n</i> -hex/AcOEt (7:3)

Tabela 2. Características físico-químicas dos derivados tiazolidínicos clorados (LPSF/GQ)



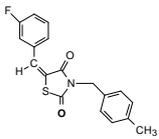
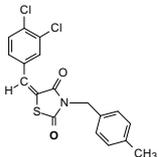
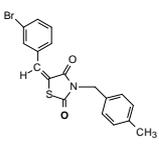
Compostos	Substituintes	F. M.	M. M.	P.F. °C	RDT%	Rf
LPSF/GQ-108	3,4-Cl ₂	C ₁₇ H ₉ Cl ₄ NO ₂ S	433	138-140	43	0,79 <i>n</i> -hex/AcOEt (7:3)
LPSF/GQ-109	4-NO ₂	C ₁₇ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₄ S	393	161-163	59	0,83 <i>n</i> -hex/AcOEt (7:3)
LPSF/GQ-235	3-F	C ₁₇ H ₁₀ NO ₂ FCl ₂ S	382	174-176	83	0,79 <i>n</i> -hex/AcOEt (7:3)
LPSF/GQ-265	3-Br	C ₁₇ H ₁₀ NO ₂ Cl ₂ SBr	442	136-138	48	0,72 <i>n</i> -hex/AcOEt (7:3)

4.6.2. Análise Espectroscópica

4.6.2.1. Análise de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H) permitiu verificar as absorções características dos prótons presentes na estrutura dos compostos das séries 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-14, LPSF/GQ-18, LPSF/GQ-21) e 5-benzilideno-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-108, LPSF/GQ-109, LPSF/GQ-235, LPSF/GQ-265). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm e os acoplamentos em Hz. Os espectros foram realizados em DMSO-d₆. As multiplicidades dos sinais são indicados pelas seguintes abreviações: singlete (s), dublete (d), duplo dublete (dd), triplete (t), duplo triplete (dt), multiplete (m) (Tabelas 3 e 4). Os derivados tiazolidinônicos metilados apresentaram deslocamentos químicos entre 7,15 – 7,20 ppm, correspondentes aos hidrogênios aromáticos do grupamento benzilidênico e 7,32 – 7,95 ppm do grupamento benzílico substituídos. Os sinais característicos dos grupos CH₃, CH₂ e CH aparecem como singlete nas regiões entre 2,27 ppm; 4,79 ppm e 7,94-7,96 ppm respectivamente.

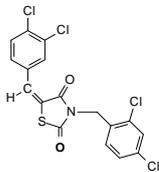
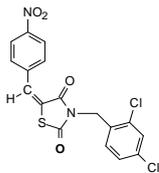
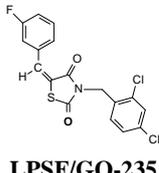
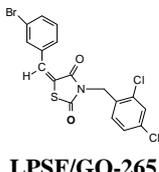
Tabela 3. Deslocamentos químicos (δ) dos derivados tiazolidínicos metilados (LPSF/GQ)

Compostos	R	-CH= (s)	CH ₂ (s)	CH ₃ (s)	Hidrogênios Aromáticos	
					Benzilidênicos	Benzílicos
 LPSF/GQ-14	3-F	7,96	4,79	2,27	7,32 - 7,38 (1H, m) 7,44 - 7,49 (2H, m) 7,56 - 7,63 (1H, m)	7,15 (2H, d) J= 8,09 Hz 7,20 (2H, d) J= 8,39 Hz
 LPSF/GQ-18	3,4-Cl ₂	7,96	4,79	2,27	7,58 (1H, dd) J= 2,09 Hz e J= 8,39 Hz 7,81 (1H, d) J= 8,39Hz 7,95 (1H, d) J= 2,09Hz	7,15 (2H, d) J= 8,39 Hz 7,20 (2H, d) J= 7,79 Hz
 LPSF/GQ-21	3-Br	7,94	4,79	2,27	7,50 (1H, t) J=7,79 Hz 7,60 (1H, d) J=8,09 Hz 7,67-7,70 (1H, m) 7,84 (1H, dd) J=1,79 Hz	7,15 (2H, d) J= 8,39 Hz 7,20 (2H, d) J= 8,39 Hz

DMSO-d₆ – Espectrofotômetro Varian modelo Unity Plus-300 MHz

Os derivados tiazolidinônicos clorados apresentaram deslocamentos químicos entre 7,36 – 8,37 ppm, correspondentes aos hidrogênios aromáticos do grupamento benzilidênico e 7,25 – 7,97 ppm do grupamento benzílico substituídos. Os sinais característicos dos grupos CH₂ e CH aparecem como singletos nas regiões entre 4,88 – 4,90 ppm e 7,97 - 8,00 ppm respectivamente.

Tabela 4. Deslocamentos químicos (δ) dos derivados tiazolidínicos clorados (LPSF/GQ)

Compostos	R	-CH= (s)	CH ₂ (s)	Hidrogênios Aromáticos	
				Benzilidênicos	Benzílicos
 <p>LPSF/GQ-108</p>	3,4-Cl ₂	7,98	4,88	7,36 (1H, d) J= 8,69 Hz 7,60 (1H, dd) J= 2,09 Hz e J= 8,69 Hz 7,68 (1H, d) J= 2,09 Hz	7,42 (1H, dd) J= 2,09 Hz e J= 8,39 Hz 7,83 (1H, d) J= 8,39 Hz 7,97 (1H, d) J= 2,09 Hz
 <p>LPSF/GQ-109</p>	4-NO ₂	8,00	4,90	7,92 (2H, d) J= 8,69 Hz 8,37 (2H, d) J= 8,99 Hz	7,40-7,41 (2H, m) 7,69 (1H, d) J= 1,79 Hz
 <p>LPSF/GQ-235</p>	3-F	8,00	4,88	7,40-7,45 (2H, m) 7,73 (2H, m)	7,25 (1H, d) J= 8,39 Hz 7,41 (1H, dd) J= 2,09 e J= 8,39 Hz 7,66 (1H, d) J= 2,09 Hz
 <p>LPSF/GQ-265</p>	3-Br	7,97	4,89	7,52 (1H, t) J= 7,79 Hz 7,63 (1H, dd) J= 7,79 Hz 7,71 (1H, ddd) J= 7,19 Hz, J= 1,79 Hz, J= 1,19 Hz 7,88 (1H, d) J= 1,79 Hz	7,35 (1H, d) J= 8,39 Hz 7,42 (1H, dd) J= 1,79 Hz e J= 8,09 Hz 7,68 (1H, d) J= 1,79 Hz

DMSO-d₆ – Espectrofotômetro Varian modelo Unity Plus-300 MHz

Os espectros de RMN¹H dos compostos sintetizados da série 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e da série 5-benzilideno-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) encontram-se nos anexos (2-8).

4.6.2.2. Análise de Infravermelho

Os espectros no infravermelho foram realizados em pastilha de KBr. Através da espectroscopia no infravermelho (IV) verificaram-se as bandas de absorção características dos grupos funcionais presentes nos derivados sintetizados. Observou-se as frequências de absorção referentes às vibrações de deformação da ligação C=O em uma banda de absorção de 1676-1749 cm^{-1} e a da ligação -CH= em 1589-1606 cm^{-1} (Tabela 5).

Tabela 5. Frequências de absorção no infravermelho, em cm^{-1} para a série 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ)

Compostos	C=O	-CH =
LPSF/GQ-14 3-F	1676-1740	1589
LPSF/GQ-18 3,4-Cl ₂	1681-1749	1601
LPSF/GQ-21 3-Br	1682-1749	1606

Pastilhas de KBr – Espectrofotômetro FTIR Bruker, modelo IFS66.

Observou-se as frequências de absorção referentes às vibrações de deformação da ligação C=O em uma banda de absorção de 1672-1767 cm^{-1} e a da ligação -CH= em 1597-1606 cm^{-1} (Tabela 6).

Tabela 6. Freqüências de absorção no infravermelho, em cm^{-1} para a série 5-benzilideno-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ)

Compostos	C=O	-CH=
LPSF/GQ-108 3,4-Cl ₂	1690-1749	1606
LPSF/GQ-109 4-NO ₂	1699-1767	1597
LPSF/GQ-235 3-F	1672-1749	1597
LPSF/GQ-265 3-Br	1676-1761	1606

Pastilhas de KBr – Espectrofotômetro FTIR Bruker, modelo IFS66.

Os espectros no IV dos compostos sintetizados da série 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e da série 5-benzilideno-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) encontram-se nos anexos (9-15).



ESTUDO BIOLÓGICO



5. ESTUDO BIOLÓGICO

A inflamação é um processo patofisiológico complexo mediado por uma variedade de moléculas sinalizadoras produzidas por leucócitos e macrófagos além da ativação dos fatores do complemento, provocando desta forma a formação do edema como resultado do extravasamento de fluido e proteínas e o acúmulo de leucócitos no sítio inflamatório (WHITE, 1999).

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

Entre os modelos experimentais de inflamação, a peritonite induzida por carragenina é amplamente utilizada no estudo do processo inflamatório agudo (SCOGNAMILLO-SZABÓ et al., 2005). A injeção intraperitoneal de carragenina conduz ao recrutamento de leucócitos no sítio inflamatório. A peritonite avalia a migração leucocitária, por meio da contagem de leucócitos, presentes no exsudato liberado na cavidade peritoneal, após a administração de carragenina, demonstrando assim a capacidade das substâncias testadas em impedir a migração leucocitária (BARROS et al., 2004).

Os ensaios biológicos foram realizados no Laboratório de Bioensaio para Pesquisa de Fármacos do Departamento de Antibióticos/UFPE, sob a orientação da professora Teresinha Gonçalves da Silva.

5.1. Animais

Nos ensaios para avaliação da atividade antiinflamatória foram utilizados camundongos machos Albinos swiss (*Mus musculus*) adultos com idade de

aproximadamente 30 dias, pesando entre 25-30g, provenientes do Biotério do Aggeu Magalhães da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais permaneceram em grupos de oito no Laboratório de Oncologia Experimental e Inflamação do Departamento de Antibióticos/UFPE, sendo mantidos em gaiolas de polipropileno acondicionadas em estantes com ventilação com filtro de exaustão de ar renovado, ambiente aclimatado entre $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12/12 horas, com água e ração padrão (Purina) *ad libitum*. O presente estudo foi realizado de acordo com as diretrizes aprovadas pela Comissão de Ética para Experimentos com Animais/UFPE (Processo N° 23076.017105/2007-21).

5.2. Reagentes

Para a realização do bioensaio foram utilizados: Carragenina (SIGMA-ALDRICH), solução salina de NaCl 0,9%, anticoagulante EDTA, agente suspensor Tween 80 (Merck) e solução de Turk. Os derivados tiazolidínicos testados foram sintetizados no Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos da Universidade Federal de Pernambuco.

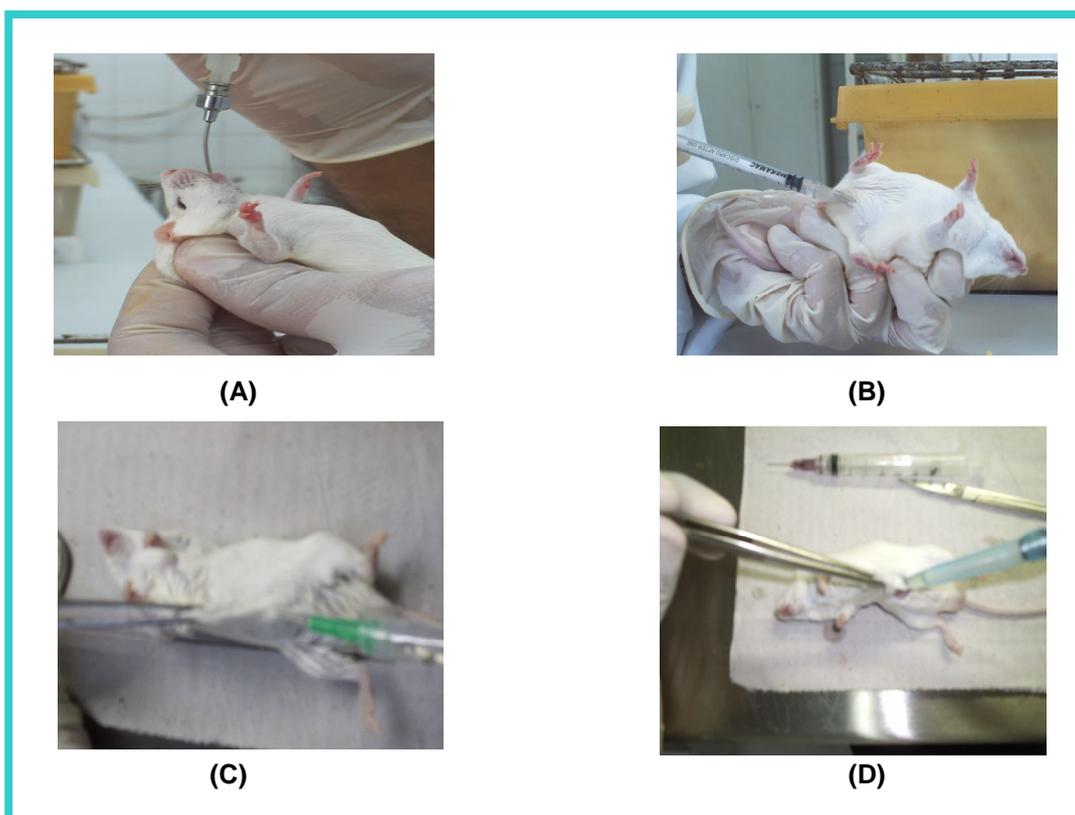
5.3. Compostos testados

- 5-(3-flúor-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-14);
- 5-(3,4-dicloro-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-18);
- 5-(3,4-dicloro-benzilideno)-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-108);
- 5-(4-nitro-benzilideno)-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-109);
- 5-(3-flúor-benzilideno)-3-(2,4-diclorobenzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-235);
- 5-(3-bromo-benzilideno)-3-(2,4-diclorobenzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-265).

5.4. Metodologia

A metodologia escolhida para a avaliação da atividade antiinflamatória *in vivo* dos derivados tiazolidínicos foi a medida da peritonite induzida por carragenina em camundongos, que consiste na injeção intraperitoneal de uma solução de carragenina 1%, substância que induz a inflamação. A resposta inflamatória pode ser caracterizada pela migração de leucócitos polimorfonucleares e pela participação dos mediadores inflamatórios, como os leucotrienos e prostaglandinas (MORIKAWA et al., 2003; KOO et al., 2006).

Todos os animais foram submetidos a jejum, com a retirada da ração cerca de 12 horas antes do início do experimento, sendo divididos em grupos de 8. Durante o experimento os animais tiveram livre acesso à ingestão de água. Inicialmente, os animais do grupo controle foram tratados com veículo (salina + Tween 80, v.o.). Os animais do grupo padrão foram tratados com rosiglitazona suspensa previamente em Tween 80 por v.o., na dose de 3 mg/Kg. Aos demais grupos foram administradas doses de 0,03, 0,3, 3 e 30 mg/Kg das substâncias em teste suspensas previamente em Tween 80, também por v.o. (esquema 5 - A). Decorrido uma hora dos tratamentos, os animais foram injetados com 0,25 mL de solução de carragenina 1% na cavidade peritoneal para a indução do processo inflamatório agudo (esquema 5 - B). Após quatro horas, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical. A cavidade peritoneal foi imediatamente lavada com 2 mL de uma solução tampão EDTA 0,1% v/v (esquema 5 - C), prosseguindo com a cuidadosa retirada do lavado (esquema 5 - D). Do volume retirado foi pipetada uma alíquota de 20 μL , que foi adicionada a 380 μL da solução Turck, para contagem diferencial do número total de leucócitos (PMN) que foi executada microscopicamente utilizando a câmara de Neubauer. Os resultados foram expressos como média do número de leucócitos totais ($\times 10^3 \text{ mm}^3$) de cada grupo comparados ao grupo controle (VINEGAR et al., 1973).



Esquema 5. Etapas realizadas no modelo de inflamação da peritonite induzida por carragenina em camundongos

5.5. Resultados e discussão

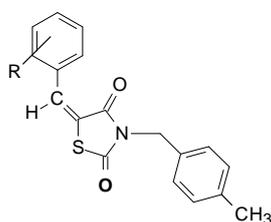
O percentual de inibição da migração celular dos compostos testados foi calculado de acordo com a equação abaixo (PALASKA et al., 2002):

$$\text{Inibição Inflamatória (\%)} = [(n - n')/n] \times 100$$

Onde, n e n' representam a média do número de células nos grupos controle (veículo) e tratados, respectivamente. A contagem diferencial do número total de células do grupo controle (veículo) corresponde a 100% de inflamação. Tomando-se por referência o valor do grupo controle (veículo), calculou-se o percentual de inibição da inflamação dos demais compostos. Todos os valores descritos foram expressos como média \pm média (EPM) para o número de animais estudados (n = 8).

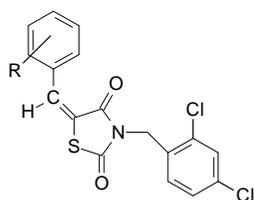
As modificações estruturais entre os diferentes compostos resultaram em contribuições relevantes para a ação antiinflamatória. Seis novos compostos da série LPSF/GQ foram estudados para a atividade antiinflamatória no modelo de inflamação da peritonite induzida por carragenina em camundongos, nas doses de 30, 3, 0,3 e 0,03 mg/Kg administrados oralmente (Tabelas 7 e 8).

Tabela 7. Atividade antiinflamatória dos derivados da série 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona



Compostos	R benzil	R benzilideno	Dose	Concentração Molar	Total de Células (x 10 ⁵ /mL)	% inibição de migração celular
LPSF/GQ-14	4-CH ₃	3-F ED ₅₀ 0,42	0,03 mg/Kg	9,17x10 ⁻⁸	30,10±2,1	39
			0,3 mg/Kg	9,17x10 ⁻⁷	48,41±3,4	49
			3 mg/Kg	9,17x10 ⁻⁶	38,57±4,7	59
LPSF/GQ-18		3,4-Cl ₂ ED ₅₀ 1,2	0,03 mg/Kg	7,93x10 ⁻⁸	65,25±6,0	31
			0,3 mg/Kg	7,93x10 ⁻⁷	55,10±3,7	42
			3 mg/Kg	7,93x10 ⁻⁶	33,07±5,8	65
Salina + Tween 80				-	94,50±8,3	-
Rosiglitazona			3 mg/Kg	8,00x10 ⁻⁶	17,50±2,4	81

Tabela 8. Atividade antiinflamatória dos derivados da série 5-benzilideno-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona



Compostos	R benzil	R benzilideno	Dose	Concentração Molar	Total de Células (x 10 ⁵ /mL)	% inibição de migração celular
LPSF/GQ-108	2,4-Cl ₂	3,4-Cl ₂ ED ₅₀ 5,1	0,3 mg/Kg	6,92x10 ⁻⁷	30,14±1,3	39
			3 mg/Kg	6,92x10 ⁻⁶	50,91±3,7	46
			30 mg/Kg	6,92x10 ⁻⁵	62,60±2,9	54
LPSF/GQ-109		4-NO ₂	3 mg/Kg	7,63x10 ⁻⁶	48,30±2,7	49
LPSF/GQ-235		3-F	3 mg/Kg	7,85x10 ⁻⁶	20,57±1,6	79
LPSF/GQ-265		3-Br	3 mg/Kg	6,78x10 ⁻⁶	53,90±1,9	43
Salina + Tween 80				-	94,50±8,3	-
Rosiglitazona			3 mg/Kg	8,00x10 ⁻⁶	17,50±2,4	81

Os resultados obtidos neste teste para os compostos LPSF/GQ-14, LPSF/GQ-18, LPSF/GQ-108, LPSF/GQ-109, LPSF/GQ-235 e LPSF/GQ-265 na dose 3 mg/Kg apresentaram resultados significativos inibindo a migração celular induzida por carragenina em 59, 65, 46, 49, 79 e 43%, respectivamente.

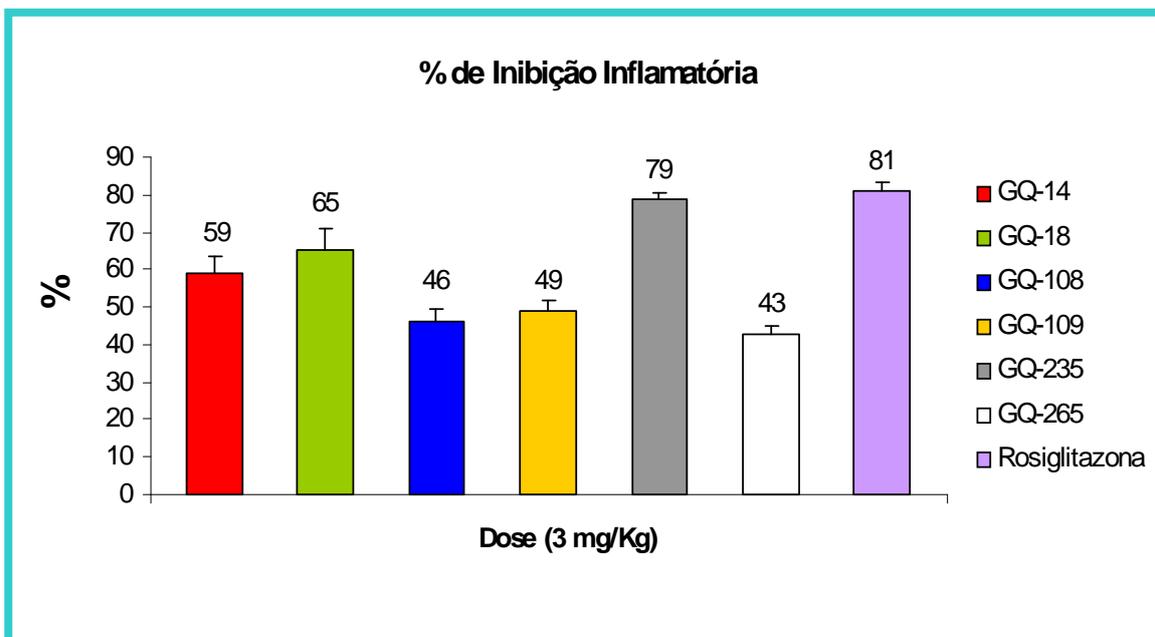


Diagrama 1. Percentual de inibição da migração celular na dose de 3mg/Kg dos compostos testados

No diagrama 1 podemos avaliar todos os derivados testados na dose de 3 mg/Kg, constatando que o composto LPSF/GQ-235 revelou-se o mais efetivo dentre os compostos testados na dose de 3 mg/Kg, alcançando um nível de inibição de 79% da migração celular, aproximando-se do percentual obtido pelo composto padrão utilizado, que neste trabalho foi a Rosiglitazona, apresentando um percentual de inibição de 81%. Os resultados obtidos demonstraram que a presença dos átomos de cloro nas posições 3,4 do anel benzilidênico do composto LPSF/GQ-18 apresentou uma menor resposta antiinflamatória para as menores doses testadas quando comparado ao derivado LPSF/GQ-14, que possui o átomo de flúor na posição 3 do anel benzilidênico, o qual apresentou nas doses de 3, 0,3 e 0,03 mg/Kg, o seguinte resultado 59, 49 e 39 %, respectivamente (Diagrama 2), (Figura 11).

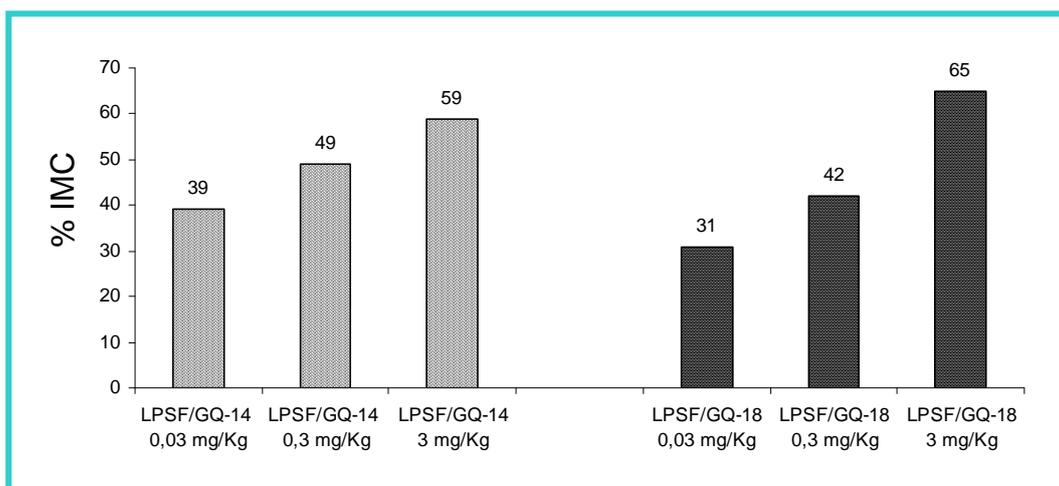


Diagrama 2. Percentual de inibição da migração celular nas doses de 3, 0,3 e 0,03 mg/Kg dos compostos LPSF/GQ-14 e LPSF/GQ-18

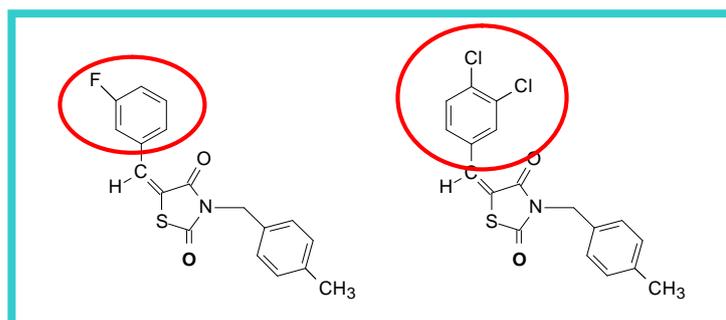


Figura 11. Compostos testados LPSF/GQ-14 e LPSF/GQ-18

Pode-se observar que a presença dos átomos de cloro nas posições 2,4 do anel benzílico e do átomo de flúor na posição 3 do anel benzilidênico do composto LPSF/GQ-235 promoveu uma maior resposta antiinflamatória na dose de 3 mg/Kg (79%) quando comparado ao composto LPSF/GQ-14, o qual possui o átomo de flúor na posição 3 do anel benzilidênico e um grupamento metila no anel benzílico (59%) (Figura 12).

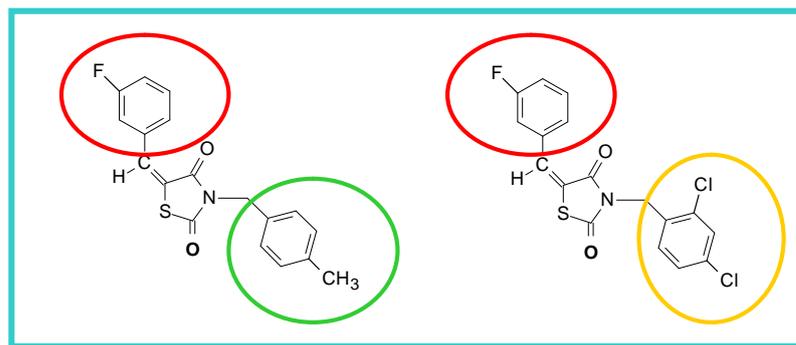


Figura 12. Compostos testados LPSF/GQ-14 e LPSF/GQ-235

A presença dos átomos de cloro nas posições 3,4 do anel benzimidólico e 2,4 do anel benzílico do composto LPSF/GQ-108 proporcionou uma queda na atividade antiinflamatória na dose de 3 mg/Kg quando comparado ao composto LPSF/GQ-18, o qual possui os átomos de cloro na posição 3,4 do anel benzimidólico e um grupamento metila no anel benzílico (Figura 13), apresentando um percentual de inibição de migração celular de 65% e 46%, respectivamente.

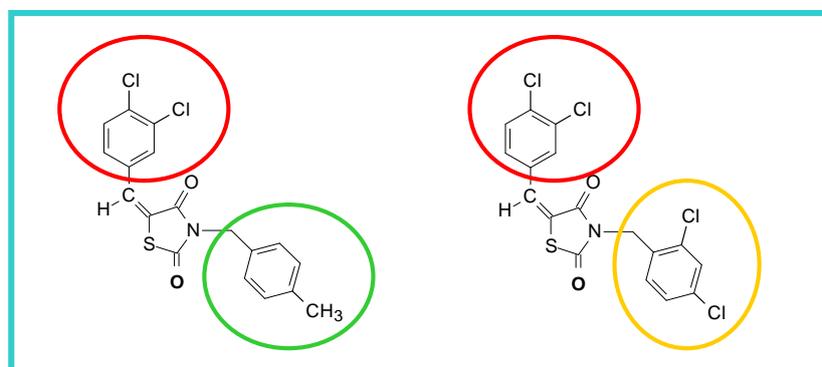


Figura 13. Compostos testados LPSF/GQ-18 e LPSF/GQ-108

O composto LPSF/GQ-235 (Figura 14) foi o mais efetivo na redução da migração celular, dentre os testados. Particularmente, este mesmo composto demonstrou eficácia semelhante à Rosiglitazona na redução da infiltração de PMN. A presença do átomo de cloro no anel benzílico e do átomo de flúor no anel benzimidólico neste composto representa uma contribuição química positiva na ação inibitória da infiltração de PMN.

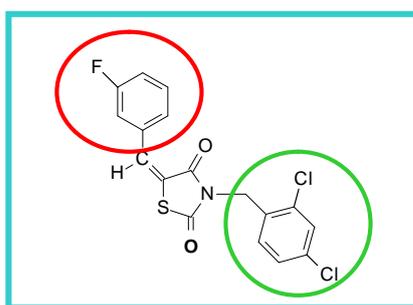


Figura 14. Composto testado LPSF/GQ-235

Esses resultados também podem ser observados comparando os percentuais de inibição dos compostos testados com o composto padrão Rosiglitazona. Podemos observar que o composto mais ativo (LPSF/GQ-235) apresentou 79% de inibição da migração celular e ao compará-lo ao composto padrão foi visto que ele apresentou 97% da atividade da Rosiglitazona (Tabela 9). O composto LPSF/GQ-18 apresentou 65% de inibição da migração celular apresentando 80% da atividade do composto padrão. Já os compostos LPSF/GQ-14, LPSF/GQ-109, LPSF/GQ-108 e o LPSF/GQ-265 apresentaram 72, 60, 56 e 53% respectivamente da atividade da Rosiglitazona.

Tabela 9. Percentual de inibição da migração celular e percentual de atividade comparado ao composto padrão Rosiglitazona

Composto	Substituinte	% inibição da migração celular	% da atividade comparado à rosiglitazona
LPSF/GQ-14	3-F	59	72
LPSF/GQ-18	3,4-Cl ₂	65	80
LPSF/GQ-108	3,4-Cl ₂	46	56
LPSF/GQ-109	4-NO ₂	49	60
LPSF/GQ-235	3-F	79	97
LPSF/GQ-265	3-Br	43	53

Estes ensaios fazem parte de um estudo prévio para seleção dos derivados mais ativos na inibição da migração de neutrófilos polimorfonucleares (PMN). Para maiores esclarecimentos será necessária a continuação deste trabalho, onde será realizado a análise da estrutura conformacional dos representantes da série LPSF/GQ, pelo método AM1; e explorar, por meio do programa de “docking”, o modo de ligação dos representantes da série LPSF/GQ, em diferentes alvos, tais como o complexo enzimático COX-2 e o PPAR γ .



CONCLUSÕES



6. CONCLUSÕES

Sete novos compostos derivados da TZDs 3,5 dissubstituídas das séries 5-benzilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) e 5-benzilideno-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ) foram sintetizados e devidamente caracterizados por ressonância magnética nuclear de hidrogênio e infravermelho, assim como pela determinação de suas características físico-químicas.

- 5-(3-flúor-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-14);
- 5-(3,4-dicloro-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-18);
- 5-(3-bromo-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-21);
- 5-(3,4-dicloro-benzilideno)-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-108);
- 5-(4-nitro-benzilideno)-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-109);
- 5-(3-flúor-benzilideno)-3-(2,4-diclorobenzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-235);
- 5-(3-bromo-benzilideno)-3-(2,4-diclorobenzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-265).

Dentre estes foram selecionados seis compostos (LPSF/GQ-14, LPSF/GQ-18 e LPSF/GQ-108, LPSF/GQ-109, LPSF/GQ-235 e LPSF/GQ-265), que tiveram sua atividade antiinflamatória investigada pelo modelo de inflamação da peritonite induzida por carragenina em camundongos. Todos os derivados TZDs testados demonstraram uma atividade antiinflamatória com percentual de inibição de migração celular variando entre 43 a 79% para a dose de 3 mg/Kg. O composto LPSF/GQ-235 se revelou o mais efetivo dentre os compostos testados na dose de 3 mg/Kg, alcançando uma inibição de 79% da migração celular.

Também observamos uma redução moderada na inibição da migração celular com os compostos LPSF/GQ-14 (59%), LPSF/GQ-18 (65%), LPSF/GQ-108 (46%) e LPSF/GQ-109 (49%) na dose 3 mg/Kg.

Esses resultados também foram observados comparando os percentuais de inibição dos compostos testados com o composto padrão Rosiglitazona. Esses compostos apresentaram percentual de atividade em relação ao composto padrão de: LPSF/GQ-14 (72%), LPSF/GQ-18 (80%), LPSF/GQ-108 (56%), LPSF/GQ-109 (60%) e LPSF/GQ-265 (53%). Destacamos o composto LPSF/GQ-235 por ter apresentado 97% da atividade do composto padrão Rosiglitazona.



PERSPECTIVAS



7. PERSPECTIVAS

Os resultados obtidos com os representantes das séries LPSF/GQ, no modelo de inflamação da peritonite induzida por carragenina são importantes e comprovam o potencial dos derivados TZDs substituídos em posição 3 e 5 como candidatos a agentes antiinflamatórios. Dessa forma, sugerimos dar continuidade aos testes antiinflamatórios que permitirão uma melhor avaliação dos derivados em estudo, assim como a análise da estrutura conformacional dos representantes da série LPSF/GQ pelo método AM1 e explorar, por meio do programa de “docking”, o modo de ligação dos representantes da série LPSF/GQ em diferentes alvos, tais como o complexo enzimático COX-2 e o PPAR γ .

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, R. Anti-inflammatory effects of short-term pioglitazone therapy in men with advanced diabetic nephropathy. **Am J Physiol Renal Physiol.**, v. 290, p. 600–605, 2005.

ALJADA, A.; GARG, R.; GHANIM, H.; MOHANTY, P.; HAMOUDA, W.; ASSIAN, E.; DANDONA, P. Nuclear factor- κ B suppressive and inhibitor- κ B stimulatory effects of troglitazone in obese patients with type 2 diabetes: evidence of an anti-inflammatory action. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 86, p. 3250–3256, 2001.

ALJADA, A.; GHANIM, H.; MOHANTY, P.; KAPUR, N.; DANDONA, P. Insulin inhibits the pro-inflammatory transcription factor early growth response gene-1 (Egr)-1 expression in mononuclear cells (MNC) and reduces plasma tissue factor (TF) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) concentrations. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 87, p. 1419–1422, 2002.

ALLISON, M. C.; HOWATSON, A. G.; TORRANCE, C. J.; LEE, F. D. & RUSSELL, R. I. Gastrointestinal damage associated with the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **N. Engl. J. Med.**, v. 327, p. 749-754, 1992.

ALVARO-GRACIA, J. M. Licofelone-clinical update on a novel LOX/ COX inhibitor for the treatment of osteoarthritis. **Rheumatology.**, v. 43, p. 21-25, 2004.

ANDREANI, A.; RAMBALDI, M.; LOCATELLI, A.; LEONI, A.; BOSSA, R.; CHIERICOZZI, M.; GALATULAS, I.; SALVATORE, G. Synthesis of lactams with potential cardiotoxic activity. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 28, p. 825–829, 1993.

ASAKO, H.; KUBES, P.; WALLACE, J.; GAGINELLA, T.; WOLF, R. E.; GRANGER, D. N. Indomethacin-induced leukocyte adhesion in mesenteric venules: role of lipoxygenase products. **Am. J. Physiol.**, v. 262, p. 903-908, 1992.

BALDWIN JR, A.S. Series introduction: the transcription factor NF κ B and human disease. **Journal of Clinical Investigation.**, v. 107, n. 1, p. 3–6, 2001.

BANNWARTH, B. Is licofelone, a dual inhibitor of cyclo-oxygenase and 5-lipoxygenase, a promising alternative in anti-inflammatory therapy? **Fundamental and Clinical Pharmacology.**, v. 18, p. 125–130, 2003.

BARAK, Y.; LIAO, D.; HE, W.; ONG, E. S.; NELSON, M. C.; OLEFSKY, J. M. BOLAND, R.; EVANS, R. M. Effects of peroxisome proliferator-activated receptor delta on placentation, adiposity, and colorectal cancer. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 99, n. 1, p. 303–308. 2002.

BARNES, P.J.; KARIN, M. Nuclear factor- κ B: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. **N. Engl. J. Med.**, v. 336, p. 1066–1071, 1997.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; **Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos**. Editora ArtMed: Porto Alegre, 2001.

BARROS, F.E.V.; SOUSA, M.G.T.; COSTA, J.L.; OLEA, R.S.G.; FREIRE, S. M.F.; BORGES, A.C.R.; BORGES, M.O.R. Avaliação das atividades analgésica e antiinflamatória do extrato metanólico de *calotropis procera*, r. br. (ciúme). **Infarma**. v. 16, n. 9-10, p. 60-64, 2004.

BARROS-GARCIA, F.J.; BERNALTE-GARCIA, A.; HIGES-ROLANDO, F.J.; LUNA-GILES, F.; MALDONADO-ROGADO, M.A.; VINUELAS-ZAHINOS, E. Synthesis, crystal structure, spectroscopic and magnetic properties of copper (II) complexes with 2-(2-pyridyl)imino-N-(2-thiazolin-2-yl)thiazolidine (PyTT). **Inorganica Chimica Acta.**, v. 357, p. 3574–3582, 2004.

BEEJAY, V.; WOLFE, M.M. Cyclooxygenase 2 selective inhibitors: panacea or flash in the pan? **Gastroenterology.**, v. 117, p. 1002-1005, 1999.

BELL, A. R.; SAVORY, R.; HORLEY, N. J.; CHOUDHURY, A.I.; DICKINS, M.; GRAY, T. J.; SALTER, A.M.; BELL, D.R. Molecular basis of non-responsiveness to peroxisome proliferators: the guinea-pig PPAR-alpha is functional and mediates peroxisome proliferator-induced hypolipidaemia. **Biochememical Journal**. v. 332, n. 3, p. 689– 693, 1998.

BENNET, W.M.; HENRICH, W.L.; STOFF, J.S. The renal effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: summary and recommendations. **Am J Kidney Dis**. v. 28 n. 1 1, p. 56-62, 1996.

BEUTLER, B. AND RIETSCHER, E. T.: Innate immune sensing and its roots: the story of endotoxin. **Nat. Rev. Immunol.**, v. 3, p. 169–176, 2003.

BISHOP-BAILEY, D. Peroxisome proliferator-activated receptors in the cardiovascular system. **Br J Pharmacol.**, v. 129, n. 5, p. 823– 834, 2000.

BISHOP-BAILEY, D. & HLA, T. Endothelial cell apoptosis induced by the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) ligand 15-deoxy-Delta12, 14-prostaglandin J2. **J Biol Chem.**, v. 274, n. 24, p. 17042–17048, 1999.

BOMBARDIER, C.; LAINE, L.; REICIN, A. SHAPIRO, D.; BURGOS-VARGAS, R.; DAVIS, B.; DAY, R.; FERRAZ, M.B.; HAWKEY, C.J.; HOCHBERG, M.C.; KVIEN, T.K.; SCHNITZER, T.J. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. **New England Journal of Medicine**. v. 343, p. 1520-1528, 2000.

BOSCHELLI, D.H.; CONNOR, D.T.; KUIPERS, P.J.; Wright, C.D. Synthesis and cyclooxygenase and 5-lipoxygenase inhibitory activity of some thiazolidene-4-one analogs of meclufenamic acid. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 2, p. 705–708, 1992.

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

BREIDERT, T.; CALLEBERT, J.; HENEKA, M. T.; LANDRETH, G.; LAUNAY, J. M.; & HIRSCH, E. C. Protective action of the peroxisome proliferators activated receptor-gamma agonist pioglitazone in a mouse model of Parkinson's disease. **J Neurochem.**, v. 82, n. 3, p. 615– 624, 2002.

BRESALIER, R.S; SANDLER, R.S.; QUAN, H; BOLOGNESE, J.A.; OXENIUS, B.; HORGAN, K.; LINES, C.; RIDDELL, R.; MORTON, D.; LANAS, A.; KONSTAM, M.A.; BARON, J.A. Cardiovascular events associated with rofecoxib in a colorectal adenoma chemoprevention trial. **New England Journal of Medicine**, v. 352, p. 1092-1102, 2005.

BROOKS, P., EMERY, P., EVANS, J.F.; FENNER, H.; HAWKEY, C.J.; PATRONO, C.; SMOLEN, J.; BREEDVELD, F.; DAY, R.; DOUGADOS, M.; EHRICH, E.W.; GIJON-BAÑOS, J.; KVIEN, T.K.; VAN RIJSWIJK, M.H.; WARNER, T.; ZEIDLER, H. Interpreting the clinical significance of the differential inhibition of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2. **Rheumatology**, v. 38, p. 779-788, 1999.

BROWN, F.C. 4-Thiazolidinones. **Chem. Rev.**, v. 61, n. 5, p. 463-521, 1961.

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

BUNDGAARD, H. Novel Chemical Approaches in Prodrug Design. **Drugs of the Future**, v. 16, n. 5, p. 443-458, 1991.

CANNON, G.W.; BREEDVELD, F.C. Efficacy of cyclooxygenase-2 specific inhibitors. **Am J Med.**, v. 110, p. 6-12, 2001.

CARMICHAEL, J.; SHANEL, S.W. Effects of anti-inflammatory drugs on prostaglandins and renal function. **Am J Med.**, v. 78, p. 992-1000, 1985.

CARSWELL, E.A. et al. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 72, p. 3666–3670, 1975.

CELOTTI, F.; LAUFER, S. Anti-inflammatory drugs: new multitarget compounds to face an old problem. The dual inhibition concept. **Pharmacology Research**, v. 43, p. 429–436, 2001.

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

CHAN, C.C.; BOYCE, S.; BRIDEAU, C.; CHARLESON, C.; CROMLISH, W.; ETHIER, D.; EVANS, J.; FORD-HUTCHINSON, A.W.; FORREST, M.J.; GAUTHIER, J.Y.; GORDON, R.; GRESSER, M.; GUAY, J.; KARGMAN, S.; KENNEDY, B.; LEBLANC, Y.; LEGER, S.; MANCINI, J.; O'NEILL, G.P.; OUELLET, M.; PATRICK, D.; PERCIVAL, M.D.; PERRIER, H.; PRASIT, P.;

RODGER, I. Rofecoxib [VIOXX, MK-0966, 4-(4'-methylsulfonylphenyl)-3-phenyl-2-(5H)-furanone]: a potent and orally active cyclooxygenase-2 inhibitor- pharmacological and biochemical profiles. **J Pharmacol Exp Ther.**, v. 290, p. 551-560, 1999.

CHARLIER, C.; MICHAUX, C. Dual inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) and lipoxygenase (5-LOX) as a new strategy to provide safer non-steroidal anti-inflammatory drugs. **European Journal of Medicinal Chemistry.**, v. 38, p. 645-659, 2003.

CHAWLA, A.; BARAK, Y.; NAGY, L.; LIAO, D.; TONTONOZ, P.; EVANS, R.M. PPAR-dependent and independent effects on macrophage-gene expression in lipid metabolism and inflammation. **Nat Med.**, v. 7, p. 48-52, 2001.

CHEN, N. G.; & HAN, X. Dual function of troglitazone in ICAM-1 gene expression in human vascular endothelium. **Biochem Biophys Res Commun.**, v. 282, n. 3, p. 717-722, 2001.

CHINETTI, G.; GRIGLIO, S.; ANTONUCCI, M.; TORRA, I. P.; DELERIVE, P.; MAJD, Z.; FRUCHART, J-C.; CHAPMAN, J.; NAJIB, J.; STAELS, B. Activation of proliferator-activated receptors alpha and gamma induces apoptosis of human monocyte-derived macrophages. **Journal of Biological Chemistry.**, v. 273, n. 40, p. 25573- 25580, 1998.

CHINETTI, G.; FRUCHART, J. C.; & STAELS, B. Peroxisome proliferatoractivated receptors (PPARs): nuclear receptors at the crossroads between lipid metabolism and inflammation. **Inflamm Res.**, v. 49, n. 10, p. 497-505, 2000.

CLARIA, J.; ROMANO, M. Pharmacological intervention of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase pathways. Impact on inflammation and cancer. **Current Pharmaceutical Design**, v. 11, p. 3431-3447, 2005.

COLVILLE-NASH, P. R.; QURESHI, S. S.; WILLIS, D.; & WILLOUGHBY, D. A. Inhibition of inducible nitric oxide synthase by peroxisome proliferatoractivated receptor agonists: correlation with induction of heme oxygenase 1. **J Immunol.**, v. 161, n. 2, p. 978-984, 1998.

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

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

CUNARD, R.; DICAMPLI, D.; ARCHER, D. C.; STEVENSON, J. L.; RICOTE, M.; GLASS, C. K. ; KELLY, C.J. WY14,643, a PPAR alpha ligand, has profound effects on immune responses *in vivo*. **The Journal of Immunology.**, v. 169, n. 12, p. 6806-6812, 2002.

(a) CUZZOCREA, S.; PISANO, B.; DUGO, L.; IANARO, A.; MAFFIA, P.; PATEL, N.S.A.; DI PAOLA, R.; IALENTIN, A.; GENOVESE, T.; CHATTERJEE, P.K.; DI ROSA, M.; CAPUTI, A.P.; THIEMERMANN, C. Rosiglitazone, a ligand of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, reduces acute inflammation. **European Journal of Pharmacology**, v. 483, p. 79– 93, 2004.

(b) CUZZOCREA, S.; DI PAOLA, R.; MAZZON, E.; GENOVESE, T.; MUIA, C.; CENTORRINO, T. ; CAPUTI, A.P. Role of endogenous and exogenous ligands for the peroxisome proliferators activated receptors alpha (PPAR-alpha) in the development of inflammatory bowel disease in mice. **Lab Invest.**, v. 84, n. 12, p. 1643– 1654, 2004.

DAHL, V.; AEDER, J.C. Non-opioid postoperative analgesia. **Acta Anaesthesiol Scand.**, v. 44, p. 1191-1203, 2000.

DANDONA, P.; ALJADA, A.; MOHANTY, P.; GHANIM, H.; HAMOUDA, W.; ASSIAN, E.; AHMAD, S. Insulin inhibits intranuclear nuclear factor κ B and stimulates κ B in mononuclear cells in obese subjects: evidence for an anti-inflammatory effect? **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 86, p. 3257–3265, 2001.

DAVIS, J.A.; DAINS, F.B. Some alkyl derivatives of certain aryl substituted thiazolidones. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 57, p. 2627-2633, 1935.

DAYNES, R.A.; JONES, D.C. Emerging roles of PPARs in inflammation and immunity. **Nat Rev Immunol.**, v. 2, p.748–759, 2002.

DELERIVE, P.; MARTIN-NIZARD, F.; CHINETTI, G.; TROTTEIN, F.; FRUCHART, J. C.; NAJIB, J. ; DURIEZ, P.; STAELS, B. Peroxisome proliferator-activated receptor activators inhibit thrombin-induced endothelin-1 production in human vascular endothelial cells by inhibiting the activator protein-1 signaling pathway. **Circulation Research.**, v. 85, n. 5, p. 394– 402, 1999.

DELERIVE, P.; FRUCHART, J. C.; & STAELS, B. Peroxisome proliferators activated receptors in inflammation control. **J Endocrinol.**, v. 169, n. 3, p. 453– 459, 2001.

DE LIMA, J.G.; PERRISSIN, M.; CHANTEGREL, J.; LUU-DUC, C.; ROUSSEAU, A.; NARCISSE, G. Synthesis and pharmacological evaluation of some 3-phenacyl-5-benzylidene-thiazolidine-2,4-diones, *Arzneim. Forsch.* **Drug Res.**, v. 44, p. 831–834, 1994.

DEPLANQUE, D.; GELE, P.; PETRAULT, O.; SIX, I.; FURMAN, C.; BOULY, M.; NION, S.; DUPUIS, B.; LEYS, D.; FRUCHART, J-C.; CECHELLI, R.; STAELS, B.; DURIEZ, P.; BORDET, R. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activation as a mechanism of preventive neuroprotection induced by chronic fenofibrate treatment. **Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 15, p. 6264–6271, 2003.

DEVCHAND, P. R.; KELLER, H.; PETERS, J. M.; VAZQUEZ, M.; GONZALEZ, F. J.; & WAHLI, W. The PPARalpha-leukotriene B4 pathway to inflammation control. **Nature**, v. 384, n. 6604, p. 39– 43, 1996.

DHILLON, S. S.; MAHADEVAN, K.; BANDI, V.; ZHENG, Z.; SMITH, C. W. AND RUMBAUT, R. E. Neutrophils, nitric oxide, and microvascular permeability in severe sepsis. **Chest**, v. 128, p. 1706–1712, 2005.

DOGNE', J. M.; SUPURAN, C. T.; PRATICO, D. Adverse cardiovascular effects of the coxibs. **J. Med. Chem.**, v. 48, p. 2251-2257, 2005.

DREWS, J. AND RYSER, S. Classic drug targets. **Nat. Biotechnol.**, v. 15, p. 1318–1319, 1997.

DREYER, C.; KREY, G.; KELLER, H.; GIVEL, F.; HELFTENBEIN, G.; & WAHLI, W. Control of the peroxisomal beta-oxidation pathway by a novel family of nuclear hormone receptors. **Cell**, v. 68, n. 5, p. 879–887, 1992.

DUBOIS, R.N.; ABRAMSON, S.B.; CROFFORD, L.; GUPTA, R.A.; SIMON, L.S.; VAN DE PUTTE, L.B.A.; LIPSKY, P.E.: Cyclooxygenase in biology and disease. **Faseb**, v. 12, p. 1063-1073, 1998.

EL-FEKY, S.A.H. Synthesis and anticonvulsant properties of some novel quinazolinone thiazolidine and 4-thiazolidone derivatives. **Pharmazie**, v. 48, p. 894–896, 1993.

ESCHER, P.; WAHLI, W. Peroxisome proliferator-activated receptors: insight into multiple cellular functions. **Mutation Research**, v. 448, n. 2, p. 121–138, 2000.

FARBER, J.L.; KYLE, M.E.; COLEMAN, J.B. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. **Lab. Invest.**, v. 62, p. 670–679, 1990.

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

FITZGERALD, G.A; PATRONO; C.P. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. **N Engl J Med.**, v. 345, p. 433-442, 2001.

FITZGERALD, G.A. Cardiovascular pharmacology of nonselective nonsteroidal anti-inflammatory drugs and coxibs: clinical considerations. **Am J Cardiol.**, v. 89, p. 26-32, 2002.

FITZGERALD, G.A. Coxibs and cardiovascular disease. **N Engl J Med.**, v. 351, p. 1709- 1711, 2004.

FLOREY, H.W. Inflammation microscopical observations. In: Florey, H.W. **General Pathology**. Philadelphia: W.B. Saunders; p. 40-123, 1970.

FROLICH, J.C. A classification of NSAIDs according to the relative inhibition of cyclooxygenase isoenzymes. **Tips**, v. 18, p. 30-34, 1997.

FUJIHARA, M.; MUROI, M.; TANAMOTO, K.; SUZUKI, T.; AZUMA, H. AND IKEDA, H. Molecular mechanisms of macrophage activation and deactivation by

lipopolysaccharide: roles of the receptor complex. **Pharmacol. Ther.**, v. 100, p. 171–194, 2003.

GANELLIN, C. R. In **Medicinal Chemistry Principles and Practice**; King, F. D. Ed. RSC: London, 1994. p 189.

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

GARG, R.; KUMBKARNI, Y.; ALJADA, A.; MOHANTY, P.; GHANIM, H.; HAMOUDA, W.; DANDONA, P. Troglitazone reduces reactive oxygen species generation by leukocytes and lipid peroxidation and improves flow-mediated vasodilatation in obese subjects. **Hypertension**, v.36, p. 430–435, 2000.

GHANIM, H.; GARG, R.; ALJADA, A.; MOHANTY, P.; KUMBKARNI, Y.; ASSIAN, E.; HAMOUDA, W.; DANDONA, P. Suppression of nuclear factor- κ B and stimulation of inhibitor κ B by troglitazone: evidence for an anti-inflammatory effect and a potential antiatherosclerotic effect in the obese. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 86, p. 1306–1312, 2001.

GIERSE, J. K.; MCDONALD, J. J.; HAUSER, S. D.; RANGWALA, S. H.; KOBOLDT, C. M. & SEIBERT, K. A single amino acid difference between cyclooxygenase-1 (COX-1) and -2 (COX-2) reverses the selectivity of COX-2-specific inhibitors. **J. Biol. Chem.** v. 271, p. 15810, 1996.

GOES, A.J.S.; DE LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; LUU-DUC, C. Synthèse et activité antifongique des chlorobenzyl benzylidène thiazolidinediones et imidazolidinediones substituées. **Ann. Pharm. Françaises**, v. 49, p. 92–98, 1991.

GOTTLICHER, M.; WIDMARK, E.; LI, Q. & GUSTAFSSON, J. A. Fatty acids activate a chimera of the clofibric acid-activated receptor and the glucocorticoid receptor. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 89, n. 10, p. 4653–4657, 1992.

GROMMES, C.; LANDRETH, G. E. & HENEKA, M. T. Antineoplastic effects of peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists. **Lancet Oncol.**, v. 5, n. 7, p. 419–429, 2004.

GULICK, T.; CRESCI, S.; CAIRA, T.; MOORE, D. D.; & KELLY, D. P. The peroxisome proliferator-activated receptor regulates mitochondrial fatty acid oxidative enzyme gene expression. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 91, n. 23, p. 11012–11016, 1994.

GUND, P.; MAGGIORA, G.; SNYDER, J. P. In **Guidebook on Molecular Modeling in Drug Design**; Cohen, N. C. Ed. Academic Press: NY, p. 219, 1996.

HAFFNER, S.M.; GREENBERG, A.S.; WESTON, W.M.; CHEN, H.; WILLIAMS, K.; FREED, M.I. Effect of rosiglitazone treatment on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. **Circulation**, v.106, p. 679–684, 2002.

HARMAN, D. A. A theory based on free radical and radiation chemistry. **J. Gerontol.**, v. 2, p. 298–300, 1957.

HEMPEL, S. L.; MONICK, M. M. & HUNNINGHAKE, G. W. Lipopolysaccharide induces prostaglandin H synthase-2 protein and mRNA in human alveolar macrophages and blood monocytes. **J. Clin. Invest.** v. 93, n. 1, p. 391-396, 1994.

HENDERSON, W. R. The Role of Leukotrienes in Inflammation. **Annals of Internal Medicine**. v. 121, n. 9, p. 684-697, 1994.

HOLTZMAN, M. J.; TURK, J. & SHORNICK, L. P. Identification of a pharmacologically distinct prostaglandin H synthase in cultured epithelial cells **J. Biol. Chem.** v. 267, n. 30, p. 21438-21445, 1992.

ISSEMANN, I.; & GREEN, S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. **Nature**, v. 347, n. 6294, p. 645–650, 1990.

IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry and Human Health Division Medicinal Chemistry Section. Glossary of terms used in medicinal chemistry. 1998. *In: Pure Appl. Chem.*, v. 70, p. 1129-1143, 1998.

JACKSON, S. M.; PARHAMI, F.; XI, X-P.; BERLINER, J. A.; HSUEH, W. A.; LAW, R. E.; DEMMER, L.L. Peroxisome proliferator-activated receptor activators target human endothelial cells to inhibit leukocyte-endothelial cell interaction. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, v. 19, n. 9, p. 2094– 2104, 1999.

JAIN, K.K. Evaluation of intravenous parecoxib for the relief of acute post-surgical pain. **Expert Opin Investig Drugs**, v. 9, p. 2717-2723, 2000.

JANUSZ J. M.; YOUNG P. A.; RIDGEWAY, J. M.; SCHERZ, M. W.; ENZWEILER, K.; WU, LI.; GAN, L.; DAROLIA, R.; MATTHEWS, R. S.; HENNES, D.; KELLSTEIN, D. E.; GREEN, S. A.; TULICH, J. L.; ROSARIO-JANSEN, T.; MAGRISSO, I. J.; WEHMEYER, K. R.; KUHLENBECK, D. L.; EICHHOLD, T. H.; DOBSON, R. L.; SIRKO, S. P.; FARMER, R. W. New cyclooxygenase-2/5-lipoxygenase inhibitors. 1. 7-tert-butyl-2,3-dihydro-3,3-dimethylbenzofuran derivatives as gastrointestinal safe antiinflammatory and analgesic agents: discovery and variation of the 5-keto substituent. **J. Med. Chem.**, v. 41, p. 1112-1123, 1998.

JEONG, T.S.; KIM, J.R.; KIM, K.S.; CHO, K.H.; BAE, K. H.; LEE, W.S. Inhibitory effects of multi-substituted benzylidenethiazolidine-2,4-diones on LDL oxidation **Bioorg. Med. Chem.** v. 12, n. 15, p. 4017-4023, 2004.

JONES, D. C.; DING, X.; & DAYNES, R. A. Nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) is expressed in resting murine

lymphocytes. The PPARalpha in T and B lymphocytes is both transactivation and transrepression competent. **J Biol Chem.**, v. 277, n. 9, p. 6838– 6845, 2002.

JULEMONT, F.; DOGNE, J. M.; PIROTTE, B.; DE LEVAL, X. Recent development in the field of dual COX/5-LOX inhibitors. **Mini Rev. Med. Chem.**, v. 4, p. 633-638, 2004.

KAHN, C.R.; CHEN, L.; COHEN, S.E. Unraveling the mechanism of action of thiazolidinediones. **Journal of Clinical Investigation**, v. 106, n. 11, p. 1305–1307, 2000.

KAWAHITO, Y.; KONDO, M.; TSUBOUCHI, Y.; HASHIRAMOTO, A.; BISHOP-BAILEY, D.; INOUE, K.; KOHNO, M.; YAMADA, R.; HLA, T.; SANO, H. 15-deoxy-delta(12,14)-PGJ(2) induces synoviocyte apoptosis and suppresses adjuvant-induced arthritis in rats. **J Clin Invest.**, v. 106, n. 2, p. 189– 197, 2000.

KELLER, H.; DREYER, C.; MEDIN, J.; MAHFOUDI, A.; OZATO, K. & WAHLI, W. Fatty acids and retinoids control lipid metabolism through activation of peroxisome proliferator-activated receptor-retinoid X receptor heterodimers. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 90, n. 6, p. 2160– 2164, 1993.

KHAN, K.N.M.; VENTURINI, C.M.; BUNCH, R.T. et al. Interspecies differences in renal localization of cyclooxygenase isoforms: implications in nonsteroidal anti-inflammatory drug-related nephrotoxicity. **Toxicol Pharmacol.**, v. 26, p. 612-620, 1998.

KHANNA, I. K.; WEIER, Y. Y.; COLLINS, P. W.; MIYASHIRO, J. M.; KOBOLDT, C. M.; VEENHUIZEN, A. W.; CURRIE, J. L.; SEIBERT, K. & ISAKSON, P. C. 1,2-Diarylpyrroles as potent and selective inhibitors of cyclooxygenase-2. **J. Med. Chem.** v. 40, p. 1619-1633, 1997.

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

KIRCHNER, T.; ARGENTIERI, D.C.; BARBONE, A.G.; SINGER, M.; STEBER, M.; ANSELL, J.; BEERS, S.A.; WACHTER, M.P.; WU, W.; MALLOY, E.; STEWART, A.; RITCHIE, D.M. Evaluation of the antiinflammatory activity of a dual cyclooxygenase-2 selective/5-lipoxygenase inhibitor, RWJ 63556, in a canine model of inflammation. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 282, p. 1094–1101, 1997.

KLIEWER, S. A.; UMESONO, K.; NOONAN, D. J.; HEYMAN, R. A.; & EVANS, R. M. Convergence of 9-cis retinoic acid and peroxisome proliferator signalling pathways through heterodimer formation of their receptors. **Nature**, v. 358, n. 6389, p. 771–774, 1992.

KLIEWER, S. A.; FORMAN, B. M.; BLUMBERG, B.; ONG, E. S.; BORGMEYER, U.; MANGELSDORF, D. J.; UMESONO, K.; EVANS, R.M. Differential expression and activation of a family of murine peroxisome proliferator-activated receptors. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 91, n. 15, p. 7355– 7359, 1994.

KLIEWER, S.A.; SUNDSETH, S.S.; JONES, S.A.; BROWN, P.J.; WISELY, G.B.; KOBLE, C.S.; DEVCHAND, P.; WAHLI, W.; WILLSON, T.M.; LENHARD, J.M.; LEHMANN, J.M. Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors α and γ . **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** v. 94, p. 4318–4323, 1997.

KLIEWER, S.A.; WILLSON, T.M. The nuclear receptor PPAR-gamma - bigger than fat. **Current Opinions in Genetic Development**, v. 8, n. 5, p. 576–581, 1998.

KOCHKANYAN, R.O.; ISRAELYAN, Y.A.; ZARITOVSKII, A.N. New method for synthesis of azolidones. **Chem. Heter. Comp.**, v. 1, p. 70-72, 1978.

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

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

LABOUTA, I.M.; SALAMA, H.M.; ESHBA, N.H.; KADER, O.; EL-CHRBINI, E. Potential anti-microbial: synthesis and *in vitro* anti-microbial evaluation of some 5-arylazo-thiazolidones and related compounds. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 22, p. 485–489, 1987.

LAM, P.Y.S; JADHAV, P.K.; EYERMANN, C.J.; HODGE, C.N.; RU, Y.; BACHELER, L.T.; MEEK, J.L.; OTTO, M.J.; RAYNER, M.M.; WONG, Y.N.; CHANG, C.-H.; WEBER, P.C.; JACKSON, D.A.; SHARPE, T.R.; ERICKSON-VIITANEN, S. Rational design of potent, bioavailable, nonpeptide cyclic ureas as HIV protease inhibitors. **Science**, v. 263, n. 5145, p. 380-384, 1994.

LANDRETH, G. E. & HENEKA, M. T. Anti-inflammatory actions of peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists in Alzheimer's disease. **Neurobiol Aging**, v. 22, n. 6, p. 937–944, 2001.

LEE, H.; SHI, W.; TONTONOZ, P.; WANG, S.; SUBBANAGOUNDER, G.; HEDRICK, C.C.; HAMA, S.; BORROMEO, C.; EVANS, R.M.; BERLINER, J.A.; NAGY, L. Role for peroxisome proliferator-activated receptor alpha in oxidized phospholipid-induced synthesis of monocyte chemotactic protein-1 and interleukin-8 by endothelial cells. **Circulation Research**, v. 87, n. 6, p. 516– 521, 2000.

LEE, S.; KIM, W.; KANG, K. P.; MOON, S. O.; SUNG, M. J.; KIM, D. H.; KIM, H.J.; & PARK, S.K. Agonist of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma,

rosiglitazone, reduces renal injury and dysfunction in a murine sepsis model. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 20, n. 6, p. 1057–1065, 2005.

LEWIS, J. D.; LICHTENSTEIN, G. R.; STEIN, R. B.; DEREN, J. J.; JUDGE, T. A.; FOGT, F.; FURTH, E.E.; DEMISSIE, E.J.; HURD, L.B.; SU, C.G.; KEILBAUGH, S.A.; LAZAR, M.A.; WU, G.D. An open-label trial of the PPAR-gamma ligand rosiglitazone for active ulcerative colitis. **Am J Gastroenterol.**, v. 96, n. 12, p. 3323–3328, 2001.

LI, M.; PASCUAL, G. AND GLASS, C. K. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent repression of the inducible nitric oxide synthase gene. **Mol. Cell. Biol.**, v. 20, p. 4699–4707, 2000.

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

LIMA, M.C.A.; COSTA, D.L.B.; GOES, A.J.S.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; LUUDUC, C. Synthèse et activité antimicrobienne de dérivés chlorobenzyl benzylidene imidazolidinediones et thiazolidinediones substitués. **Pharmazie**, v. 47, p. 182–184, 1992.

LIPSKY, P.E. Unresolved issues in the role of cyclooxygenase-2 in normal physiologic processes and disease. **Arch Intern Med.**, v. 160, p. 913-920, 2000.

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

LOUZADA-Jr, P.; PETEAN, F. C.; SILVA, L. M.; DONADI, E. A. Inflamação nas doenças reumáticas. www.cibersaude.com.br. p. 1-16, 2003.

LOVETT-RACKE, A. E.; HUSSAIN, R. Z.; NORTHROP, S.; CHOY, J.; ROCCHINI, A.; MATTHES, L.; CHAVIS, J.A.; DIAB, A.; DREW, P.D.; RACKE, M.K. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonists as therapy for autoimmune disease. **Journal of Immunology**, v. 172, n. 9, p. 5790–5798, 2004.

MAJNO, G. *The Healing Hand: Man and Wound in the Ancient World*. **Harvard University Press**. Cambridge MA. 1975.

MARKLEY, K.S.; REID, E.E. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 52, p. 2981-2984, 1930. In: LIMA, J.G. Alguns aspectos químicos do anel tiazolidina-2,4-diona. **Rev. Univ. Rural, Sér. Ciênc. Exatas e da Terra**, v. 18/20, n. 1/2, p. 1-8, 1998.

MARNETT, L.J.; ROWLINSON, W.S.; GOODWIN, D.C. et al. Arachidonic acid oxygenation by COX-1 and COX-2. **J Biol Chem.**, v. 274, p. 22903-22906, 1999.

MARTIN-NIZARD, F.; FURMAN, C.; DELERIVE, P.; KANDOSSI, A.; FRUCHART, J. C.; STAELS, B. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor

activators inhibit oxidized low-density lipoprotein-induced endothelin-1 secretion in endothelial cells. **J Cardiovasc Pharmacol.**, v. 40, n. 6, p. 822–831, 2002.

MARX, N.; BOURCIER, T.; SUKHOVA, G. K.; LIBBY, P.; & PLUTZKY, J. PPAR-gamma activation in human endothelial cells increases plasminogen activator inhibitor type-1 expression: PPARgamma as a potential mediator in vascular disease. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, v. 19, n. 3, p. 546–551, 1999.

MARX, N.; MACH, F.; SAUTY, A.; LEUNG, J. H.; SARAFI, M. N.; RANSOHOFF, R. M.; LIBBY, P.; PLUTZKY, J.; LUSTER, A.D. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activators inhibit IFN-gamma-induced expression of the T cell-active CXC chemokines IP-10, Mig, and I-TAC in human endothelial cells. **J Immunol.**, v. 164, n. 12, p. 6503– 6508, 2000.

MARX, N.; KEHRLE, B.; KOHLHAMMER, K.; GRUB, M.; KOENIG, W.; HOMBACH, V.; LIBBY, P.; PLUTZKY, J. PPAR activators as anti-inflammatory mediators in human T lymphocytes: implications for atherosclerosis and transplantation-associated arteriosclerosis. **Circ Res.**, v. 90, n. 6, p. 703–710, 2002.

MATTOO, V.; ECKLAND, D.; WIDEL, M.; DURAN, S.; FAJARDO, C.; STRAND, J.; KNIGHT, D.; GROSSMAN, L.; OAKLEY, D.; TAN, M. Metabolic effects of pioglitazone in combination with insulin in patients with type 2 diabetes mellitus whose disease is not adequately controlled with insulin therapy: results of a sixmonth, randomized, double-blind, prospective, multicenter, parallel-group study. **Clin Ther.**, v. 27, p. 554–567, 2005.

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

MITCHELL, J. A.; BELVISI, M. G.; AKARASEREENONT, P.; ROBBINS, R. A.; KNOW, O. J.; CROXTALL, J.; BARNES, P. J. & VANE, J. R. Induction of cyclooxygenase-2 by cytokines in human pulmonary epithelial cells: regulation by dexamethasone. **Br J. Pharmacol.** v. 113, p. 1008-1014 , 1994.

MOHANTY, P.; ALJADA, A.; GHANIM, H.; HOFMEYER, D.; TRIPATHY, D.; SYED, T.; AL-HADDAD, W.; DHINDSA, S.; DANDONA, P. Evidence for a potent anti-inflammatory effect of rosiglitazone. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 89, p. 2728–2735, 2004.

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

MORAES, L.A.; PIQUERAS, L.; BISHOP-BAILEY, D. Peroxisome proliferator-activated receptors and inflammation. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 110, p. 371 – 385, 2006.

MORETTI, R. M.; MARELLI, M. M.; MOTTA, M.; LIMONTA, P. Oncostatic activity of a thiazolidinedione derivative on human androgen-dependent prostate cancer cells. **Int. J. Câncer.**, v. 92, p. 733- , 2001.

- MORIKAWA, K.; NONAKAA, M.; NARAHARAA, M.; TORIIB, I.; KAWAGUCHIC, K.; YOSHIKAWAC, T.; KUMAZAWAD, Y.; MORIKAWAB, S. Inhibitory effect of quercetin on carrageenan-induced inflammation in rats. **Life Sciences**, v. 74, p. 709–721, 2003.
- MOURÃO, R. H.; SILVA, T. G.; SOARES, A.L.M.; VIEIRA, E.S.; SANTOS, J. N.; PITTA, I.R. Synthesis and Biological Activity of Novel Acridinylidene and Benzylidene thiazolidinediones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, p. 1129-1133, 2005.
- MUKHERJEE, R.; JOW, L.; NOONAN, D. & MCDONNELL, D. P. Human and rat peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) demonstrate similar tissue distribution but different responsiveness to PPAR activators. **J Steroid Biochem Mol Biol.**, v. 51, n. 3–4, p. 157– 166, 1994.
- MURAO, K.; IMACHI, H.; MOMOI, A.; SAYO, Y.; HOSOKAWA, H.; SATO, M.; ISHIDA, T.; TAKAHARA, J. Thiazolidinedione inhibits the production of monocyte chemoattractant protein-1 in cytokine-treated human vascular endothelial cells. **Febs Lett.**, v. 454, n. 1– 2, p. 27– 30, 1999.
- NATARAJAN, C. & BRIGHT, J. J. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists inhibit experimental allergic encephalomyelitis by blocking IL-12 production, IL-12 signaling and Th1 differentiation. **Genes Immun.**, v. 3, n. 2, p. 59– 70, 2002.
- OKADA, M.; YAN, S. F. & PINSKY, D. J. Peroxisome proliferators activated receptor-gamma (PPAR-gamma) activation suppresses ischemic induction of Egr-1 and its inflammatory gene targets. **Faseb J.**, v. 16, n. 14, p. 1861–1868, 2002.
- OTTANÀ, R.; MACCARI, R.; BARRECA, M.L.; BRUNO, G.; ROTONDO, A.; ROSSI, A.; CHIRICOSTA, G.; DI PAOLA, R.; SAUTEBIN, L.; CUZZOCREA, S.; VIGORITA, M.A. 5-Arylidene-2-imino-4-thiazolidinedions: Design and synthesis of novel anti-inflammatory agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 4243-4252, 2005.
- PALASKA, E.; SAHIN, G.; KELICEN, P.; DURLU, N.T.; ALTINOK, G. Synthesis and anti-inflammatory activity of 1-acylthiosemicarbazides, 1,3,4-thiadiazoles and 1,2,4-triazole-3-thiones. **IL Farmaco**, v. 57, p. 101-107, 2002.
- PASCERI, V.; CHENG, J. S.; WILLERSON, J. T.; & YEH, E. T. Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. **Circulation**, v. 104, n. 16, p. 2531– 2534, 2001.
- PAVLOV, V.A.; TRACEY, K.J. The cholinergic anti-inflammatory pathway. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 19, p. 493–499, 2005.
- PERALDI, P.; XU, M. & SPIEGELMAN, B. M. Thiazolidinediones block tumor necrosis factor-alpha-induced inhibition of insulin signaling. **J Clin Invest.**, v. 100, n. 7, p. 1863– 1869, 1997.

PEREIRA, D.T.M.; Síntese, comprovação estrutural e atividade antiinflamatória de compostos tiazolidinônicos-3,5-dissubstituídos. (Mestrado em Ciências Biológicas). Centro de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brasil, 2007.

PERSHADSINGH, H. A. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma: therapeutic target for diseases beyond diabetes: quo vadis? **Expert Opin Investig Drugs**, v. 13, p. 215 – 28, 2004.

PETERS, J. M.; LEE, S. S.; LI, W.; WARD, J. M.; GAVRILOVA, O.; EVERETT, C. et al. Growth, adipose, brain, and skin alterations resulting from targeted disruption of the mouse peroxisome proliferator-activated receptor beta(delta). **Mol Cell Biol.**, v. 20, n. 14, p. 5119–5128, 2000.

POMMERY, N.; TAVERNE, T.; TELLIEZ, A.; GOOSSENS, L.; CHARLIER, C.; POMMERY, J.; GOOSSENS, J. F.; HOUSSIN, R.; DURANT, F.; HENICHART, J. P. New COX-2/5-LOX inhibitors: apoptosis-inducing agents potentially useful in prostate cancer chemotherapy. **J. Med. Chem.**, v. 47, p. 6195-6206, 2004.

POYNTER, M. E. & DAYNES, R. A. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activation modulates cellular redox status, represses nuclear factor-kappaB signaling, and reduces inflammatory cytokine production in aging. **J Biol Chem.**, v. 273, n. 49, p. 32833–32841, 1998.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. Farmacologia. 4ª Edição. Editora Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2001. Cap. 24, p. 345-351.

RANI, PREETI; ARCHANA; SRIVASTAVA, V. K.; KUMAR, ASHOK. Synthesis and anti-inflammatory activity of some new 2,3-disubstituted-6-monosubstituted-quinazolin-4(3H)-ones. **Indian J. Chem.** v. 41, n. 12, p. 2642-2646, 2002.

RAYET, B.; GELINAS, C. Aberrant rel/nfkb genes and activity in human cancer. **Oncogene**, v. 18, n. 49, p. 6938–6947, 1999.

REDDY, S.T.; HERSCHMAN, H.R. Transcellular prostaglandin production following mast cell activation is mediated by proximal secretory phospholipase A2 and distal prostaglandin synthase-1. **J Biol Chem.**, v. 271, p. 186-191, 1996.

REITZ, D. B.; LI, J. J.; NORTON, M. B.; REINHARD, E. J.; COLLINS, J. T.; ANDERSON, G. D.; GREGORY, S. A.; KOBOLDT, C. M.; PERKINS, W. E.; SEIBERT, K. & ISAKSON, P. C. Selective Cyclooxygenase Inhibitors: Novel 1,2-Diarylcyclopentenes Are Potent and Orally Active COX-2 Inhibitors. **J. Med. Chem.** v. 37, n. 23, p. 3878-3881, 1994.

RICOTE, M.; LI, A.C.; WILLSON, T.M.; KELLY, C.J.; GLASS, C.K. The peroxisome proliferator-activated receptor- α is a negative regulator of macrophage activation. **Nature**, v. 391, p. 79–82, 1998.

- RILEY, P.A. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation, **Int. J. Radiat. Biol.**, v. 65, p. 27–33, 1994.
- RIVAL, Y.; BENETEAU, N.; TAILLANDIER, T.; PEZET, M.; DUPONT-PASSELAIGUE, E.; PATOISEAU, J. F.; JUNQUERO, D.; COLPAERT, F.C.; DELHON, A. PPARalpha and PPARdelta activators inhibit cytokine-induced nuclear translocation of NF-kappaB and expression of VCAM-1 in EAhy926 endothelial cells. **Eur J Pharmacol.** v. 435, n. 2– 3, p. 143– 151, 2002.
- ROMANO, M.; FAGGIONI, R.; SIRONI, M.; SACCO, S.; ECHTENACHER, B.; DI SANTO, E.; SALMONA, M.; GHEZZI, P. Carrageenan-induced acute inflammation in the mouse air pouch synovial model. Role of tumour necrosis factor. **Mediators of Inflammation**, v. 6, p. 32-38, 1997.
- ROSENBAUM, S. E. & GREENBERG, A. S. The short- and long-term effects of tumor necrosis factor-alpha and BRL 49653 on peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)gamma2 gene expression and other adipocyte genes. **Mol Endocrinol.**, v. 12, n. 8, p. 1150–1160, 1998.
- SARZI-PUTTINI, P.; CIMMINO, M.A.; SCARPA, R.; CAPORALI, R.; PARAZZINI, F.; ZANINELLI, A.; ATZENI, F.; CANESI, B. Osteoarthritis: An Overview of the Disease and Its Treatment Strategies. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v. 35, n. 1, p. 1-10, 2005.
- SANTOS, L.C.; UCHÔA, F.T.; CANAS, A.R.P.A.; SOUSA, I. A.; MOURA, R.O.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; BARBE, J. Synthesis and anti-inflammatory activity of new thiazolidine-2,4-diones, 4-thioxothiazolidinones and 2-thioxoimidazolidinones. **Heterocyclic communications**, v. 11, n. 2, p. 121-128, 2005.
- SCHLONDORFF, D. Renal complications of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Kidney Int.** v. 44, p. 643-653, 1993.
- SCHONBECK, U.; SUKHOVA, G.K.; GRABER, P. et al. Augmented expression of COX-2 in human atherosclerotic lesions. **Am J Pathol.**, v. 155, p. 1281-1291, 1999.
- SCOGNAMILLO-SZABÓ, M.V.R.; BECHARA, G.H.; CUNHA, F.Q. Efeito da acupuntura sobre a concentração de TNF- α , IL-1 β e IL-10 no exsudato peritoneal de ratos com peritonite induzida por carragenina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.1, p.103-108, 2005.
- SHER, T.; YI, H. F.; MCBRIDE, O. W. & GONZALEZ, F. J. cDNA cloning, chromosomal mapping, and functional characterization of the human peroxisome proliferator activated receptor. **Biochemistry**, v. 32, n. 21, p. 5598– 5604, 1993.
- SHVAIKA, O.P.; KOROTKIKIH, N.I.; CHERVINSKII, A. YU.; ARTEMOV, V.N. Zh. **Oprg Khim**, v. 39, p. 1533-1542, 1983. In: LIMA, J. G. Alguns aspectos químicos do anel tiazolidina-2,4-diona. **Rev. Univ. Rural, Sér. Ciênc. Exatas e da Terra**, v. 18/20, n. 1/2, p. 1-8, 1998.

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

SINGH, S. AND EVANS, T. W. Organ dysfunction during sepsis. **Intensive Care Med.**, v. 32, p. 349–360, 2006.

SPRAGUE, J.M.; LAND, A.H. Heterocyclic compounds, 1957. In: LIMA, J.G. Alguns aspectos químicos do anel tiazolidina-2,4-diona. **Rev. Univ. Rural, Sér. Ciênc. Exatas e da Terra**, v. 18/20, n. 1/2, p. 1-8, 1998.

SPENCER, N. F.; POYNTER, M. E.; IM, S. Y.; DAYNES, R. A. Constitutive activation of NF-kappa B in an animal model of aging. **Int Immunol.**, v. 9, n. 10, p. 1581– 1588, 1997.

STAELS, B.; KOENIG, W.; HABIB, A.; MERVAL, R.; LEBRET, M.; TORRA, I. P. et al. Activation of human aortic smooth-muscle cells is inhibited by PPARalpha but not by PPARgamma activators. **Nature**, v. 393, n. 6687, p. 790– 793, 1998.

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

SU, C.G.; WEN, X.; BAILEY, S.T.; JIANG, W.; RANGWALA, S.M.; KEILBAUGH, S.A.; FLANIGAN, A.; MURTHY, S.; LAZAR, M.A.; WU, G.D. A novel therapy for colitis utilizing PPAR-gamma ligands to inhibit the epithelial inflammatory response. **J Clin Invest.**, v. 104, p. 383–389, 1999.

TAK, P.P.; FIRESTEIN, G.S. NF-kappaB: a key role in inflammatory diseases. **Journal of Clinical Investigation**, v. 107, n. 1, p. 7–11, 2001.

TAYLOR, B. K.; DADIA, N.; YANG, C. B.; KRISHNAN, S.; & BADR, M. Peroxisome proliferator-activated receptor agonists inhibit inflammatory edema and hyperalgesia. **Inflammation**, v. 26, n. 3, p. 121– 127, 2002.

TILLEY S. L.; COFFMAN, T. M.; KOLLER B. H. Mixed messages modulation of inflammation and immune responses by prostaglandins and thromboxanes. **J Clin Invest.**, v. 108, p. 15-23, 2001.

TOKUYAMA, R.; TAKAHASHI, Y.; TOMITA, Y.; TSUBOUCHI, M.; IWASAKI, N.; KADO, N.; OKEZAKI, E.; NAGATA, O. Structure-Activity Relationship (SAR) Studies on Oxazolidinone Antibacterial Agents. 3.¹⁾ Synthesis and Evaluation of 5-Thiocarbamate Oxazolidinones. **Chem. Pharm. Bull.** v. 49, n. 4, p. 361–367, 2001.

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

- VANE, J. R. Inhibition of Prostaglandin Synthesis as a Mechanism of Action for Aspirin-Like Drugs. **Nature**, v. 231, p. 232-235, 1971.
- VANE, J.; CORIN, R.E. Prostacyclin: A Vascular Mediator. **Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.**, v. 26, p. 571–578, 2003.
- VAN KEMPEN, L.C.L.; VISSER, K.E.; COUSSENS, L.M. Inflammation, proteases and cancer. **European Journal of Cancer**, v. 42, p. 728-734, 2006.
- VINEGAR, R.; TRUAX, J.F.; SELPH, J.L. Some quantitative temporal characteristics of carrageenin-induced pleurisy in rat. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 143, p.711-4, 1973.
- WERMUTH, C-G. Search for new lead compounds: The example of the chemical and pharmacological dissection of aminopyridazines. **Journal of Heterocycle Chemistry**. v. 35, n. 5, p. 1091-1100, 1998.
- WERNER, S.; ALZHEIMER, C. Roles of activin in tissue repair, fibrosis, and inflammatory disease. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, Article in press, 388; No of Pages 15, 2006.
- WHELTON, A. Renal aspects of treatment with conventional nonsteroidal anti-inflammatory drugs versus cyclooxygenase-2 specific inhibitors. **Am. J. Med.**, v. 110, p. 33-42, 2001.
- WHITE, M.J. Mediators of inflammation and the inflammatory process. **J Allergy Clin Immunol**. v. 103, p.378–381, 1999.
- WILLOUGHBY, D.A.; MOORE, A.R.; COLVILLE-NASH, P.R. COX-1, COX-2, and COX-3 and the future of chronic inflammatory disease. **Lancet**, v. 355, p. 646-648, 2000.
- WOERLY, G.; HONDA, K.; LOYENS, M.; PAPIN, J. P.; AUWERX, J.; STAELS, B. CAPRON, M.; DOMBROWICZ, D. Peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma down-regulate allergic inflammation and eosinophil activation. **J Exp Med.**, v. 198, n. 3, p. 411 –421, 2003.
- YAKSH, T.L.; DIRIG, D.M.; CONWAY, C.M.; SVENSSON, C.; LUO, Z. D.; ISAKSON, P.C. The acute antihyperalgesic action of nonsteroidal, anti-inflammatory drugs and release of spinal prostaglandin E2 is mediated by the inhibition of constitutive spinal cyclooxygenase-2 (COX-2) but not COX-1. **J Neurosc.**, v. 21, p. 5847-5853, 2001.
- YAMAMOTO, Y.; GAYNOR, R.B. Therapeutic potential of inhibition of the NF-kappaB pathway in the treatment of inflammation and cancer. **Journal of Clinical Investigation**, v. 107, n. 2, p. 135–142, 2001.

YE, Y. N.; WU, W. K.; SHIN, V. Y.; BRUCE, I. C.; WONG, B. C.; CHO, C. H. Dual inhibition of 5-LOX and COX-2 suppresses colon cancer formation promoted by cigarette smoke. **Carcinogenesis**, v. 26, p. 827-834, 2005.

YOKOMIZO, T.; IZUMI, T.; CHANG, K.; TAKUWA, Y.; & SHIMIZU, T. A G-protein-coupled receptor for leukotriene B4 that mediates chemotaxis. **Nature**, v. 387, n. 6633, p. 620– 624, 1997.

YOUSSEF, J. & BADR, M. Role of peroxisome proliferators activated receptors in inflammation control. **J Biomed Biotechnol.**, v. 3, p. 156– 166, 2004.

ZHANG, B.; BERGER, J.; HU, E.; SZALKOWSKI, D.; WHITE-CARRINGTON, S.,; SPIEGELMAN, B. M.; MOLLER, D. Negative regulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma gene expression contributes to the antiadipogenic effects of tumor necrosis factor-alpha. **Mol Endocrinol.**, v. 10, n. 11, p. 1457–1466, 1996.

