

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

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA E ANTINOCICEPTIVA DE
COMPOSTOS TIAZOLIDINÔNICOS-3,5-DISSUBSTITUÍDOS**

THIAGO UBIRATAN LINS E LINS

Recife, Março de 2010

Thiago Ubiratan Lins e Lins

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA E ANTINOCICEPTIVA DE
COMPOSTOS TIAZOLIDINÔNICOS-3,5-DISSUBSTITUÍDOS**

**Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós Graduação em
Ciências Biológicas do Centro de
Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Pernambuco para obtenção
do título de Mestre em Ciências
Biológicas, Área de Concentração
Biologia Química para a Saúde.**

Orientador: Prof. Dr. Ivan da Rocha Pitta

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Teresinha Gonçalves da Silva

Recife, Março de 2010

Lins, Thiago Ubiratan Lins e

Avaliação da atividade antiinflamatória e antinociceptiva de compostos tiazolidinônicos-3,5-dissubstituídos / Thiago Ubiratan Lins e Lins. – Recife: O Autor, 2010.

80 folhas : fig., tab.

Orientador: Ivan da Rocha Pitta.

Co-Orientadora: Teresinha Gonçalves da Silva.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Ciências Biológicas, 2010.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Farmacologia 2. Química medicinal 3. Agentes antiinflamatórios 4. Compostos orgânicos I. Título.

615.3

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2010-124

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA E ANTINOCICEPTIVA DE COMPOSTOS TIAZOLIDINÔNICOS-3,5-DISSUBSTITUÍDOS

Thiago Ubiratan Lins e Lins

ORIENTAÇÃO:

Orientador: Prof. Dr. Ivan da Rocha Pitta

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Teresinha Gonçalves da Silva

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Ivan da Rocha Pitta (Departamento de Antibióticos – UFPE)

Prof^a. Dr^a. Suely Lins Galdino (Departamento de Antibióticos – UFPE)

Prof^a. Dr^a. Teresinha Gonçalves da Silva (Departamento de Antibióticos – UFPE)

Prof^a. Dr^a. Maria do Carmo Alves de Lima (Departamento de Antibióticos – UFPE)

Prof^a. Dr^a. Maria Tereza dos Santos Correia (Departamento de Bioquímica – UFPE)

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO.

Aos nove dias do mês de março de dois mil e dez, às nove horas, no Auditório do Departamento de Antibióticos do Centro de Ciências Biológicas, realizou-se a Defesa de Dissertação apresentada pelo Mestrando **Thiago Ubiratan Lins e Lins**, intitulada: **“Avaliação da atividade antiinflamatória e antinociceptiva de compostos tiazolidinônicos-3,5-dissubstituídos”**. A Banca Examinadora foi homologada em doze de janeiro de dois mil e dez, pela PROPESQ, tendo como membros titulares os Professores: **Ivan da Rocha Pitta** (Orientador), Doutor em Ciências Farmacêuticas, pela Universidade Grenoble, França, **Suely Lins Galdino**, Doutora em Ciências Farmacêuticas, pela Universidade de Grenoble, França, **Teresinha Gonçalves da Silva**, Doutora em Ciências Biológicas, pela Universidade Federal de Pernambuco; **Maria Tereza dos Santos Correia**, Doutora em Ciências Biológicas, pela Universidade Federal de São Paulo e **Maria do Carmo Alves de Lima**, Doutora em Química Orgânica e Bioquímica, pela Universidade de Paris VI, França, suplentes. O Prof. Ivan Pitta deu início à Sessão, agradeceu pela presença de todos e passou a palavra ao Mestrando para fazer exposição de sua dissertação, que efetuou em trinta minutos. Continuando, o presidente solicitou à Comissão Examinadora a ocupar seus lugares. A seguir, procedeu-se à arguição na seguinte ordem: Dr.^a Teresinha da Silva (1º examinador), Dr.^a Suely Galdino (2º examinador), Dr. Ivan Pitta (3º examinador). Dando continuidade, o presidente abordou a importância do trabalho desenvolvido pelo aluno e, em seguida, expressou seus agradecimentos, solicitando aos convidados a gentileza de se retirarem do recinto por alguns minutos, a fim de proceder a avaliação. A Comissão Examinadora atribuiu a **Thiago Ubiratan Lins e Lins** a seguinte menção: **“Aprovado”** por unanimidade. Face ao resultado o mesmo está apto a receber o grau de Mestre em Ciências Biológicas, Área **Biologia Química para a Saúde**, pela Universidade Federal de Pernambuco. Nada mais havendo a tratar, a sessão foi encerrada e para constar, eu Adenilda Eugênia de Lima, Secretária, lavrei, datei e assinei a presente ata que também assinam os demais presentes. Recife 09 de março de

2010.

[Assinaturas manuscritas:]
Teresinha G. Silva
Suely Lins Galdino
Thiago Ubiratan Lins e Lins
Adenilda Eugênia de Lima
Janaína Aguiar
Márcia Guiliana Desanta de Paula
Janaína Aguiar
Janaína Aguiar

*O saber a gente aprende com os mestres e os
livros.*

*A sabedoria se aprende é com a vida e com os
humildes.*

Cora Coralina

*Dedico este trabalho à minha querida avó
Teresinha que já não se encontra entre nós,
mas que se faz presente sempre em meu
pensamento e, sobretudo em meu coração.*

AGRADECIMENTOS

A **Deus** que com sua imensa grandiosidade promove vitórias em minha vida, me dando coragem de vencer os obstáculos da vida a cada dia sem deixar de me amparar quando por alguma vez venho a tropeçar em um desses obstáculos. Obrigado Senhor por mais esse degrau subido na escadaria da vida.

À **minha família** que me fez o que sou. Se hoje cheguei até aqui foi graças à dedicação intensa em ajudar, ouvir, discutir, combinar, etc. Agradeço por ter me apoiado nas decisões que tomei. Um obrigado imenso. Amo todos vocês.

Ao **Prof. Dr. Ivan da Rocha Pitta** obrigado pela oportunidade a mim concedida de ser orientado nesse trabalho. Tal oportunidade fez com que me tornasse integrante do conceituado grupo de pesquisa GPIT que visa o desenvolvimento científico nacional fazendo-me sentir privilegiado de trabalhar com profissionais tão empenhados em contribuir para o bem da Ciência.

À **Prof.^a Dr.^a Teresinha Gonçalves da Silva**, exemplo de simplicidade, dignidade e sabedoria, tenho muito a agradecer por todos esses anos que temos convivido. Seus ensinamentos me fizeram, de início, descobrir o gosto pela Ciência e, mais tarde, capaz de superar minhas dificuldades e limitações contribuindo para o meu fortalecimento acadêmico sempre me corrigindo quando necessário e me apoiando a vencer os obstáculos e aceitar novos desafios. Meus agradecimentos pela co-orientação nesse trabalho.

À **Prof.^a Dr.^a Suely Lins Galdino** pelo carinho e atenção sempre distribuídos para com seus alunos. Agradeço pela disponibilidade e empenho em ajudar durante esse período do Mestrado e por ter me acolhido em seu grupo de pesquisa.

À **Prof.^a Dr.^a Maria do Carmo Alves de Lima (Nena)** obrigado por ter se mostrado tão empenhada na colaboração deste trabalho. Sua preocupação em ajudar e fazer com que tudo dê certo foram de imensa valia.

À **Prof.^a Dr.^a Maria Teresa dos Santos Correa**, coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, agradeço pela forma leve, simples e paciente de tratar os assuntos relacionados ao programa sem deixar em tempo algum de se mostrar coerente e firme em suas decisões.

À **Dr.^a Laudelina Rodrigues de Magalhães**, colega hoje ausente do nosso laboratório, mas presente em meu pensamento. Obrigado por, juntamente com a Prof.^a Dr.^a Teresinha, descortinar um mundo científico que outrora foi desconhecido me fazendo investir no ramo da pesquisa.

À **Iane Bezerra Vasconcelos dos Santos** agradeço primeiramente por servir de exemplo a seguir com sua determinação de conseguir chegar onde deseja e por estar sempre presente e pronta a ajudar em tudo quanto lhe é solicitado.

A todos os **estagiários de iniciação científica** do Laboratório de Bioensaios para Pesquisa de Fármacos, presentes ou egressos, meu agradecimento pelo companheirismo e união, sentimentos sempre tão presentes em todos e de extrema importância no fortalecimento de nossos laços de equipe. Em especial gostaria de agradecer a **Katariny, Marília e Sirlene (KatyMariSil)** por todos esses anos de convívio e de alegria que, com certeza, deixarão saudades.

A todos os **estagiários de iniciação científica** do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos pela dedicação em sempre querer ajudar quando precisei.

Aos **colegas da turma de Pós-Graduação** por, durante toda nossa convivência, termos dividido tantas alegrias, brincadeiras, expectativas, ansiedades e medos. Foi dividindo nossas dificuldades que pudemos chegar aonde chegamos. Obrigado por todo o companheirismo. Um agradecimento especial àqueles integrantes do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos por nossa convivência quase que diária.

À **Adenilda Eugênia de Lima**, secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, exemplo de competência e agilidade, meus sinceros agradecimentos por atender solicitações e dúvidas muitas vezes complicadas de serem resolvidas, mas que, com sua boa vontade em ajudar, tudo se solucionava de maneira rápida e eficiente.

À **Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE)** pela concessão da bolsa de estudos e auxílio financeiro.

LINS, THIAGO UBIRATAN LINS E LINS; Avaliação da Atividade Antiinflamatória e Antinociceptiva de Compostos Tiazolidinônicos-3,5-Dissubstituídos. 2010. Orientador: Ivan da Rocha Pitta. Co-orientador: Teresinha Gonçalves da Silva.

RESUMO

O processo inflamatório tem sido uma importante causa de morbidade e mortalidade humana, tornando-se objeto de estudos experimentais que procuram avaliar o papel dos diversos mediadores envolvidos na resposta inflamatória. Nesse contexto, a busca por novas moléculas revelou o potencial antiinflamatório dos derivados tiazolidínicos, grupo de moléculas estruturalmente relacionadas caracterizados pelo anel tiazolidínico. Tais moléculas têm o receptor ativado por proliferadores de peroxissomos gama (PPAR γ) como principal alvo biológico. Neste trabalho foram descritos a síntese e as características físico-químicas de novos derivados tiazolidinônicos-3,5-dissubstituídos da série química LPSF/GQ: o LPSF/GQ-138 (3-(3-flúor-benzil)-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona) e o LPSF/GQ-140 (3-(3-flúor-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona) obtidos a partir da reação de adição de Michael entre a 3-(3-flúor-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-56) com derivados 3-fenil-2-ciano-acrilatos de etila substituídos (LPSF/IP-6 e LPSF/IP-15). Ambos os compostos sintetizados tiveram suas estruturas químicas elucidadas por espectroscopia de infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H). Em seguida foi investigada a atividade antiinflamatória dos compostos sintetizados no ensaio da peritonite induzida por carragenina 1% onde foram escolhidas as doses 0,37; 1,11; 3,33 e 10 μ mol/kg e o fármaco de referência indometacina na dose de 28 μ mol/kg, apresentando inibição da migração celular num percentual variando de 45,7 a 71,0% para os compostos e 54,3% para a indometacina. Foi realizada ainda a avaliação da atividade antinociceptiva através do teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético 1% e do teste da formalina utilizando-se a melhor dose encontrada no ensaio da peritonite (10 μ mol/kg). No teste de contorções abdominais os compostos LPSF/GQ-138 e LPSF/GQ-140 apresentaram percentuais de inibição de 32,2 % e 20,8 % respectivamente, em comparação com a dipirona na dose de 450 μ mol/kg (50,2%). No teste da formalina, foram obtidos percentuais de inibição para o LPSF/GQ-138 na 1ª e 2ª fases do teste de 33,3 % e 59,5 % respectivamente e para o LPSF/GQ-140 na 1ª e 2ª fases do teste de 24,0 % e 42,4 % respectivamente, em comparação com a dipirona na dose de 450 μ mol/kg (42,9% e 83,4%, respectivamente).

Palavras-chave: Atividade antiinflamatória. Atividade antinociceptiva. Derivados tiazolidínicos. Peritonite. PPAR gama.

LINS, THIAGO UBIRATAN LINS E LINS; Avaliação da Atividade Antiinflamatória e Antinociceptiva de Compostos Tiazolidinônicos-3,5-Dissubstituídos. 2010. Orientador: Ivan da Rocha Pitta. Co-orientador: Teresinha Gonçalves da Silva.

ABSTRACT

The inflammatory process has been an important cause of morbidity and mortality human, becoming the object of experimental studies that search to elucidate the role of various mediators involved in inflammatory response. In this context, the search for new molecules revealed the anti-inflammatory potential of thiazolidine derivatives, a structurally related group of molecules characterized by a thiazolidine ring. These molecules have the peroxisome proliferator activated receptors gamma (PPAR γ) as the main biological target. In this work were described the synthesis and the physicochemical features of a new thiazolidinic derivatives-3,5-disubstituted of the chemical series LPSF/GQ: the LPSF/GQ-138 (3-(3-fluor-benzyl)-5-(4 -methoxy-benzylidene)-thiazolidine-2,4-dione) and LPSF/GQ-140 (3-(3-fluor-benzyl)-5-(4-methyl-benzylidene)-thiazolidine-2,4-dione) compounds obtained starting from the Michael addition reaction among the 3-(3-fluor-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione (LPSF/GQ-56) with substituted derivatives of 3-phenyl-2-cyano-substituted ethyl acrylates (LPSF / IP-6 and LPSF/IP-15). All the synthesized compounds had their chemical structures elucidated by infrared spectroscopy (IR), nuclear magnetic resonance (^1H NMR) and mass spectroscopy (MS). Then were investigated the anti-inflammatory activity of compounds synthesized in peritonitis induced by carrageenan 1% test where were chosen the 0,37; 1,11; 3,33 and 10 mmol / kg doses and the reference drug indomethacin on 28 mmol / kg dose, achieving an cellular migration inhibition variating from 45,7 to 71,0% for the compounds and 54,3% for indomethacin. The evaluation of antinociceptive activities were been realized through the abdominals contort induced by acethic acid 1% and formalin test, using the dose that achieve the most inhibition percentual of inflammation on the peritonitis assay (10 $\mu\text{mol/kg}$). On the abdominals contort test the compounds LPSF/GQ-138 and LPSF/GQ-140 achieve inhibition percentuals of 32,2 % and 20,8 %, respectively against 50,2% of the dypirone on 450 $\mu\text{mol/kg}$ dose. On the formalin test were obtained inhibitions percentuals of 33,3 % e 59,5 % for first and second phases of test, respectively for the LPSF/GQ-138 and 24,0 % e 42,4 % for first and second phases of test respectively for the LPSF/GQ-140 in comparison with dypirone (42,9% and 83,4%, respectively).

Key words: Antiinflammatory activity. Antinociceptive activity. Thiazolidine derivatives. Peritonitis. PPAR gamma

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Aspirina	21
Figura 2	Síntese das prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos	22
Figura 3	Principais efeitos da aspirina e dos salicilatos	23
Figura 4	Meloxicam e Nimesulida	25
Figura 5	Vioxx® (Rofecoxib) e Bextra® (Valdecoxib)	25
Figura 6	Zileuton	26
Figura 7	Licofelone	26
Figura 8	Troglitazona	27
Figura 9	Rosiglitazona e Pioglitazona	28
Figura 10	Principais manifestações locais da inflamação aguda	30
Figura 11	Diagrama de síntese dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona	69
Figura 12	Espectro de infravermelho do 3-(3-flúor-benzil)-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-138)	72
Figura 13	Espectro de infravermelho do 3-(3-flúor-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-140)	73
Figura 14	Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 3-(3-flúor-benzil)-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-138)	75
Figura 15	Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 3-(3-flúor-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-140)	76

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Gráfico 1	Percentual de inibição da migração celular dos derivados LPSF/GQ-138 e LPSF/GQ-140	59
Gráfico 2	Efeito do derivado tiazolidínico LPSF/GQ-138 e indometacina	60
Gráfico 3	Efeito do derivado tiazolidínico LPSF/GQ-140 e indometacina	60
Gráfico 4	Efeito dos derivados tiazolidínicos LPSF/GQ sobre a nocicepção induzida por ácido acético (1%)	62
Gráfico 5	Efeito dos derivados tiazolidínicos LPSF/GQ-138 e LPSF/GQ-140 sobre a nocicepção induzida por formalina (1%) na 1ª fase do teste	63
Gráfico 6	Efeito dos derivados tiazolidínicos LPSF/GQ-138 e LPSF/GQ-140 sobre a nocicepção induzida por formalina (1%) na 2ª fase do teste	64
Tabela 1	Nomes químicos e características dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-dionas	70
Tabela 2	Frequências de absorção no infravermelho, em cm^{-1} , dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-dionas	71
Tabela 3	Deslocamentos químicos (δ) em ppm dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-dionas	74

SUMARIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	x
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS	xii
1. INTRODUÇÃO	16
2. JUSTIFICATIVA	17
3. OBJETIVOS	18
3.1. Geral	18
3.2. Específicos	18
4. REVISÃO DA LITERATURA	19
4.1. A importância da síntese de fármacos	19
4.2. Agentes antiinflamatórios não-esteroidais – AINEs	21
4.3. Tiazolidinadionas: uma importante classe de moléculas	27
4.4. O processo inflamatório	29
4.4.1. Infiltração de neutrófilos	32
4.4.2. Mediadores químicos da resposta inflamatória	34
4.5. Os mecanismos da dor	35
4.6. PPAR γ : alvo terapêutico no tratamento da inflamação e da dor	36
5. BIBLIOGRAFIAS	40
6. CAPÍTULO I - Artigo	52
6.1. Resumo	54

6.2. Introdução	55
6.3. Material e Métodos	56
6.3.1. Procedimentos éticos	56
6.3.2. Animais experimentais	56
6.3.3. Preparação das doses	56
6.3.4. Toxicidade aguda	57
6.3.5. Avaliação da atividade antiinflamatória	57
6.3.6. Avaliação da atividade antinociceptiva	57
6.3.6.1. Contorções abdominais induzidas pelo ácido acético	57
6.3.6.2. Indução do efeito nociceptivo por formalina	58
6.3.7. Análise estatística	58
6.4. Resultados e discussão	58
6.4.1. Toxicidade aguda	58
6.4.2. Avaliação da atividade antiinflamatória	59
6.4.3. Avaliação da atividade antinociceptiva	61
6.4.3.1. Contorções abdominais induzidas pelo ácido acético	61
6.4.3.2. Indução do efeito nociceptivo por formalina	63
6.5. Conclusões	65
6.6. Referências bibliográficas	65
7. ANEXOS	68
7.1. Parte Química	68
7.1.1. Reagentes, Solventes e Equipamentos	68
7.1.2. Rota de Síntese dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona	68

7.1.3. Nomes químicos e Características físico-químicas	70
7.1.4. Análise Espectroscópica	71
7.1.4.1. Método de espectroscopia de infravermelho – IV	71
7.1.4.1.1. Espectros de infravermelho – IV dos derivados da série 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-dionas (LPSE/GQs).	72
7.1.4.2. Método de ressonância magnética nuclear de hidrogênio – RMN ^1H	74
7.1.4.2.1. Espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio – RMN ^1H dos derivados da série 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-dionas (LPSE/GQs)	75
7.2. Parte Biológica	77
7.2.1 Animais	77
7.2.2. Substâncias utilizadas	77
7.2.3. Delineamento experimental	78
7.2.3.1. Atividade antiinflamatória	78
7.2.3.2. Atividade antinociceptiva	78
7.3. Trabalhos paralelos	79
7.3.1. Resumos publicados em congresso	79

1. Introdução

A inflamação pode ser definida como uma resposta biológica defensiva de tecidos vasculares que induz profundas adaptações fisiológicas ao organismo na tentativa de limitar e/ou reverter o dano tecidual induzido por agentes irritantes biológicos, químicos ou mecânicos (CUZZOCREA, 2005; PAULINO et al., 2009). Durante o processo inflamatório, ocorre o encaminhamento de leucócitos à lesão e ativação posterior para que desempenhem suas funções normais de defesa do hospedeiro (RANG, DALE & RITTER, 2003; KUMAR, ABBAS & FAUSTO, 2005). Tal fenômeno é a característica mais importante da reação inflamatória, vindo a constituir-se no verdadeiro elemento do processo. Entretanto, leucócitos podem prolongar a inflamação e aumentar o dano tecidual pela liberação de enzimas, mediadores químicos e radicais livres, que são tóxicos para os tecidos (RANG, DALE & RITTER, 2003). Nesse contexto, na tentativa de minimizar os efeitos indesejáveis do processo inflamatório, surgiram os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs) a partir da obtenção da aspirina (ácido acetilsalicílico). Posteriormente surgiu uma série de moléculas tendo como mecanismo de ação a inibição da síntese de prostaglandinas através do bloqueio da enzima ciclooxigenase (COX). Porém apesar de serem eficazes no combate aos sintomas da inflamação ainda contam com efeitos indesejáveis significativos. Partindo deste princípio, tem-se buscado novas estratégias para o tratamento da inflamação com menores efeitos adversos através da pesquisa voltada à síntese e aplicação de novos agentes terapêuticos (PAULINO et al., 2009; SERHAN, 2007). Desse modo este trabalho teve por objetivo principal contribuir com a pesquisa de novos agentes antiinflamatórios e/ou antinociceptivos mais específicos e menos tóxicos, melhorando o tratamento de diferentes desordens inflamatórias e possibilitando o desenvolvimento de alternativas terapêuticas mais eficazes que as atuais drogas antiinflamatórias através da avaliação das atividades antiinflamatória e analgésica dos compostos sintetizados em modelo de inflamação aguda e de indução do efeito nociceptivo.

2. Justificativa

Uma vez que a inflamação tem sido uma importante causa de morbidade e mortalidade humana, o processo inflamatório tem sido objeto de diversos estudos experimentais que procuram avaliar o papel dos mediadores envolvidos na resposta inflamatória como histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas, citocinas e óxido nítrico. Nesse sentido tem-se buscado novas moléculas que inibam o processo inflamatório produzido por agentes flogísticos químicos já conhecidos como lipopolissacarídeos, carragenina, formalina, zimozan, dentre outros (CUZZOCREA, 2005; PAULINO et al., 2009).

A pesquisa voltada à síntese e aplicação de novos agentes antiinflamatórios fator que contribui para a descoberta de novas estratégias para o tratamento da inflamação com menores efeitos adversos, uma vez que as principais drogas utilizadas no tratamento da inflamação e dor são as drogas antiinflamatórias não esteroidais (AINEs) conhecidas não apenas pelos seus diversos mecanismos de ação baseados no bloqueio/antagonismo de vias de mediadores pró-inflamatórios envolvidos na iniciação de uma resposta inflamatória aguda tais como a inibição da ciclooxigenase e lipooxigenase e modulação do fator de transcrição nuclear kappa B, mas também por causar efeitos adversos significantes. (PAULINO et al., 2009; SERHAN, 2007).

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

Deste modo, tem-se buscado com o estudo dos efeitos biológicos atribuídos aos derivados tiazolidínicos das séries 5-arilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona e 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GPIT/UFPE) a síntese de novas moléculas bioativas candidatas a fármacos antiinflamatórios com menos efeitos colaterais e principalmente mais eficazes na minimização dos sintomas indesejáveis do processo inflamatório.

3. Objetivos

3.1. Objetivo Geral

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

3.2. Objetivos Específicos

Obter novos derivados tiazolidinônicos-3,5-dissubstituídos da série LPSF/GQ, por meio de reação de adição, entre a 3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-56) com derivados 2-ciano-3-fenil-acrilato de etila substituídos (LPSF/IP-6 ou LPSF/IP-15);

Caracterizar estruturalmente os compostos sintetizados pelos métodos espectroscópicos de infravermelho e ressonância magnética nuclear de hidrogênio;

Avaliar a atividade antiinflamatória dos compostos sintetizados em modelo de inflamação aguda;

Avaliar a atividade analgésica dos compostos sintetizados através da indução do efeito nociceptivo por ácido acético e pela formalina.

4. Revisão da Literatura

4.1. A importância da síntese de fármacos

Atualmente, pode-se denominar que a Química Medicinal engloba o planejamento racional de novas substâncias bioativas, envolvendo a síntese ou a modificação molecular de substâncias; o isolamento de princípios ativos naturais (plantas, animais, minerais); a identificação ou elucidação da estrutura; descrição das moléculas desde a sua constituição atômica até suas características estruturais quando das interações com os diferentes sistemas biofases/biológicos; a compreensão em nível molecular de processos bioquímicos/farmacológicos, toxicológicos e farmacocinéticos (NOGUEIRA, MONTANARI e DONNICI, 2009).

A Química Medicinal ainda engloba a proposição e a validação de modelos matemáticos através dos estudos de relações entre a estrutura química e a atividade farmacológica e/ou toxicológica, permitindo então a proposição de novas moléculas de interesse para o planejamento de fármacos, bem como planejamento e mecanismo de ação de agrotóxicos, previsão da toxicidade de compostos, visando sua aplicação tanto terapêutica quanto ambiental (NOGUEIRA, MONTANARI e DONNICI, 2009).

A síntese de fármacos é um importante capítulo da Química Medicinal especificamente a química orgânica, uma vez que permite a construção de moléculas, em seus diversos níveis de complexidade. Esse desdobramento da síntese orgânica apresenta características particulares, pois além de racionalizar uma seqüência de etapas sintéticas visando obter os melhores rendimentos possíveis, é necessário também dispensar atenção ao grau de pureza e à escala da reação (MENEGATTI, FRAGA e BARREIRO, 2001).

Um dos principais objetivos da química orgânica e medicinal é o desenho, síntese e produção de moléculas promissoras enquanto agentes terapêuticos para humanos. Durante a década passada, a química combinatória tem promovido o acesso a quimiotecas baseadas em estruturas privilegiadas com estruturas heterocíclicas, recebendo atenção especial aquelas que pertencem às classes de compostos que possuem grande utilidade na química medicinal (VERMA & SARAF, 2008).

Na busca de novos agentes terapeuticamente ativos é necessário que várias etapas sejam cumpridas. Estas englobam desde o planejamento, a síntese e a elucidação estrutural de novos compostos bioativos, até o conhecimento das interações entre moléculas e receptores, além do estudo da relação estrutura química – atividade biológica (WU-PONG, ROJANASAKUL & ROBINSON, 1999).

Nas últimas duas décadas a arte da descoberta e do desenvolvimento de novas entidades químicas mudou drasticamente com a introdução de novos métodos em química analítica. A química analítica revolucionou a análise de compostos químicos e o estudo de processos biológicos. A cristalografia e a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) contribuem de maneira significativa para a pesquisa estrutural, revelando detalhes sobre a estrutura e a função de macromoléculas, tais como ácidos nucleicos e proteínas. A segunda revolução, desenvolvida em paralelo e que agora se tornou indispensável, relaciona-se com o uso de computadores no planejamento, descoberta, elucidação de processos químicos e biológicos através da estrutura tridimensional de moléculas. Associados aos métodos de modelagem molecular, os métodos estatísticos conhecidos como quimiométricos são amplamente usados em química analítica e também em processos quantitativos do planejamento molecular (MONTANARI, 2000).

As informações estruturais podem ser obtidas de métodos experimentais como cristalografia de raios-X e RMN multidimensional, mas estes métodos ainda são caros e são necessários longos períodos de estudo. Os aspectos teóricos da físico-química, utilizando simulações computacionais dos mecanismos moleculares, corroboram os experimentos e, em muitos casos, fornecem informações alternativas. Complementando a teoria formal e a experimentação direta, e, apoiando-se em inferências inerentes à biologia molecular e à biologia estrutural, as simulações computacionais de sistemas químicos e biológicos tornaram-se um fator principal na pesquisa moderna (MONTANARI, 2000).

Deste modo, com o advento desta nova era na Química Medicinal, agora a ciência consegue planejamento racional de novos fármacos a partir de relações estrutura-atividade biológica de forma sistemática, não mais ocorrendo a busca randômica ou o achado ocasional (“serendipity”) de novos fármacos como na Antiguidade e até em épocas recentes. Com o avanço das técnicas computacionais modernas e de modelagem molecular aplicadas à Química, há a possibilidade real de estabelecimento de relações estrutura-atividade quantitativas, colocando a Química Medicinal moderna como área estratégica para descoberta de novos fármacos com eficiência e rapidez. Todavia, se pode dizer, de modo simplista, que a Química Medicinal é o estudo racionalizado das propriedades biológicas e farmacológicas e das relações estrutura-atividade de fármacos (NOGUEIRA, MONTANARI e DONNICI, 2009).

4.2. Agentes antiinflamatórios não-esteroidais – AINEs

Dentre os medicamentos mais comumente utilizados como agentes terapêuticos estão os antiinflamatórios não-esteroidais (AINEs). Com frequência, são prescritos para dores músculo-esqueléticas e são frequentemente tomados sem prescrição para dores menores. Muitas dessas drogas possuem efeitos antiinflamatórios, analgésicos e antipiréticos. Na atualidade, já existem mais de 50 AINEs diferentes no mercado, porém nenhum deles é ideal no controle ou na modificação dos sinais e sintomas da inflamação. Praticamente todos os AINEs disponíveis no momento atual possuem efeitos indesejáveis significativos, particularmente nos indivíduos idosos (RANG, DALE & RITTER, 2003).

A partir da identificação do mecanismo de ação da aspirina (ácido acetilsalicílico) (Figura 1), através da inibição da síntese das prostaglandinas a partir do ácido araquidônico, foi proposto que todos os antiinflamatórios não esteróides atuavam inibindo a COX e foram explicadas as ações terapêuticas e efeitos colaterais do grupo (JOYCE, GIMBLETT & STEER, 2001; XIAOYU et al., 2003; SMITH & WILLIS, 1971; VANE, 1971; FRANCHIMONT, 2004; LUENGO, 2005).

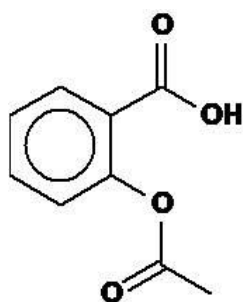


Figura 1: Aspirina

As prostaglandinas são lipídios derivados do ácido araquidônico através da reação das enzimas cicloxigenases 1 e 2 (COX-1 e COX-2) que atuam sobre o ácido araquidônico resultando em subprodutos que podem ser classificados em três principais grupos: as prostaglandinas, as lipoxigenases e os tromboxanos (SIMMONS, BOTTING & HLA, 2004) (Figura 2).

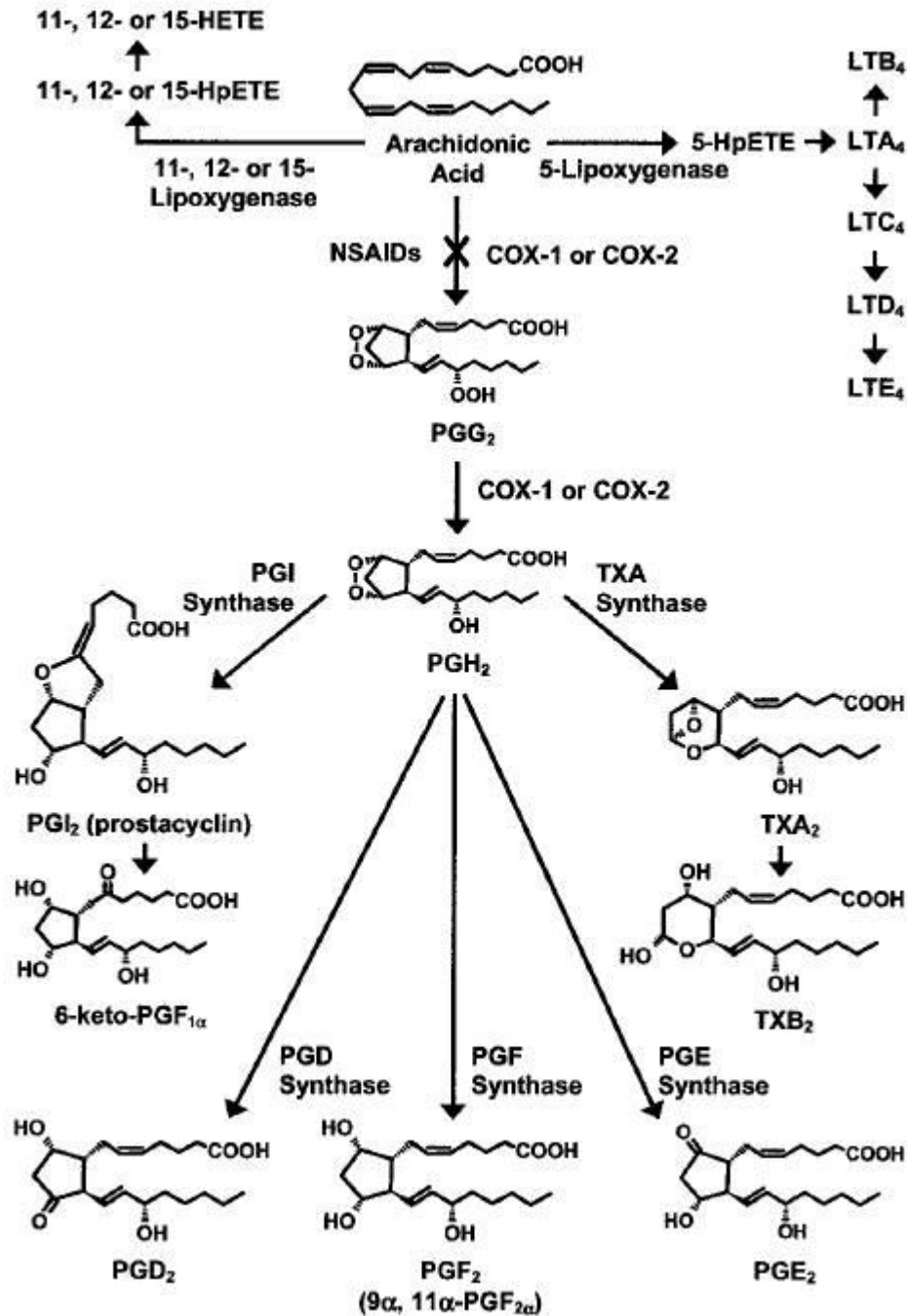


Figura 2: Síntese das prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos. (Extraído de SIMMONS, BOTTING & HLA, 2004)

Desde então a aspirina e outros AINEs têm sido empregados extensivamente na clínica devido a seus efeitos antiinflamatórios e analgésicos. O mecanismo de ação dos AINEs é bastante conhecido e consiste da inibição da enzima cicloxigenase (COX) que medeia a biossíntese de prostaglandinas principalmente a prostaglandina PGE₂ e a prostaciclina PGI₂ (MONCADA, FERREIRA & VANE, 1973; AL-SWAYEH et al., 2000).

Recentes estudos têm mostrado que a aspirina e seu metabólito salicilato atuam sobre o controle transcricional das enzimas COX-2 e óxido nítrico induzível (iNOS) prevenindo de desordens inflamatórias, neoplásicas e neurodegenerativas. Possui também atividade anti-trombótica que está relacionada à inibição da atividade da COX-1 plaquetária que atua sobre o tromboxano A₂ (TXA₂) prevenindo de doença coronariana e de infarto do miocárdio (Figura 3) (WU, 2005).

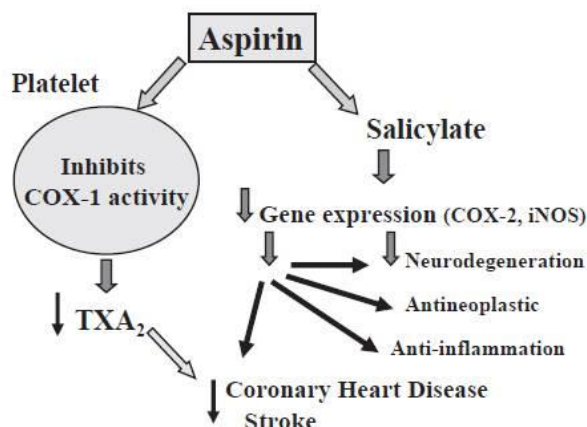


Figura 3: Principais efeitos da aspirina e dos salicilatos (Extraído de WU, 2005).

A partir desses achados, os diferentes laboratórios farmacêuticos vêm lançando no mercado uma grande variedade de antiinflamatórios não-esteroidais a partir de protótipos que foram bem sucedidos na prática terapêutica, com objetivo de melhorar a eficácia e diminuir a toxicidade. Nos últimos 20 anos, vários grupos comprovaram a existência de isoformas da COX o que deu origem ao conceito de formas constitutiva (COX-1) e induzida (COX-2) (ROSEN et al., 1989; LUENGO, 2005).

Posteriormente uma variedade de mRNA da COX-1 foi isolado do córtex cerebral canino e do tecido cardíaco sendo chamada de COX-3. Em seguida foi detectada sua expressão no córtex cerebral humano (SIMMONS et al., 1999; BOTTING, 2000; WILLOUGHBY, MOORE & COLVILLE-NASH, 2000; CHANDRASEKHARAN et al., 2002; SERHAN et al., 2002; KAM & SO, 2009).

A partir daí foi sugerido que a COX-3 poderia ser imunologicamente relacionada à COX-2, pois ambas demonstraram-se sensíveis à ação do paracetamol, mas pouco sensíveis à ação de outros AINEs. Foi sugerido ainda que a COX-3 pode agir separadamente da COX-1 e COX-2 na fase de resolução em respostas inflamatórias agudas (SIMMONS et al., 1999;

WILLOUGHBY, MOORE & COLVILLE-NASH, 2000; SERHAN et al., 2002; KAM & SO, 2009).

De suas três isoformas, destacam-se a COX-1 e COX-2 sendo que última está envolvida no processo inflamatório e proliferação celular. A COX-1 é constitutiva sendo expressa em muitos tecidos e é de reconhecida importância na homeostase tecidual, bem como na proteção da mucosa gastrointestinal. Em contrapartida, a COX-2 é uma enzima predominantemente induzida que é expressa em sua maior parte em células e em tecidos inflamados.

A enzima induzida COX-3 pode desempenhar um papel em períodos de restabelecimento do tecido no processo inflamatório crônico. Pode ainda estar envolvida no desenvolvimento da doença de Alzheimer sendo encontrada em altos níveis no cérebro de pacientes com essa doença. Pacientes que fizeram uso de AINES por um longo período tiveram uma menor incidência no desenvolvimento da doença de Alzheimer. A COX-3 pode ainda estar implicada no desenvolvimento de câncer (ovariano, cervical, de cólon e leucemia) (STEWART et al., 1997; DORE et al., 1998; VOGIAGIS et al., 2001; SHAFTEL et al., 2003; CUI et al., 2004; ROCCA et al., 2004; KAM & SO, 2009).

Concluiu-se então que a COX-3 é menos potente e produz menos prostaglandina E2 que as outras enzimas. Conseqüentemente, os AINEs exibem diferentes potenciais de inibição para a COX-3 (SIMMONS, WAGNER & WESTOVER, 2000; OUELLET & PERCIVAL, 2001; CHANDRASEKHARAN et al., 2002; KAM & SO, 2009).

Sendo a inibição da COX-1 responsável por toxicidade, especialmente no trato gastrointestinal, a inibição de COX-2 tornou-se justificada visto que tal fato forneceu o subsídio para o desenvolvimento de fármacos inibidores seletivos da COX-2, que possuíam a mesma eficácia antiinflamatória que os tradicionais AINEs, mas que minimizavam o risco de efeitos colaterais indesejáveis (ROWLAND et al., 2007).

Na segunda metade do século XX, vários outros antiinflamatórios não-esteroidais (AINEs) foram desenhados como a antipirina, fenacetina, fenilbutazona, e mais recentemente, os fenamatos (ácido mefenâmico, ácido meclofenâmico), a indometacina, o naproxeno e a família dos oxicams (piroxicam, tenoxicam, meloxicam). Apesar da diversidade das estruturas químicas, estas drogas apresentam as mesmas propriedades terapêuticas. Os primeiros fármacos de inibição seletiva de COX-2 como o meloxicam e nimesulida (Figura 4) surgiram na década de 1980. Needleman e seu grupo do Monsanto/Searle sintetizaram inibidores que são 1.000 vezes mais potentes contra COX-2 do que contra a COX-1 (RAZ, WYCHE & NEEDLEMAN, 1989; FU et al., 1990; LUENGO, 2005).

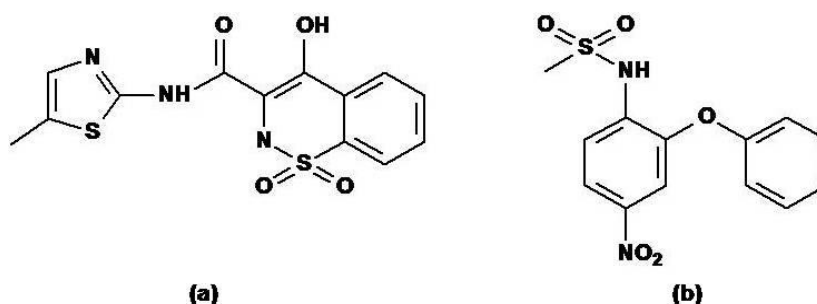


Figura 4: Meloxicam (a) e Nimesulida (b)

Entretanto, embora melhor tolerado pelo trato gastrointestinal, o seu uso foi associado ao risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares similares às causadas por AINEs não-seletivas (ROWLAND et al., 2007).

Estudos clínicos sugeriram que os inibidores seletivos da COX-2 poderiam causar efeitos colaterais típicos tais como injúrias gastrintestinais, pressão sanguínea sistêmica aumentada e hipersensibilidade. Além disso, foi estudada a segurança cardiovascular de alguns inibidores seletivos da COX-2 tais como Vioxx® (Rofecoxib) ou Bextra® (Valdecoxib) (Figura 5), que acabaram por serem retirados do mercado. Desse modo, os inibidores seletivos da COX-2 não representam uma resposta completa à necessidade de se utilizar fármacos mais seguros e eficazes na terapia das doenças inflamatórias (ARAICO et al., 2007).

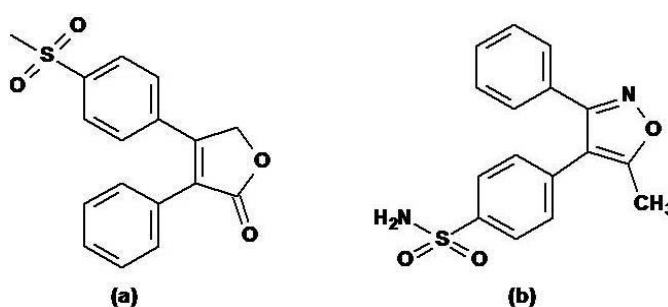


Figura 5: Vioxx® (Rofecoxib) (a) e Bextra® (Valdecoxib) (b)

Com a descoberta da via da 5-lipoxigenase (5-LO) percebeu-se que COX-2 e 5-LO têm funções convergentes não somente na inflamação, mas também na proliferação celular e angiogênese (ROWLAND et al., 2007).

Considerando esse fato, há evidências de que COX-2 e 5-LO são co-expressas em muitos distúrbios inflamatórios e neoplásicos, e que inibidores da COX-2 bem como os inibidores 5-LO como o Zileuton (Figura 6) têm efeitos benéficos em doenças inflamatórias.

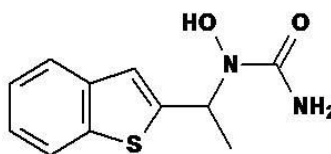


Figura 6: Zileuton

Desta maneira, as várias famílias estruturais de inibidores Lox/Cox, chamados inibidores duais (Figura 7) foram projetadas e diversos compostos estão atualmente em estudos pré-clínicos ou clínicos. Em face desses acontecimentos, a obtenção de novos fármacos para o tratamento da inflamação tornou-se imprescindível (ARAICO et al., 2007).

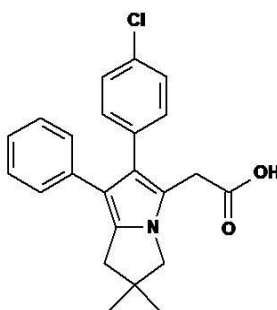


Figura 7: Licofelone

4.3. Tiazolidinadionas: uma importante classe de moléculas

As primeiras moléculas da classe das tiazolidinadionas foram desenvolvidas a partir de análogos do ácido clofibrico como antioxidante, no início dos anos 80, no Japão (KAWAMATSU et al., 1980; YOSHIOKA et al., 1989) sem haver conhecimentos prévios de quais eram os seus alvos moleculares.

Em 1997, a *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou a troglitazona (Rezulin®) (Figura 8), a primeira tiazolidinadiona avaliada na clínica nos Estados Unidos e Japão. Ela foi responsável por alguns casos de necroses hepática maciça, seguida de óbito (WATKINS & WHITCOMB, 1998; GITLIN et al., 1998) tendo sido retirada do mercado norte-americano, em março de 2000.

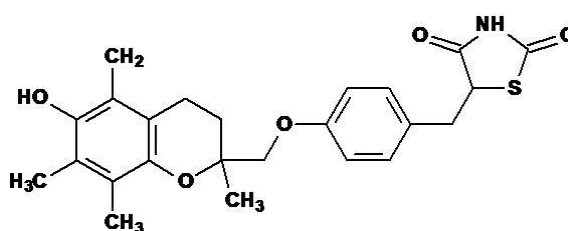


Figura 8: Troglitazona

Os sérios efeitos colaterais ocorridos com a troglitazona e sua interdição em alguns países motivaram os pesquisadores a desenvolver novas glitazonas. Assim, em 1999, a FDA aprovou dois novos fármacos da classe das TZDs: o maleato de rosiglitazona (Avandia®) e o hidrocloreto de pioglitazona (Actos®) (Figura 9). Atualmente, rosiglitazona e pioglitazona são os dois membros da classe das TZDs usados na prática clínica em vários países incluindo os Estados Unidos, Japão, Brasil e países da Europa.

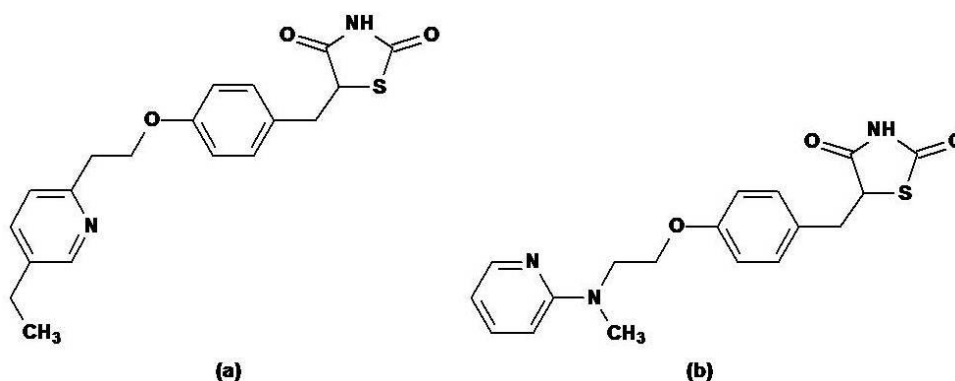


Figura 9: Rosiglitazona (a) e Pioglitazona (b)

Desde então, os derivados tiazolidinadiônicos (TDZs) tem sido largamente estudados devido a seu profundo envolvimento na regulação de diferentes processos fisiológicos. Desse modo descobriu-se que as TZDs também possuem atividades imuno-estimulatórias exercendo alguns efeitos antiinflamatórios tais como a inibição da produção de citocinas inflamatórias e da expressão da síntese do óxido nítrico induzível em monócitos/macrófagos (JIANG, TING & SEED, 1998; RICOTE et al., 1998; ALBUQUERQUE, et al., 1999; MORETTI et al., 2001; KUREBAYASHI et al., 2005; HOSSAIN & BHATTACHARYA, 2007).

Além disso, tem sido observado que as TZDs inibem o crescimento de muitas linhagens de células tumorais como cólon, pulmão e próstata tanto *in vivo* quanto *in vitro* (SARRAF et al., 1998; ELSTNER et al., 1998; KUBOTA et al., 1998) e podem ainda inibir a angiogênese (PANIGRAHY et al., 2002). As TZDs também são potenciais agentes quimiopreventivos do câncer principalmente de cólon, pulmão, língua e gástrico (PANIGRAHY et al., 2002; HOSSAIN & BHATTACHARYA, 2007). Alguns derivados tiazolidínicos se mostraram capazes de atuar na atividade inibitória de peroxidação lipídica mediada por Cu^{2+} (JEONG et al., 2004) e de inibir os níveis séricos de ALT, AST bem como de γ -GTP significativamente durante tratamento em pacientes com diabetes tipo 2 (ONO et al., 2005; HOSSAIN & BHATTACHARYA, 2007).

4.4. O processo inflamatório

A inflamação pode ser definida como uma resposta biológica defensiva de tecidos vasculares que induz profundas adaptações fisiológicas ao organismo na tentativa de limitar e/ou reverter o dano tecidual induzido por agentes irritantes biológicos, químicos ou mecânicos (CUZZOCREA, 2005; PAULINO et al., 2009). É considerado um interessante aporte de defesa, uma vez que tem como objetivos localizar a região agredida, eliminar o agente agressor e remover os tecidos degenerados, preparando a área lesada para reparação (JÚNIOR & DANTAS, 2000).

A primeira etapa que ocorre no processo inflamatório é a tentativa de remover o estímulo flogístico do organismo, mecanismo que compreende uma complexa série de eventos que incluem dilatação de arteríolas, vênulas e capilares, aumento da permeabilidade vascular, exsudação de fluidos e proteínas plasmáticas bem como, migração leucocitária para a área inflamada (CUZZOCREA, 2005; PAULINO et al., 2009).

Uma função crítica da inflamação é o encaminhamento de leucócitos à lesão e ativação posterior para que desempenhem suas funções normais de defesa do hospedeiro. Os leucócitos ingerem os agentes agressores, destroem bactérias e outros microorganismos e eliminam tecido necrótico e substâncias estranhas (RANG, DALE & RITTER, 2003; KUMAR, ABBAS & FAUSTO, 2005).

O acúmulo de leucócitos, principalmente neutrófilos e células derivadas de monócitos é a característica mais importante da reação inflamatória, vindo a constituir-se no verdadeiro elemento do processo. Os leucócitos incorporam e degradam bactérias, complexos imunes e restos de células necróticas, e as suas enzimas lisossomais contribuem de outras formas com a resposta defensiva do hospedeiro. Entretanto, leucócitos podem prolongar a inflamação e aumentar o dano tecidual pela liberação de enzimas, mediadores químicos e radicais livres, que são tóxicos para os tecidos (RANG, DALE & RITTER, 2003)

A inflamação é caracterizada pela imediata infiltração de um sítio específico na lesão pelos leucócitos polimorfonucleares (PMNs), seguido por monócitos e finalmente linfócitos. Nos últimos anos, tem-se obtido substancial discernimento sobre a importância das moléculas de adesão e mediadores nos seguintes processos que resultam no recrutamento de PMNs aos sítios específicos da inflamação como mostrado de forma didática a seguir e ilustrado na Figura 10:

- 1) **Marginação, Captura e Rolamento:** aumento do número de neutrófilos na periferia vascular, devido às mudanças das condições hemodinâmicas, como a diminuição da velocidade do fluxo sanguíneo (estase), seguida de ligação fraca dos leucócitos ao endotélio, por meio das moléculas de adesão (E-selectina, P-selectina). Esta ação é estimulada pelo $\text{TNF}\alpha$ e IL-1.
- 2) **Ativação e Adesão:** ligação de alta afinidade estabelecida entre outras moléculas de adesão, as integrinas, e seus ligantes (ICAM-1, VCAM-1), sob o também estímulo do $\text{TNF}\alpha$ e IL-1.
- 3) **Diapedese e Quimiotaxia:** migração dos neutrófilos para fora do vaso através dos espaços entre as células endoteliais nas vênulas pós-capilares até o local em que se encontra o patógeno invasor, atraídos pelas quimiotaxinas – C5a, LTB₄, IL-8, dentre outras.
- 4) **Fagocitose e degradação intracelular:** os neutrófilos destroem os microrganismos através dos produtos tóxicos do oxigênio. A seguir, digerem enzimaticamente os mesmos (RANG, DALE & RITTER, 2003)

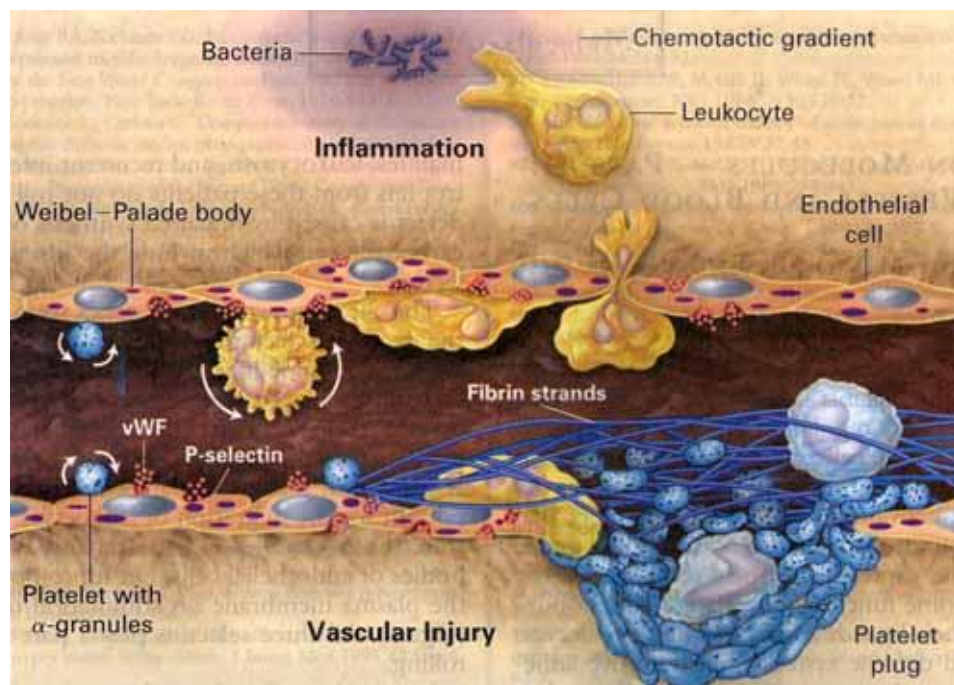


Figura 10: Principais manifestações locais da inflamação aguda (FRENETTE & WAGNER, 1996).

PMNs ativados desempenham um papel crucial na destruição de antígenos estranhos e no esgotamento e remodelação do tecido injuriado. As complexas interações endotélio-leucócito devem-se às glicoproteínas de adesão (integrinas, membros da superfamília de imunoglobulinas e selectinas). O rolamento é o primeiro passo no processo de interação

endotélio-leucócito e facilita a ativação e aderência dos PMNs. A firme adesão dos PMNs ao endotélio, contudo é um fenômeno complexo que também envolve outras moléculas de adesão. De fato, as moléculas de adesão endoteliais são consideradas fundamentais na localização e desenvolvimento de uma reação inflamatória. As moléculas de adesão intercelular (ICAM-1) são normalmente expressadas em baixos níveis basais, mas sua expressão pode ser aumentada por vários mediadores inflamatórios como a IL-1 e o TNF- α . (CUZZOCREA, 2005)

Na continuidade do processo, ocorrem no tecido lesado a infiltração de células circulantes (neutrófilos e monócitos) e a migração de células das áreas adjacentes como células epiteliais, queratinócitos e fibroblastos. Estas últimas, em cooperação com as células locais, anteriormente ativadas, serão as protagonistas da fibroplasia (produção de colágeno pelos fibroblastos) e deposição de matriz extracelular, angiogênese (formação de novos vasos), cicatrização e re-epitelização da região da ferida (BALBINO, PEREIRA & CURI, 2005).

Desse modo, o processo inflamatório diminui gradativamente à medida que o estímulo vai deixando de existir. Além disso, os mediadores que foram produzidos mediante um surto rápido provocado pelo agente agressor, vão diminuindo, pois não estão mais sendo produzidos e porque vão sendo degradados. Conforme a inflamação se desenvolve, os próprios mediadores atuam ativamente para terminar a reação conduzindo ao reparo do tecido lesado (KUMAR, ABBAS & FAUSTO, 2005).

Clark (1993) dividiu o reparo em três fases: (1) inflamação, (2) formação de tecido de granulação com deposição de matriz extracelular e (3) remodelação. Segundo ele, estas não são mutuamente excludentes, mas sobrepostas no tempo. O reparo completo de tecidos resulta de alternâncias sucessivas de reações anabólicas e catabólicas que têm os leucócitos como um de seus mais importantes protagonistas. Essas células, além de suas conhecidas atividades imunes, estão intimamente envolvidas com as reações catabólicas de degradação de tecidos pela produção de proteases e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e também com as reações anabólicas de formação de tecidos pela produção de fatores de crescimento responsáveis pela recomposição da celularidade regional ou restabelecimento da sua homeostasia pela formação da cicatriz (BALBINO, PEREIRA & CURI, 2005).

4.4.1. Infiltração de neutrófilos

Durante a infiltração de neutrófilos, a expressão das proteínas de adesão na membrana das células endoteliais é de extrema importância para a transmigração leucocitária para que a força de arraste da circulação no vaso não impeça os neutrófilos de transmigrarem para o exterior do vaso. (BALBINO, PEREIRA & CURI, 2005).

Uma vez que os neutrófilos são as células mais abundantes no sangue, um número significativo deles é passivamente coletado pelo trombo provisório durante o rompimento dos vasos. Após este extravasamento passivo, os neutrófilos migram para a superfície da ferida para formar uma barreira contra a invasão de microorganismos e promover o recrutamento ativo de mais neutrófilos a partir dos vasos adjacentes não lesados (FOXMAN et al., 1997; ENGELHARD et al., 1998). Ao final de um dia após a lesão eles constituirão 50% das células migradas ao local (ENGELHARD et al., 1998). Além dos mediadores liberados durante a agregação plaquetária, o recrutamento de mais neutrófilos é influenciado também por quimiocinas produzidas pelos neutrófilos coletados pelo trombo provisório. Por influência dos mediadores liberados localmente, as células associadas aos vasos (células endoteliais e periócitos) são ativadas e passam a secretar, dentre outros mediadores, o oncogene regulador do crescimento (GRO- α) que é um promotor do processo de diapedese de neutrófilos conhecido por sua ação quimiotática (GOEBELER et al., 1998). A quimiotaxia de neutrófilos é ainda sustentada nestes primeiros momentos pela proteína epitelial ativadora de neutrófilos (ENA-78) expressadas nas células mononucleares presentes na matriz provisória. O reconhecimento das três quimiocinas NAP-2 (proteína ativadora de neutrófilos), GRO- α e ENA-78 pelos neutrófilos se dá pela via do receptor de quimiocinas tipo 2 (CXCR2) presente na membrana celular (BRANDT et al., 2000; MURDOCH & FINN, 2000; ROSSI & ZLOTNIK, 2000). O influxo de neutrófilos, nestes primeiros momentos, provavelmente também já estará sendo mediado por leucotrienos liberados das células ativadas do trombo provisório.

A primeira contribuição de mediadores circulantes para a formação do gradiente quimiotático vem de proteínas plasmáticas como o Fator de Hageman e o cininogênio de alto peso molecular. Da interação entre estas duas moléculas é gerada a bradicinina que, além de propriedades vasoativas e nociceptivas (geradoras de dor), é também indutora da metabolização do ácido araquidônico para eicosanóides. As moléculas desta família possuem importância comprovada em vários fenômenos inflamatórios e dentre eles a atividade quimiotática. Outros produtos oriundos da circulação que participam da formação do gradiente são as frações livres do Complemento, principalmente a C5a. Além da ação

quimiotática direta desta molécula, a sua ligação a receptores localizados na superfície dos mastócitos, ativa-os para a produção de eicosanóides e liberação do conteúdo de seus grânulos, composto por várias moléculas com atividades pró-inflamatórias. A última contribuição para a formação do gradiente quimiotático nestes momentos iniciais da resposta inflamatória são os produtos da fibrinólise. Durante o processo de formação do trombo definitivo, ocorre a proteólise da rede de fibrina. Os produtos de sua degradação são fortes agentes quimiotáticos para leucócitos (HUYBRECHTS-GODIN et al., 1979). À medida que ocorrem as primeiras migrações de células inflamatórias para o local, o gradiente é retroalimentado positivamente. As células que migram em resposta ao gradiente químico (neutrófilos, monócitos e fibroblastos), também, são em sua maioria produtoras de substâncias quimiotáticas com papel destacado para os eicosanóides e, principalmente, para as quimiocinas (BALBINO, PEREIRA & CURI, 2005).

A produção e liberação dos mediadores são isoladamente insuficientes para o recrutamento de neutrófilos a partir da circulação. A força de arraste da corrente circulatória impede seu contato com as paredes dos vasos. Por ação dos eicosanóides (leucotrienos, tromboxanos e prostaglandinas), citocinas (principalmente IL-1 e TNF α) produzidas por macrófagos, mastócitos, células estromais e outros mediadores, as células endoteliais dos vasos não lesados são induzidas a expressarem em sua membrana proteínas de adesão para leucócitos (GERSZTEN et al., 1999). A expressão de integrinas ocorre por externalização das mesmas via corpúsculo de Weibel-Palade e/ou pela síntese de novas moléculas de integrinas, especialmente quando estão presentes IL-1 e TNF α . Estas, em situações normais encontram-se internalizadas e, após a influência destes mediadores, são expressas na região de sua membrana voltada para o leito vascular. Também por ação desses mediadores inflamatórios, os capilares de vasos não lesados se dilatam. Isto torna lenta a circulação sanguínea e diminui a sua força de arraste permitindo, assim, a marginação dos leucócitos e sua ligação às moléculas de adesão expressas nas células endoteliais. Na dependência do estímulo, outros tipos celulares podem predominar, desde eosinófilos (reações de hipersensibilidade) até macrófagos (BALBINO, PEREIRA & CURI, 2005).

4.4.2. Mediadores químicos da resposta inflamatória

Na regulação dos eventos relacionados tanto à inicialização quanto à resolução do processo inflamatório estão envolvidos mediadores derivados da circulação (as frações livres do complemento, fatores de coagulação, moléculas do sistema fibrinolítico e hormônios como os esteroidais, tireoideanos e a insulina), cininas (histamina, bradicinina e serotonina), mediadores peptídicos (citocinas, fatores de crescimento, neuropeptídeos e estruturas da matriz extracelular) e mediadores lipídicos (eicosanóides e PAF). Observa-se entre eles uma grande diversidade de natureza química, fontes produtoras e forma de influência sobre as células. A concentração elevada de alguns mediadores da fase de inflamação até a de remodelação demonstra a existência de interdependência destes para um mesmo evento. A redundância de efeitos também pode ser observada em outras situações. Por vezes, a ausência de um determinado mediador é compensada pelo aumento das concentrações de outro com atividade semelhante. Por outro lado, alguns mediadores são críticos para um determinado evento e sua ausência termina por comprometer seriamente o reparo de tecidos. Assim, para melhor entendimento do processo como um todo, torna-se necessária a explanação das conhecidas influências de cada um deles em situações experimentais (BALBINO, PEREIRA & CURI, 2005).

As principais citocinas envolvidas no retardo da resposta inflamatória são: IL-1 (monócitos/macrófagos, células endoteliais, linfócitos T, queratinócitos, fibroblastos, células da glia, astrócitos e neutrófilos), TNF α (monócitos/macrófagos, linfócitos T e B, fibroblastos, eosinófilos e astrócitos), INF γ (linfócitos T e B). Essas citocinas induzem respostas inflamatórias e imunes, dentre as quais a indução da expressão das moléculas de adesão (como a ICAM-1), o que facilita a adesão dos leucócitos para a realização da diapedese e a produção de óxido nítrico (NO) ao atuarem sobre os receptores das células endoteliais. Isto ocorre devido à ativação do fator de transcrição NF-kB (Nuclear factor Kappa B) (ZHANG, 2008).

A expressão das proteínas de adesão é, neste momento, o elemento mais importante para a migração de neutrófilos. Mesmo estando formado o gradiente químico de moléculas quimioatraentes, se estas não estiverem expressas na membrana das células endoteliais, a força de arraste da circulação não permite a adesão e transmigração leucocitária para o exterior do vaso (BALBINO, PEREIRA & CURI, 2005).

4.5. Os mecanismos da dor

A dor é um dos problemas mais penetrantes na nossa sociedade e tem altos preços sociais devido ao prejuízo significativo ou incapacitação permanente de milhões de pessoas. A dor pode ser definida como uma percepção desagradável de uma sensação nociceptiva. Este conceito implica dois componentes, a nocicepção e a percepção. A percepção da dor é uma função integrativa modulada por condições emocionais, motivacionais, psicológicas e pelo histórico individual. Geralmente a dor se inicia em áreas periféricas como pele, órgãos internos ou qualquer região fora do sistema nervoso central, isto é, fora do cérebro e da medula espinhal (HANSSON, 2005). A nocicepção ou sensação nociceptiva resultam da ativação de subpopulações de neurônios sensoriais primários específicos que transmitem a informação nociceptiva à medula espinhal de onde é redirecionada a níveis supra-espinhais (VERRI et al., 2006).

As fibras nociceptivas possuem duas extremidades: uma delas, a que detecta sensações, se projeta para regiões periféricas onde inerva pequenas porções de tecido; a segunda extremidade estende-se até o interior do corno medular espinhal. O corpo celular dos nociceptores fica entre esses dois segmentos, em uma estrutura fora da medula espinhal. Quando o agente nocivo é detectado pela extremidade periférica, na pele ou algum outro órgão, um impulso elétrico é disparado e propagado por toda a fibra nervosa até atingir uma região da medula espinhal (BASBAUM & JULIUS, 2006)

Nos danos de tecido e inflamação, os nociceptores são sensibilizados de tal modo que a estimulação leve ou ineficaz conduz a uma sensação dolorosa. Normalmente em seres humanos, esta sensibilização sensorial primária de nociceptores é chamada de hiperalgesia (uma resposta aumentada a um estímulo que é normalmente doloroso) ou o alodinia (dor devido a um estímulo que normalmente não provoca dor). Infelizmente, esses termos são não indiscriminadamente usados para descrever a redução de resposta de limiar nociceptivo em animais experimentais (VERRI et al., 2006).

Os diferentes mediadores nociceptivos como endotelina, substância P, prostaglandina e aminas simpáticas sensibilizam diretamente os nociceptores. No caso desses dois últimos grupos de mediadores, eles satisfazem tanto critérios experimentais como clínicos para agentes que sensibilizam diretamente nociceptores. A capacidade da prostaglandina e aminas simpáticas para sensibilizar nociceptores foi mostrada no homem e em outros animais usando técnicas comportamentais e eletrofisiológicas. Esses mediadores, atuando preferencialmente na membrana neuronal metabotrópica dos receptores das fibras C e nociceptores silenciosos,

provocam a ativação de vias de segundos-mensageiro como AMPc, proteína kinase (PKA) e proteína kinase C (PKC) (VERRI et al., 2006).

A subsequente fosforilação do canal de sódio dependente de voltagem, Nav1.8 e a inibição dos canais de potássio dependentes de voltagem são responsáveis por abaixar o limiar nociceptor e aumentar a excitabilidade de membrana neuronal. Além disso, a participação de canais de sódio Nav1.7 na hipernocicepção inflamatória também foi demonstrada. Baseado na ação analgésica de drogas antiinflamatórias não-esteroidais (AINEs), que inibem a síntese da prostaglandina, é aceito atualmente que esses mediadores inflamatórios são os indutores principais da dor inflamatória (VERRI et al., 2006).

A principal estratégia terapêutica utilizada na última década no combate à dor aguda e crônica é a combinação de analgésicos opióides e AINEs (SCHNITZER et al., 1999; GAMMAITONI et al., 2003; RAFFA, 2006). Contudo, por causa dos efeitos colaterais atribuídos ao uso prolongado de AINEs e a sua ineficácia em alguns casos, o controle da dor inflamatória é ainda o desafio principal. Como uma contribuição para a elucidação dos mecanismos celulares que estão envolvidos na dor inflamatória, foi demonstrado que os estímulos inflamatórios não induzem diretamente a liberação de prostaglandinas e aminas simpáticas. Em vez disso, uma cascata sequencial bem definida de citocinas/quimiocinas precede a liberação desses mediadores hipernociceptivos finais. Além disso, têm surgido evidências que esta cascata de citocinas é modulada por uma liberação paralela de citocinas antiinflamatórias (VERRI et al., 2006).

4.6. PPAR γ : alvo terapêutico no tratamento da inflamação e da dor

Identificados em 1990 em ratos Sprague-Dawley (*Rattus norvegicus*) na última década os receptores ativados por proliferadores de peroxissomos (PPARs) tornaram-se alvos terapêuticos bastante pesquisados. Foram originalmente identificados por Issemann e Green e, assim, designados em virtude de serem receptores ativados por drogas que induzem a proliferação de peroxissomas (ISSEMAN & GREEN, 1990).

Os PPARs são proteínas transdutoras pertencentes à superfamília de receptores hormonais nucleares, juntamente com receptores de hormônios da tireóide, retinóides, hormônios esteróides e vitamina D1 (KOTA, HUANG & ROUFOGALIS, 2005). Ao contrário dos receptores de membrana plasmática, que ativam cascatas de segundos mensageiros, os receptores intracelulares (citoplasmáticos ou nucleares) são fatores de transcrição que exercem sua função regulatória diretamente no promotor de genes alvos.

O PPAR quando ativado regula a transcrição de genes responsivos à insulina, que controlam o metabolismo da glicose, de lipídios e de aminoácidos além de estar relacionado à síntese de uréia, diferenciação dos adipócitos, sensibilização à insulina, apoptose, diferenciação celular e inflamação. Tais propriedades sugerem que o PPAR pode funcionar como uma molécula chave envolvida em diversos distúrbios metabólicos.

Nos últimos anos, o PPAR também ganhou importância como regulador da inflamação e resposta imune, e abriu uma nova área de desenvolvimento de agentes terapêuticos utilizados no tratamento de doenças que conduzem à inflamação crônica, como a aterosclerose, resistência à insulina induzida pela obesidade e doenças neurodegenerativas (KERSTEN et al., 1999; CHAWLA et al., 1994; SPIEGELMAN, 1998; LOWELL, 1999; HSUEH, et al., 2001; GLASS & ROSENFELD, 2000; PANADERO et al., 2008; PAULINO et al., 2009).

Foram identificadas três isoformas: PPAR α , PPAR β (chamado também δ) e PPAR γ que apresentam distribuição tecidual distinta refletindo-se nas suas diferentes funções biológicas (BERGER, AKIYAMA e MEINKE, 2005; MICHALIK, 2006). A expressão de PPAR α é mais elevada em tecidos com um metabolismo ativo de ácidos graxos como o fígado, o rim, o coração, o músculo esquelético e o duodeno. Os demais PPAR se expressam em diferentes tipos de células vasculares e imunológicas como monócito, macrófagos, células endoteliais, células da musculatura lisa vascular linfócitos e células dendríticas (BERGER & MOLLER, 2002; WILLSON et al., 2000; FU et al., 2003; PANADERO et al., 2008; FEHRENBACHER et al., 2009).

Todas as três isoformas de PPARs possuem estrutura e características semelhantes, embora variem em especificidade, distribuição de tecido e conseqüentemente em propósitos biológicos diferentes. Quatro domínios funcionais principais foram identificados, A/B, C, D e E/F. O domínio A/B localizado na região N-terminal, é pouco conservado entre as três isoformas de PPARs e contém uma função de transativação independente de ligante (AF-1) (WERMAN et al., 1997). O estado de fosforilação deste domínio contribui para a modulação da atividade do PPAR α e γ (SHALEV et al., 1996; ZHANG et al., 1996; ADAMS et al., 1997). O domínio central (domínio C) é altamente conservado e contém a região do receptor que se liga ao DNA, sendo também conhecido como domínio de ligação ao DNA (DBD – “DNA binding domain”). Este domínio apresenta dois complexos denominados “zinc finger”, ou seja, dois arranjos protéicos constituídos de uma α -hélice e uma folha β -pregueada, mantidas unidas por um íon zinco na região central. Esta estrutura confere ao receptor uma maior estabilidade de dobramento, para que este se ajuste na fenda maior da dupla hélice do DNA e forme associações firmes com as regiões regulatórias dos genes-alvos

(SCHOONJANS, STAELS & AUWERX, 1996; KLEWER et al., 1992). O domínio D é um local de ancoragem para cofatores. O domínio E/F ou LBD é a porção do receptor que se liga ao ligante/ativador, sendo responsável pela função de transativação dependente de ligante (AF-2), além de facilitar a heterodimerização do PPAR com o receptor retinóide X (RXR) (SCHOONJANS, STAELS & AUWERX, 1996). O heterodímero resultante se liga aos PPREs (elemento responsivo ao PPAR) que são seqüências repetidas diretas de hexanucleotídeos, separadas por uma base (DR1) e localizadas na região regulatória (promotor) dos genes que estão sob seu controle transcricional (GEARING et al., 1993).

Em estudos recentes foram identificadas proteínas co-repressoras e co-ativadoras que interagem com os PPARs, desempenhando papel importante na atividade transcricional destes receptores. A interação dos PPARs com os ligantes gera alteração conformacional do receptor, que permite o recrutamento de co-ativadores (SRC-1, CBP/P300) e a liberação co-repressores (NCoR) (DOWELL et al., 1999; GLASS; ROSENFELD, 2000; DOWELL et al., 1999; HORLEIN et al., 1995). Diversas moléculas como prostaglandinas e vários compostos lipídicos constituem ligantes naturais dos receptores PPAR γ (YU et al., 1995; FORMAN, et al., 1995).

A isoforma PPAR γ medeia numerosas funções biológicas e sua significância clínica particular é sua propriedade de agir como sensor de lipídios. Sua ativação lidera a diferenciação de adipócitos e coordena a expressão gênica de enzimas que facilitam a captação e síntese de lipídios (LEHRKE & LAZAR, 2005). A sua função anormal está associada a numerosas doenças como o diabetes tipo 2. Além disso, agonistas sintéticos de PPAR γ da classe das tiazolidinadionas (TZDs) agem como sensibilizadores de insulina, embora o entendimento das propriedades na diminuição da glicose por parte dos ligantes de PPAR γ ainda requeira uma intensa investigação da área (MURPHY e HOLDER, 2000; STAELS & FRUCHART, 2005). TZDs como rosiglitazona (Avandia®) e pioglitazona (Actos®) representam uma importante farmacoterapia no tratamento da intolerância à glicose (MARTENS et al., 2002; FEHRENBACHER et al., 2009).

Percebeu-se que há um grande envolvimento do PPAR γ no processo inflamatório (PLUTZKY, 2003). Evidências experimentais sugerem que os agonistas de PPAR γ inibem a ativação de macrófagos bem como a produção de fator de necrose tumoral α (TNF- α), interleucinas (IL)-2, -6, -8, metaloproteinase de matriz (MMPs) e outros mediadores inflamatórios (GIANNINI, SERIO & GALLI, 2004). Evidências clínicas também indicam que o PPAR γ reduz os níveis de muitos marcadores inflamatórios como a proteína C-reativa, TNF- α , MMP-9, IL-6, IL-8 tanto em pacientes normais quanto em diabéticos (QAYYUM & ADOMAITYTE, 2006; GILDE, FRUCHART & STAELS, 2006). Tem sido demonstrado que

a rosiglitazona inibe a reperfusão isquêmica gástrica em modelos experimentais utilizando roedores ao reduzir a atividade das enzimas xantina oxidase, superóxido dismutase e glutathione peroxidase relacionadas ao estresse oxidativo (VILLEGAS et al., 2004). Os ligantes de PPAR γ aumentam a biodisponibilidade de NO endotelial, suprimindo a produção de superóxido através da NADPH oxidase e induzindo enzimas antioxidantes como Cu/Zn superóxido dismutase (HWANG et al., 2005; LIU et al., 2008; FEHRENBACHER et al., 2009)

Além de sua ação periférica, recentes estudos indicam que os agonistas de PPAR γ regulam a inflamação e que o PPAR γ é um potente alvo farmacológico em doenças neurodegenerativas, isquemia e lesão da medula espinhal (CULMAN et al., 2007). Estudos recentes indicam que a pioglitazona pode atravessar a barreira hemato-encefálica exercendo sua ação no sistema nervoso central (HENEKA et al., 2005) e pode reduzir a incidência de infarto em pacientes com diabetes tipo 2 (CULMAN et al., 2007). Tais estudos reforçam ainda mais que os agonistas de PPAR γ têm potencial atividade como agentes antiinflamatórios (TAYLOR et al., 2002; FEHRENBACHER et al., 2009).

5. Bibliografia

- ABBATE R, GORI AM, PINTO S, ATTANASIO M, PANICCIA R, COPPO M, CASTELLANI S, GIUSTI B, BODDI M, NERI SGG. Cyclooxygenase and lipoxygenase metabolite synthesis by polymorphonuclear neutrophils: in vitro effect of dipyrene. **Prostaglandins, Leukotrienes & Essential Fatty Acids**. 41: 89–93, 1990.
- ADAMS M, REGINATO MJ, SHAO D, LAZAR MA, CHATTERJEE VK. Transcriptional activation by peroxisome proliferator-activated receptor gamma is inhibited by phosphorylation at a consensus mitogen-activated protein kinase site. **The Journal of Biological Chemistry**. 272: 5128–5132, 1997.
- ALBUQUERQUE JFC, ROCHA FILHO JA, BRANDAO SSF, LIMA MCA, XIMENES EA, GALDINO SL, PITTA IR, CHANTEGREL J, PERRISSIN M, LUU-DUC C. Synthesis and antimicrobial activity of substituted imidazolidinediones and thioxoimidazolidinones. **Il Farmaco**. 54: 77–82, 1999.
- ARAICO A, TERCENIO MC, ALCARAZ MJ, DOMÍNGUEZ JN, LEÓN C, FERRÁNDIZ ML. Evaluation of the anti-inflammatory and analgesic activity of Me-UCH9, a dual cyclooxygenase-2/5-lipoxygenase inhibitor. **Life Sciences**. 80: 2108–2117, 2007.
- BALBINO CA, PEREIRA LM, CURI R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. 41: 27–51, 2005.
- BASBAUM AI, JULIUS D. Toward better pain control. **Scientific American**. 294: 60–67, 2006.
- BEIRITH A, SANTOS ARS, RODRIGUES ALS, CRECZYNSKI-PASA TB, CALIXTO JB. Spinal and supraspinal antinociceptive action of dipyrene in formalin, capsaicin and glutamate tests. Study of the mechanism of action. **European Journal of Pharmacology**. 345: 233–245, 1998.
- BERGER J, MOLLER DE. The mechanisms of action of PPARs. **Annual Review of Medicine**. 53: 409–435, 2002.
- BERGER JP, AKIYAMA TE, MEINKE PT. PPARs: therapeutic targets for metabolic disease. **Trends in Pharmacological Science**. 26: 244–251, 2005.
- BLANE GF. Blockade of bradykinin induced nociception in the rat as a test for analgesic drugs with particular reference to morphine antagonists. **Journal of Pharmacology**. 19: 367–376, 1967.
- BLUMBERG H, WOLF PS, DAYTON UB. Use of the writhing test for evaluating analgesic activity of narcotic antagonists. **Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine**. 118: 763–766, 1965.
- BOTTING RM. Mechanism of action of acetaminophen; is there a cyclooxygenase 3? **Clinical Infectious Diseases**. 31: 202–210, 2000.

- BRANDT E, PETERSON F, LUDWIG A, EHLERT JE, BOCK L, FALD HD. The beta-thromboglobulins and platelet factor 4: blood platelet derived CXC chemokines with divergent roles in early neutrophil regulation. **Journal of Leukocyte Biology**. 67: 471–478, 2000.
- CHANDRASEKHARAN NV, DAI H, ROOS KLT, EVANSON NK, TOMSIK J, ELTON TS, SIMMONS DL. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. **Proceedings of The National Academy of Science USA**. 99: 13926–13931, 2002.
- CHAWLA A, SCHWARZ EJ, DIMACULANGAN DD, LAZAR MA. Peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR γ): adipose predominant expression and induction early in adipocyte differentiation. **Endocrinology**. 135: 798–800, 1994.
- CODERRE TJ, VACARINO AL, MELZACK R. Central nervous system plasticity in the tonic pain response to subcutaneous formalin injection. **Brain Research**. 535: 155–158, 1990.
- COUTO JA. **Novos Compostos 5-(4-metil-sulfonil-benzilideno)-imidazolidínicos e tiazolidínicos: Síntese, Elucidação Estrutural e Atividade Antiinflamatória**. 2006. (Mestrado em Biotecnologia de Produtos Bioativos) Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brasil.
- CUI JG, KURODA H, CHANDRASEKHARAN NV, PELAEZ RP, SIMMONS DL, BAZAN NG, LUKIW WJ. Cyclooxygenase-3 gene expression in Alzheimer's hippocampus and in stressed human neural cells. **Neurochemical Research**. 29: 1731–1737, 2004.
- CULMAN J, ZHAO Y, GOHLKE P, HERDEGEN T. PPAR-gamma: therapeutic target for ischemic stroke. **Trends in Pharmacological Science**. 28: 244–249, 2007.
- CUZZOCREA S. Shock, inflammation and PARP. **Pharmacological Research**. 52: 72–82, 2005.
- DOWELL P; ISHMAEL JE, AVRAM D, PETERSON VJ, NEVRIVY DJ, LEID M. Identification of nuclear receptor corepressor as a peroxisome proliferator-activated receptor α interacting protein. **The Journal of Biological Chemistry**. 274: 15901–15907, 1999.
- ELSTNER E, MULLER C, KOSHIZUKA K, WILLIAMSON EA, PARK D, ASOU H, SHINTAKU P, SAID JW, HEBER D, KOEFFLER HP. Ligands for peroxisome proliferator-activated receptor gamma and retinoic acid receptor inhibit growth and induce apoptosis of human breast cancer cells in vitro and in BNX mice. **Proceedings of The National Academy of Sciences USA**. 95: 8806–8811, 1998.
- ENGELHARD E, TOKSOY A, GOOBELER M, DEBUS S, BRÜCKER EB, GILLITZER R. Chemokines IL-8, Groa, MCP-1, IP-10, and Mig are sequentially and differentially expressed during phasespecific infiltration of leucocyte subsets in human wound healing. **American Journal of Pathology**. 153: 1849–1860, 1998.

- ENGELHARDT G, HOMMA D, SCHLEGEL K, UTZMANN R, SCHNITZLER C. Antiinflammatory, analgesic, antipyretic and related properties of meloxicam, a new non-steroidal anti-inflammatory agent with favourable gastrointestinal tolerance. **Inflammation Research**. 44: 423–433, 1995.
- FEHRENBACHER JC, LOVERME J, CLARKE W, HARGREAVES KM, PIOMELLI D, TAYLOR BK. Rapid pain modulation with nuclear receptor ligands. **Brain Research Reviews**. 60: 114–124, 2009.
- FERRAZ AAB, FERRAZ EM. Sepsis Abdominal. **Programa de Atualização de Antibióticos em Cirurgia**. 3: 1–25, 2002.
- FORMAN BM, TONTONOS P, CHEN J, BRUN RP, SPIEGELMAN BM, EVANS. 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ - prostaglandin J2 is a ligand for the adipocyte determination factor PPAR γ . **Cell**. 83: 803–812, 1995.
- FOXMAN EF, CAMPBELL JJ, BUTCHER E. Multistep navigation and combinatorial control of leukocyte chemotaxis. **The Journal of Cell Biology**. 139: 1349–1360, 1997.
- FRANCHIMONT D. Overview of the actions of glucocorticoids on the immune response: a good model to characterize new pathways of immunosuppression for new treatment strategies. **Annals of The New York Academy of Science**. 1024: 124–37, 2004.
- FRENETTE PS, WAGNER DD. Adhesion molecules - Part II: Blood vessels and blood cells. **New England Journal of Medicine**. 335: 43–45, 1996.
- FU J, GAETANI S, OVEISI F, LO VERME J, SERRANO A, RODRIGUEZ DE FONSECA F, ROSENGARTH A, LUECKE H, DI GIACOMO B, TARZIA G, PIOMELLI D. Oleylethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR alpha. **Nature**. 425: 90–93, 2003.
- FU JY, MASFERRER JL, SEIBERT K, RAZ A, NEEDLEMAN P. The induction and suppression of prostaglandin H2 synthase (cyclooxygenase) in human monocytes. **The Journal of Biological Chemistry**. 265: 16737–16740, 1990.
- GAMMAITONI AR, GALER BS, LACOUTURE P, DOMINGOS J, SCHLAGHECK T. Effectiveness and safety of new oxycodone/acetaminophen formulations with reduced acetaminophen for the treatment of low back pain. **Pain Medicine**. 4: 21–30, 2003.
- GERSZTEN RE, GARCIA-ZEPEDA EA, LIM YC, YOSHIDA M, DING HA, GIMBRONE MA, LUSTER AD, LUSCINSKAS FW, ROSENZWEIG A. MCP-1 and IL-8 trigger firm adhesion of monocytes to vascular endothelium under flow conditions. **Nature**. 398: 718–723, 1999.
- GIANNINI S, SERIO M, GALLI A. Pleiotropic effects of thiazolidinediones: taking a look beyond antidiabetic activity. **Journal of Endocrinological Investigation**. 27: 982–991, 2004.

- GILDE AJ, FRUCHART JC, STAELS B. Peroxisome proliferator-activated receptors at the crossroads of obesity, diabetes, and cardiovascular disease. **Journal of The American College of Cardiology**. 48: 24–32, 2006.
- GITLIN N, JULIE NL, SPURR CL, LIM KN, JUARBE HM. Two cases of severe clinical and histological hepatotoxicity associated with troglitazone. **Annals of Internal Medicine**. 129: 36–38, 1998.
- GLASS CK, ROSENFELD, MG. The coregulator exchange in transcriptional functions of nuclear receptors. **Genes & Development**. 14: 121–41, 2000.
- GOEBELER M, YOSHIMURA T, TOKSOY A, RITTER U, BRÜCKER EB, GILLITZER, R. The chemokine repertoire of human dermal microvascular endothelial cells and its regulation by inflammatory cytokines. **Journal of Investigative Dermatology**. 108: 445–451, 1998.
- HAFFNER SM, GREENBERG AS, WESTON WM, CHEN H, WILLIAMS K, FREED MI. Effect of rosiglitazone treatment on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. **Circulation**. 106: 679–684, 2002.
- HANSSON PT Neuropathic pain: definition, epidemiology, classification, and diagnostic workup. In: Justins DM (ed.) Pain 2005 – an Updated Review. Seattle: **International Association for Study of Pain Press**. 91–95, 2005.
- HENEKA MT, SASTRE M, DUMITRESCU-OZIMEK L, HANKE A, DEWACHTER I, KUIPERI C, O'BANION K, KLOCKGETHER T, VAN LEUVEN F, LANDRETH GE. Acute treatment with the PPAR gamma agonist pioglitazone and ibuprofen reduces glial inflammation and Abeta1-42 levels in APPV717I transgenic mice. **Brain**. 128: 1442–1453, 2005.
- HOLE K, TJØLSEN A. The tail-flick and formalin tests in rodents: changes in skin temperature as a confounding factor. **Pain**. 53: 247–254, 1993.
- HOSSAIN SK, BHATTACHARYA S. Synthesis of O-prenylated and O-geranylated derivatives of 5-benzylidene-2,4-thiazolidinediones and evaluation of their free radical scavenging activity as well as effect on some phase II antioxidant/detoxifying enzymes. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. 17: 1149–1154, 2007.
- HSUEH WA, JACKSON S, LAW RE. Control of cardiovascular cell proliferation and migration by PPAR γ , a new approach to the macrovascular complications of diabetes. **Diabetes Care**. 24: 392–397, 2001.
- HUNSKAAR S, FASMER OB, HOLE K. The formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. **Journal of Neuroscience Methods**. 14: 69–76, 1985.
- HUNSKAAR S, HOLE K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**. 30: 103–104, 1987.

- HUYBRECHTS-GODIN G, HAUSER P, VAES G. Macrophage-fibroblast interaction in collagenase production and cartilage degradation. **Biochemical Journal**. 184: 643–650, 1979.
- HWANG J, KLEINHENZ DJ, LASSEGUE B, GRIENDLING KK, DIKALOV S, HART CM. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligands regulate endothelial membrane superoxide production. **American Journal of Physiology Cell Physiology**. 288: 899–905, 2005.
- ISSEMAN I, GREEN S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. **Nature**. 347: 645–650, 1990.
- IWATA Y, MIYAMOTO S, TAKAMURA M, YANAGISAWA H, KASUYA A. Interaction between peroxisome proliferators-activated receptor γ and its agonist: docking study of oximes having 5-benzyl-2,4-thiazolidinedione. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**. 19: 536–542, 2001.
- JEONG TS, KIM JR, KIM KS, CHO KH, BAE KH, LEE WS. Inhibitory effects of multi-substituted benzylidenethiazolidine-2,4-diones on LDL oxidation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. 12: 4017–4023, 2004.
- JIANG C, TING AT, SEED B. PPAR γ agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. **Nature**. 391: 82–86, 1998.
- JOYCE DA, GIMBLETT G, STEER JH. Targets of glucocorticoid action on TNF- α release by macrophages. **Inflammation Research**. 50, 337–340, 2001.
- JÚNIOR JFS, DANTAS CJS. Mecanismos celulares e moleculares da inflamação. **Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica**. 1: 5–12, 2000.
- KAM PCA, SO A. COX-3: Uncertainties and controversies. **Current Anaesthesia & Critical Care**. 20: 50–53, 2009.
- KAWAMATSU Y, SARAIE T, IMAMIYA E, NISHIKAWA K, HAMURO Y. Studies on antihyperlipidemic agents. I. Synthesis and hypolipidemic activities of phenoxyphenyl alkanolic acid derivatives. **Arzneimittel Forschung - Drug Research**. 30: 454–459, 1980.
- KERSTEN S, SEYDOUX J, PETERS JM, GONZALEZ FJ, DESVERGNE B, WHALI W. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha mediates the adaptive response to fasting. **The Journal of Clinical Investigation**. 103: 1489–1498, 1999.
- KIM JY, HWANG YP, KIM DH, HAN EH, CHUNG YC, ROH SH, JEONG HG. Inhibitory Effect of the Saponins Derived from Roots of *Platycodon grandiflorum* on Carrageenan-Induced Inflammation. **Bioscience, Biotechnology & Biochemistry**. 70: 858–864, 2006.
- KLIEWER SA, UMESONO K, NOONAN DJ, HEYMAN RA, EVANS RM. Convergence of 9-cis retinoic acid and peroxisome proliferator signalling pathways through heterodimer formation of their receptors. **Nature**. 358: 771–774, 1992.

- KOSTER R, ANDERSON M, DE BEER EJ. Acetic acid for analgesic screening. **Federation Proceedings**. 18: 412–416, 1959.
- KOTA BP, HUANG TH, ROUFOGALIS BD. An overview on biological mechanisms of PPARs. **Pharmacological Research**. 51: 85–94, 2005.
- KUBOTA T, KOSHIZUKA K, WILLIAMSON EA, ASOU H, SAID JW, HOLDEN S, MIYOSHI I, KOEFFLER HP. Ligand for peroxisome proliferator-activated receptor γ (troglitazone) has potent antitumor effect against human prostate cancer both in vitro and in vivo. **Cancer Research**. 58: 3344–3352, 1998.
- KUMAR V, ABBAS AK, FAUSTO N. **Robbins e Contran Patologia – Bases Patológicas das Doenças**. 7ª Edição. Editora Elsevier. Rio de Janeiro. 2005.
- KUREBAYASHI S, XUA X, ISHII S, SHIRAISHI M, KOUHARA H, KASAYAMA S. A novel thiazolidinedione MCC-555 down-regulates tumor necrosis factor- α -induced expression of vascular cell adhesion molecule-1 in vascular endothelial cells. **Atherosclerosis**. 182: 71–77, 2005.
- LEHMANN JM, MOORE LB, SMITH-OLIVER TA, WILKISON WO, WILLSON TM, KIEWER SA. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ). **The Journal of Biological Chemistry**. 270: 12953–12956, 1995.
- LEHRKE M, LAZAR MA. The many faces of PPARgamma. **Cell**. 123: 993–999, 2005.
- LIU T, KORANTZOPOULOS P, LI G, LI J. The potential role of thiazolidinediones in atrial fibrillation. **International Journal of Cardiology**. 128: 129–130, 2008.
- LORENZETTI BB, FERREIRA SH. Mode of analgesic action of dipyrone : direct antagonism of inflammatory hyperalgesia. **European Journal Of Pharmacology**. 114: 375–381, 1985.
- LOWELL BB. PPARgamma: an essential regulator of adipogenesis and modulator of fat cell function. **Cell**. 99: 239–242, 1999.
- LUENGO MB. Uma Revisão Histórica dos Principais Acontecimentos da Imunologia e da Farmacologia na Busca do Entendimento e Tratamento das Doenças Inflamatórias. **Revista Eletrônica de Farmácia**. 2: 64–72, 2005.
- MARTENS FM, VISSEREN FL, LEMAY J, DE KONING EJ, RABELINK TJ. Metabolic and additional vascular effects of thiazolidinediones. **Drugs**. 62: 1463–1480, 2002.
- MEISNER F, WALCHER D, GIZARD F, KAPFER X, HUBER R, NOAK A, SUNDERPLASSMANN L, BACH H, HAUG C, BACHEM M, STOJAKOVIC T, MARZ W, HOMBACH V, KOENIG W, STAELS B, MARX N. Effect of rosiglitazone treatment on plaque inflammation and collagen content in nondiabetic patients: data from a randomized placebo-controlled trial. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**. 26: 845–850, 2006.

- MENEGATTI R, FRAGA CAM, BARREIRO EJ. A importância da síntese de fármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**. 3: 16–22, 2001.
- MICHALIK LWW. Involvement of PPAR nuclear receptors in tissue injury and wound repair. **The Journal of Clinical Investigation**. 116: 598–606, 2006.
- MONCADA S, FERREIRA SH, VANE JR. Prostaglandins, aspirin-like drugs and the oedema of inflammation. **Nature**. 246: 217–219, 1973.
- MONTANARI CA. A química medicinal na próxima década. **Química Nova**. 23: 134–137, 2000.
- MORETTI RM, MONTAGNANI-MARELLI M, MOTTA M, LIMONTA P. Oncostatic activity of a thiazolidinedione derivative on human androgen-dependent prostate cancer cells. **International Journal of Cancer**. 92: 733–737, 2001.
- MOURÃO RH, SILVA TG, SOARES ALM, VIEIRA ES, SANTOS JN, LIMA MCA, LIMA VLM, GALDINO SL, BARBE J, PITTA IR. Synthesis and Biological Activity of Novel Acridinylidene and Benzylidene thiazolidinediones. **European Journal of Medicinal Chemistry**. 40: 1129–1133, 2005.
- MURDOCH C, FINN A. Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. **Blood Journal**. 95: 3032–3043, 2000.
- MURPHY GJ, HOLDER JC. PPAR-gamma agonists: therapeutic role in diabetes, inflammation and cancer. **Trends in Pharmacological Sciences**. 21: 469–474, 2000.
- NOGUEIRA LJ, MONTANARI CA, DONNICI CL. Histórico da evolução da química medicinal e a importância da lipofilia: de Hipócrates e Galeno a Paracelsus e as contribuições de Overton e de Hansch. **Revista Virtual de Química**. 1: 227–240, 2009.
- ONO M, IKEGAMI H, FUJISAWA T, NOJIMA K, KAWABATA Y, NISHINO M, TANIGUCHI H, ITOI-BABAYA M, BABAYA N, INOUE K, OGIHARA T. Improvement of liver function parameters in patients with type 2 diabetes treated with thiazolidinediones. **Metabolism – Clinical and Experimental**. 54: 529–532, 2005.
- OUELLET M, PERCIVAL MD. Mechanism of acetaminophen inhibition of cyclooxygenase isoforms. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. 387: 273–280, 2001.
- PALASKA E, SAHIN G, KELICEN P, DURLU NT, ALTINOK G. Synthesis and anti-inflammatory activity of 1-acylthiosemicarbazides, 1,3,4-thiadiazoles and 1,2,4-triazole-3-thiones. **IL Farmaco**. 57: 101–107, 2002.
- PANADERO MI, GONZÁLEZ MC, HERRERA E, BOCOS C. Modulación del PPAR α por agentes farmacológicos y naturales y sus implicaciones metabólicas. **Clínica e Investigación en Arteriosclerosis**. 20: 259–289, 2008.

- PANIGRAHY D, SINGER S, SHEN LQ, BUTTERFIELD CE, FREEDMAN DA, CHEN EJ, MOSES MA, KILROY S, DUENSING S, FLETCHER C, FLETCHER JA, HLATKY L, HAHNFELDT P, FOLKMAN J, KAIPAINEN A. PPAR γ ligands inhibit primary tumor growth and metastasis by inhibiting angiogenesis. **The Journal of Clinical Investigation**. 110: 923–932, 2002.
- PAULINO N, RODRIGUES NC, PARDI PC, SUÁREZ JAPQ, SANTOS RP, SCREMIN A, VOGEL C, FEIST H, MICHALIK D. Evaluation of anti-inflammatory effect of synthetic 1,5-bis(4-acetoxy-3-methoxyphenyl)-1,4-pentadien-3-one, HB2. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. 17: 4290–4295, 2009.
- PFUTZNER A, MARX N, LUBBEN G, LANGENFELD M, WALCHER D, KONRAD T, FORST T. Improvement of cardiovascular risk markers by pioglitazone is independent from glycemic control: results from the pioneer study. **Journal of The American College Of Cardiology**. 45: 1925–1931, 2005.
- PLUTZKY J. The potential role of peroxisome proliferator-activated receptors on inflammation in type 2 diabetes mellitus and atherosclerosis. **The American Journal of Cardiology**. 92: 34–41, 2003.
- QAYYUM R, ADOMAITYTE J. Meta-analysis of the effect of thiazolidinediones on serum C-reactive protein levels. **The American Journal of Cardiology**. 97: 655–658, 2006.
- RAFFA R. Pharmacological aspects of successful long-term analgesia. **Clinical Rheumatology**. 25: 9–15, 2006.
- RANG HP, DALE MM, HITER JM. **Farmacologia**. 4ª Edição. Editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 2003.
- RAO CHV, KARTIK R, OJHA SK, AMRESH G, RAO GMM. Antiinflammatory and antinociceptive activity of stem juice powder of *Tinospora cordifolia* Miers. in experimental animals. **Hamdard Medicus**. 48: 102–106, 2005.
- RAZ A, WYCHE A, NEEDLEMAN P. Temporal and pharmacological division of fibroblast cyclooxygenase expression into transcriptional and translational phases. **Proceedings of The National Academy Of Sciences USA**. 86: 1657–1661, 1989.
- RIBEIRO RA, VALE ML, THOMAZZI SM, PASCHOALATO ABP, POOLE S, FERREIRA SH, CUNHA FQ. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. **European Journal of Pharmacology**. 387: 111–118, 2000.
- RICOTE M, LI AC, WILLSON TM, KELLY CJ, GLASS CK. The peroxisome proliferator-activated receptor gamma is negative regulator of macrophage activation. **Nature**. 391: 79–82, 1998.
- ROCCA B, MOROSETTI R, HABIB A, MAGGIANO N, ZASSADOWSKI F, CIABATTONI G, CHOMIENNE C, PAPP B, RANELLETTI FO. Cyclooxygenase-1, but not -2, is upregulated in NB4 leukemic cells and human primary promyelocytic blasts during differentiation. **Leukemia**. 18: 1373–1379, 2004.

- ROSEN GD, BIRKENMEIER TM, RAZ A, HOLTZMAN MJ. Identification of a cyclooxygenase-related gene and its potential role in prostaglandin formation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 15: 358–365, 1989.
- ROSLAND JH. The formalin test in mice: the influence of ambient temperature. **Pain**. 45: 211–216, 1991.
- ROSSI D, ZLOTNIK A. The biology of chemokines and their receptors. **Annual Review of Immunology**. 18: 217–242, 2000.
- ROWLAND SE, CLARK P, GORDON R, MULLEN AK, GUAY J, DUFRESNE L, BRIDEAU C, COTE B, DUCHARME Y, MANCINI J, CHAN C, AUDOLY L, XU D. Pharmacological characterization of a selective COX-2 inhibitor MF-tricyclic, [3-(3,4-difluorophenyl)-4-(4-(methylsulfonyl)phenyl)-2-(5H)-furanone], in multiple preclinical species. **European Journal of Pharmacology**. 560: 216–224, 2007.
- SADDI GM, ABBOTT FV. The formalin test in the mouse: a parametric analysis of scoring properties. **Pain**. 89: 53–63, 2000.
- SANTOS IBV. Síntese e atividades antiinflamatória e antinociceptiva de novas tiazolidinadionas. 2009. Dissertação de Mestrado. Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brasil.
- SANTOS LC, UCHOA FT, CANAS ARPA, SOUSA IA, MOURA RO, LIMA MCA, GALDINO SL, PITTA IR, BARBE J. Synthesis and anti-inflammatory activity of new thiazolidine-2,4-diones, 4-thioxothiazolidinones and 2- thioxoimidazolidinones . **Heterocyclic Communications**. 11: 121–128, 2005.
- SANTOS LC. Synthèse et évaluation de l'activité biologique de nouveaux dérivés imidazolidiniques 2, 3, 5-trisubstitués. 2005. Tese de Doutorado. Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brasil.
- SARRAF P, MUELLEN E, JONES D, KING FJ, DEANGELO DJ, PARTRIDGE JB, HOLDEN SA, CHEN LB, SINGER S, FLETCHER C, SPIEGELMAN BM. Differentiation and reversal of malignant changes in colon cancer through PPAR- γ . **Nature Medicine**. 4: 1046–1052, 1998.
- SCHNITZER TJ, KAMIN M, OLSON WH. Tramadol allows reduction of naproxen dose among patients with naproxen-responsive osteoarthritis pain: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Arthritis & Rheumatism**. 42: 1370–1377, 1999.
- SCHOONJANS K, STAELS B, AUWERX J. Role of the peroxisome proliferators-activated receptor (PPAR) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. **Journal of Lipid Research**, 37: 907–25, 1996.
- SERHAN C.N. Resolution Phase of Inflammation: Novel Endogenous Anti-Inflammatory and Proresolving Lipid Mediators and Pathways. **Annual Review of Immunology**. 25: 101–137, 2007.

- SERHAN CN, HONG S, GRONERT K, COLGAN SP, DEVCHAND PR, MIRICK G, MOUSSIGNAC RL. Resolvins: a family of bioactive products of Omega-3 fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter proinflammation signals. **The Journal Experimental Medicine**. 196: 1025–1037, 2002.
- SHAFTTEL SS, OLSCHOWKA JA, HURLEY SD, MOORE AH, O'BANION MK. COX-3: a splice variant of cyclooxygenase-1 in mouse neural tissues and cells. **Molecular Brain Research**. 119: 213–215, 2003.
- SHIBATA M, OHKUBO T, TAKAHASHI H INOKI R. Modified formalin test: characteristic bifasic pain response. **Pain**. 38: 347-352, 1989.
- SHIMADA SG, OTTERNESS IG, STITT JT. A study of the mechanism of action of the mild analgesic dipyrone. **Agents & Actions**. 41, 188–192, 1994.
- SIDHU JS, COWAN D, KASKI JC. The effects of rosiglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist, on markers of endothelial cell activation, C-reactive protein, and fibrinogen levels in non-diabetic coronary artery disease patients. **Journal of The American College of Cardiology**. 42: 1757–1763, 2003.
- SIEDMUND EA, CADMUS RA, LU GA. Method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesic. **Proceedings of The Society for Experimental Biology & Medicine**. 95: 729–731, 1957a.
- SIEDMUND EA, CADMUS RA, LU GA. Screening analgesics, including aspirin type compound based upon the antagonism of chemically induced “writing” in mice. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. 119: 184–193, 1957b.
- SIMMONS DL, BOTTING RM, ROBERTSON PM, MADSEN ML, VANE JR. Induction of an acetaminophen-sensitive cyclooxygenase with reduced sensitivity to nonsteroid antiinflammatory drugs. **Proceedings of The National Academy of Science USA**. 96: 3275–3280, 1999.
- SIMMONS DL, BOTTING RM, TIMOTHY HLA. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. **Pharmacological Reviews**. 56:387–437, 2004.
- SIMMONS DL, WAGNER D, WESTOVER K. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Cyclooxygenase 2 and fever. **Clinical Infectious Diseases**. 31: 211–218, 2000.
- SMITH JB, WILLIS AL. Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets. **Nature**. 231: 235–237, 1971.
- SOUSA AM, FRANCO PAB, ASHMAWI HA, POSSO IP. Efeito analgésico local do tramadol em modelo de dor provocada por formalina em ratos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. 58: 371–379, 2008.
- SPIEGELMAN BM. PPAR γ : Adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. **Diabetes**. 47: 507–514, 1998.

- STAELS B, FRUCHART JC. Therapeutic roles of peroxisome proliferator-activated receptor agonists. **Diabetes**. 54: 2460–2470, 2005.
- STEWART WF, KAWAS C, CORRADA M, METTER EJ. Risk of Alzheimer's disease and duration of NSAID use. **Neurology**. 48: 626–632, 1997.
- TAYLOR BK, DADIA N, YANG CB, KRISHNAN S, BADR M. Peroxisome proliferator-activated receptor agonists inhibit inflammatory edema and hyperalgesia. **Inflammation**. 26: 121–127, 2002.
- TEITEAUM I. Cloudy peritoneal dialysate: it's not always infection. **Contributions to Nephrology**. 150: 187–194. 2006.
- TJØLSEN A, BERGER OG, HUNSKAAR S, ROSLAND JH, HOLE K. The formalin test: evaluation of the method. **Pain**. 51: 5–17, 1992.
- UCHÔA FDT. Síntese e avaliação da atividade antiinflamatória de 5- benzilideno-3-(4-clorobenzil)-tiazolidina-2,4-dionas. 2004. Dissertação de Mestrado. Biotecnologia de Produtos Bioativos. Departamento de Antibióticos. Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brasil.
- VANE JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature New Biology**. 231: 232–235, 1971.
- VERMA A, SARAF SK. 4-Thiazolidinone – A biologically active scaffold **European Journal of Medicinal Chemistry**. 43: 897–905, 2008.
- VERRI JR WA, CUNHA TM, PARADA CA, POOLE S, CUNHA FQ, FERREIRA SH. Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: Targets for analgesic drug development? **Pharmacology & Therapeutics**. 112: 116–138, 2006.
- VILLEGAS I, MARTIN AR, TOMA W, DE LA LASTRA CA. Rosiglitazone, an agonist of peroxisome proliferator-activated receptor gamma, protects against gastric ischemia–reperfusion damage in rats: role of oxygen free radicals generation. **European Journal of Pharmacology**. 505: 195–203, 2004.
- VOGIAGIS D, BROWN W, GLARE EM, O'BRIEN PE. Rat colorectal tumours treated with a range of non-steroidal anti-inflammatory drugs show altered cyclooxygenase-2 and cyclooxygenase-1 splice variant mRNA expression levels. **Carcinogenesis**. 22: 869–874, 2001.
- WATKINS PB, WHITCOMB RW. Hepatic dysfunction associated with troglitazone. **The New England Journal of Medicine**, 338: 916–917, 1998.
- WILLOUGHBY DA, MOORE AR, COLVILLE-NASH PR. COX-1, COX-2, and COX-3 and the future treatment of chronic inflammatory disease. **Lancet**. 355: 646–648, 2000.
- WILLSON TM, BROWN PJ, STERNBACH DD, HENKE BR. The PPARs: from orphan receptors to drug discovery. **Journal of Medicinal Chemistry**. 43: 527–550, 2000.

- WITKIN LB, HUEBNER CF, GALDI F, O'KEEFE E, SPITALETTA P, PLUMMER AJ. Pharmacognosy of 2 amino-indane hydrochloride (Su 8629): a potent non-narcotic analgesic. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. 133: 400–408, 1961.
- WU-PONG S, ROJANASAKUL Y, ROBINSON J. **Biopharmaceutical Drug Design and Development**. Editora Humana Press. 1999.
- XIAOYU H, WAI-PING L, CHARIS M, LIONEL B. I. Inhibition of IFN- γ signaling by glucocorticoids. **The Journal of Immunology**. 170: 4833–4839, 2003.
- YOSHIOKA T, FUJITA T, KANAI T, AIZAWA Y, KURUMADA T, HASEGAWA K, HORIKOSHI H. Studies on hindered phenols and analogues. 1. Hipolipidemic and hypolycemic agents wuth ability to inhibit lipid peroxidation. *The Journal of Medicinal Chemistry*, 32: 421-428, 1989.
- YU K, BAYONA W, KALLEN CB, HARDING HP, RAVERA CP, MCMAHON G, BROWN M, LAZAR MA. Differential activation of peroxisome proliferator activated receptors by eicosanoids. *The Journal Biology Chemistry*, 270: 23975–23983, 1995.
- ZHANG B, BERGER J, ZHOU G ELBRECHT A, BISWAS S, WHITE-CARRINGTON S, SZALKOWSKI D, MOLLER DE. Insulin- and mitogen-activated protein kinase mediated phosphorylation and activation of peroxisome proliferator-activated receptor γ , **The Journal Biology Chemistry**. 271: 31771–31774, 1996.
- ZHANG C. The role of inflammatory cytokines in endothelial dysfunction. **Basic Research Cardiology**. 103: 398–406, 2008.

6. Capítulo 1 - Artigo

ARTIGO: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DE NOVOS DERIVADOS TIAZOLIDINÔNICOS 3,5-DISSUBSTITUIDOS.

A ser submetido ao periódico: **Journal of Inflammation**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DE NOVOS DERIVADOS
TIAZOLIDINÔNICOS 3,5-DISSUBSTITUIDOS.**

Thiago Ubiratan Lins e Lins¹, Teresinha Gonçalves da Silva¹, Ivan da Rocha Pitta¹, Maria do Carmo Alves de Lima¹, Suely Lins Galdino¹

Departamento de Antibióticos, LBPF, Av. Professor Moraes Rego, s/n , Cidade Universitária - Recife - PE – Brasil.

e-mail: Thiago Lins e Lins – thiago.ubiratan.lins@gmail.com, Teresinha Gonçalves – teresinha100@gmail.com.

6.1. Resumo

O processo inflamatório tem sido uma importante causa de morbidade e mortalidade humana, tornando-se objeto de estudos experimentais que procuram avaliar o papel dos diversos mediadores envolvidos na resposta inflamatória. Nesse contexto, a busca por novas moléculas revelou o potencial antiinflamatório dos derivados tiazolidínicos, grupo de moléculas estruturalmente relacionadas caracterizados pelo anel tiazolidínico. Tais moléculas têm o receptor ativado por proliferadores de peroxissomos gama (PPAR γ) como principal alvo biológico. Neste trabalho foram descritos a síntese e as características físico-químicas de novos derivados tiazolidinônicos-3,5-disubstituídos da série química LPSF/GQ: o LPSF/GQ-138 (3-(3-flúor-benzil)-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona) e o LPSF/GQ-140 (3-(3-flúor-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona) obtidos a partir da reação de adição de Michael entre a 3-(3-flúor-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-56) com derivados 3-fenil-2-ciano-acrilatos de etila substituídos (LPSF/IP-6 e LPSF/IP-15). Ambos os compostos sintetizados tiveram suas estruturas químicas elucidadas por espectroscopia de infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹N). Em seguida foi investigada a atividade antiinflamatória dos compostos sintetizados no ensaio da peritonite induzida por carragenina 1% onde foram escolhidas as doses 0,37; 1,11; 3,33 e 10 μ mol/kg e o fármaco de referência indometacina na dose de 28 μ mol/kg, apresentando inibição da migração celular num percentual variando de 45,7 a 71,0% para os compostos e 54,3% para a indometacina. Foi realizada ainda a avaliação da atividade antinociceptiva através do teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético 1% e do teste da formalina utilizando-se a melhor dose encontrada no ensaio da peritonite (10 μ mol/kg). No teste de contorções abdominais os compostos LPSF/GQ-138 e LPSF/GQ-140 apresentaram percentuais de inibição de 32,2 % e 20,8 % respectivamente, em comparação com a dipirona na dose de 450 μ mol/kg (50,2%). No teste da formalina, foram obtidos percentuais de inibição para o LPSF/GQ-138 na 1ª e 2ª fases do teste de 33,3 % e 59,5 % respectivamente e para o LPSF/GQ-140 na 1ª e 2ª fases do teste de 24,0 % e 42,4 % respectivamente, em comparação com a dipirona na dose de 450 μ mol/kg (42,9% e 83,4%, respectivamente). Assim, os novos derivados tiazolidínicos avaliados mostraram resultados antiinflamatórios e antinociceptivos promissores estando de acordo com a literatura em relação à capacidade que possuem as TZDs de inibir a ação de mediadores pró-inflamatórios.

6.2. Introdução

A inflamação pode ser definida como uma resposta biológica defensiva de tecidos vasculares que induz profundas adaptações fisiológicas ao organismo na tentativa de limitar e/ou reverter o dano tecidual induzido por agentes irritantes biológicos, químicos ou mecânicos (CUZZOCREA, 2005; PAULINO et al., 2009). Durante o processo inflamatório, ocorre o encaminhamento de leucócitos à lesão e ativação posterior para que desempenhem suas funções normais de defesa do hospedeiro (RANG, DALE & RITTER, 2003; KUMAR, ABBAS & FAUSTO, 2005). Tal fenômeno é a característica mais importante da reação inflamatória, vindo a constituir-se no verdadeiro elemento do processo. Entretanto, leucócitos podem prolongar a inflamação e aumentar o dano tecidual pela liberação de enzimas, mediadores químicos e radicais livres, que são tóxicos para os tecidos (RANG, DALE & RITTER, 2003). Nesse contexto, na tentativa de minimizar os efeitos indesejáveis do processo inflamatório, surgiram os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs) a partir da obtenção da aspirina (ácido acetilsalicílico). Posteriormente surgiu uma série de moléculas tendo como mecanismo de ação a inibição da síntese de prostaglandinas através do bloqueio da enzima cicloxigenase (COX). Porém apesar de serem eficazes no combate aos sintomas da inflamação ainda contam com efeitos indesejáveis significativos. Partindo deste princípio, tem-se buscado novas estratégias para o tratamento da inflamação com menores efeitos adversos através da pesquisa voltada à síntese e aplicação de novos agentes terapêuticos (PAULINO et al., 2009; SERHAN, 2007). Desse modo este trabalho teve por objetivo principal contribuir com a pesquisa de novos agentes antiinflamatórios e/ou antinociceptivos mais específicos e menos tóxicos, melhorando o tratamento de diferentes desordens inflamatórias e possibilitando o desenvolvimento de alternativas terapêuticas mais eficazes que as atuais drogas antiinflamatórias através da avaliação das atividades antiinflamatória e analgésica dos compostos sintetizados em modelo de inflamação aguda e de indução do efeito nociceptivo.

6.3. Material e Métodos

6.3.1. Procedimentos Éticos

Os procedimentos experimentais apresentados nesta pesquisa foram submetidos e aprovados pelo comitê de ética e experimentação animal da Universidade Federal de Pernambuco (Comitê de Ética em Experimentação Animal / Centro de Ciências Biológicas /Universidade Federal de Pernambuco - CEEA-UFPE, ofício no 143/09). Encontrando-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 9.605- art. 32 e decreto 3.179-art. 17, de 21/09/1999, que trata da questão do uso de animais para fins científicos. Os procedimentos experimentais utilizados foram aprovados pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pernambuco (processo nº. 23076.006242/2009-75).

6.3.2. Animais Experimentais

Para o desenvolvimento deste trabalho, foram utilizados camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*) machos, com faixa etária de 50 dias e peso variando entre 25 e 30 g, provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Inicialmente, os camundongos foram submetidos a um período de adaptação, sendo mantidos em gaiolas sob condição padronizada de iluminação (ciclo claro/escuro de 12 horas), temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e recebendo água *ad libitum* e dieta padrão. Após este estágio, foram pesados e separados em lotes de 07 animais permanecendo em jejum de 8 horas, antes da realização dos experimentos. Para ambas as atividades testadas, os animais foram separados em 2 grupos tratados, 1 grupo controle negativo e 1 grupo controle positivo utilizando droga de referência totalizando em 4 grupos. As vias de administração das substâncias teste utilizadas para avaliação das atividades antiinflamatória e antinociceptiva foi a via oral (p.o.). Para injeção do agente flogístico foi utilizada a via intraperitoneal (i.p.). Para a indução do estímulo nociceptivo durante o teste da formalina foi utilizada a via subcutânea.

6.3.3. Preparação das Doses

As substâncias teste LPSF/GQ-138 e LPSF/GQ-140 e indometacina foram diluídas em solução salina 0,9% contendo Cremophor 0,01% após terem suas doses calculadas em mg/kg de peso corpóreo do animal.

6.3.4. Toxicidade Aguda

O teste para avaliação de toxicidade aguda dos compostos tiazolidínicos em dose única foi realizado de acordo com o método descrito por OECD (2000). Grupos de camundongos pesando entre 25 e 30g receberam dose única de 2000mg/kg de peso de cada composto. Os animais foram observados durante os 60 primeiros minutos, tomando como parâmetros de toxicidade: piloereção, taquicardia, contorções abdominais, estiramento, agitação, evacuação e poliúria. Posteriormente em intervalos maiores até completar um período de 14 dias. Segundo Litchfield e Wilcoxon (1949) a partir dos dados coletados durante os teste de toxicidade, foram analisados como parâmetros principais: O número de morte dos animais foi utilizado para determinar o cálculo da dose letal em 50% dos animais testados (DL_{50}).

6.3.5. Avaliação da atividade inflamatória

Os camundongos, em jejum de 8 horas, foram divididos em 4 grupos de $n=7$ e tratados (p.o) com as substâncias teste (0,37; 1,11; 3,33 e $10\mu\text{mol/kg}$ para os LPSF/GQs), indometacina ($28\mu\text{mol/kg}$) e solução salina contendo Cremophor 0,01%. Após 1 hora do tratamento, todos os grupos experimentais receberam a administração i.p de 0,25 mL de solução de carragenina 1%. Após quatro horas, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, sendo injetados na cavidade peritoneal 2 mL de solução salina adicionada de EDTA 0,3%. O EDTA tem como função evitar a coagulação das proteínas presentes no exsudato. A contagem de leucócitos totais migrados foi realizada em analisador hematológico Micros 60.

6.3.6. Avaliação da atividade antinociceptiva

6.3.6.1. Contorções abdominais induzidas pelo ácido acético

O ensaio foi realizado utilizando a técnica descrita por Koster, Anderson e De Beer (1959). Os camundongos foram pré-tratados por via oral com as substâncias teste - LPSF/GQs 138 e 140, ambos na dose de $10\mu\text{mol/kg}$. Em seguida foi administrado na cavidade peritoneal dos animais 0,5 mL da solução de ácido acético (1%), o que fez induzir as contorções abdominais, para tornar viável a avaliação dos possíveis efeitos antinociceptivo dos compostos em estudo. O número de contorções abdominais ocorridos entre 5 e 20min após a

injeção do ácido acético foi registrado. Dipirona (450 $\mu\text{mol/kg}$) foi utilizada como fármaco de referência.

6.3.6.2. Indução do efeito nociceptivo por formalina

Os animais foram divididos em 4 grupos ($n=7$), em seguida receberam as substâncias por via oral; dois grupos receberam as substâncias teste LPSF/GQ-138 e LPSF/GQ-140 ambas na dose de 10 $\mu\text{mol/kg}$, outro grupo recebeu o veículo e o quarto grupo a dipirona (450 $\mu\text{mol/kg}$) como fármaco de referência. Decorrido o tempo de 60 minutos após a administração das substâncias, os animais receberam a injeção de 20 μL de formalina a 1 % na pata traseira direita e em seguida foi mensurada a sensibilidade utilizando um cronômetro, observando o tempo acumulado em segundos durante o qual o animal permaneceu lambendo a pata nos primeiros 5 minutos (fase 1), e depois, de 20 a 30 minutos (fase 2) (HUNSKAAR, FASMER & HOLE, 1985; HUNSKAAR & HOLE, 1987). Determinou-se o percentual de inibição nos grupos tratados com os LPSF/GQs em comparação ao grupo controle.

6.3.7. Análise Estatística

Todos os resultados foram expressos como variações médias $\pm$ erro padrão da média (E.P.M.). Na análise dos dados foram utilizados a análise de variância ANOVA / teste t de Student para dados não-pareados tomando-se o valor de $p < 0,05$ como nível de significância estatística para as atividades antiinflamatória e antinociceptiva (SOKAL & ROHLF, 1981).

6.4. Resultados e Discussão

6.4.1. Toxicidade Aguda

A dose letal foi obtida através da observação da ausência de mortes nos grupos testados até o 14º dia após a administração das substâncias teste na dose de 2000mg/kg de peso corporal. Sinais e sintomas de efeito tóxico foram avaliados 0,5, 1, 2, 4, 8, 24 e 48 horas após a administração de cada substância. Nenhum dos compostos tiazolidínicos testados promoveu a morte dos animais na dose de 2000mg/kg, sendo observados apenas alguns comportamentos não habituais, como baixo frêmito vocal, tremores, ptose e sonolência. O teste de toxicidade foi baseado nas investigações das propriedades terapêuticas com o LPSF/GQ-130 por Santos em 2009, onde foram observados resultados semelhantes. Durante

14 dias foi feita a monitorização da ingestão alimentar não sendo observada nenhuma variação de peso significativa em relação ao grupo controle. Os resultados demonstraram baixa toxicidade das moléculas avaliadas, dados que estão de acordo com estudos realizados por Santos e colaboradores (2005).

6.4.2. Avaliação da atividade inflamatória

No ensaio realizado ambos os compostos e a indometacina inibiram a resposta inflamatória induzida por carragenina 1%. De acordo com a análise estatística, os LPSF/GQs demonstram efetividade na inibição da resposta inflamatória apresentando uma inibição da migração celular variando de 45,7 a 71,0% e 54,3% para a indometacina (Gráfico 1). Ambos os compostos tiazolidínicos foram mais eficazes na dose de 10 $\mu\text{mol/kg}$, fato que contribuiu para que essa dose fosse escolhida para a avaliação da atividade antinociceptiva. Não foi observada uma relação dose-dependente, tornando inviável a determinação da ED_{50} .

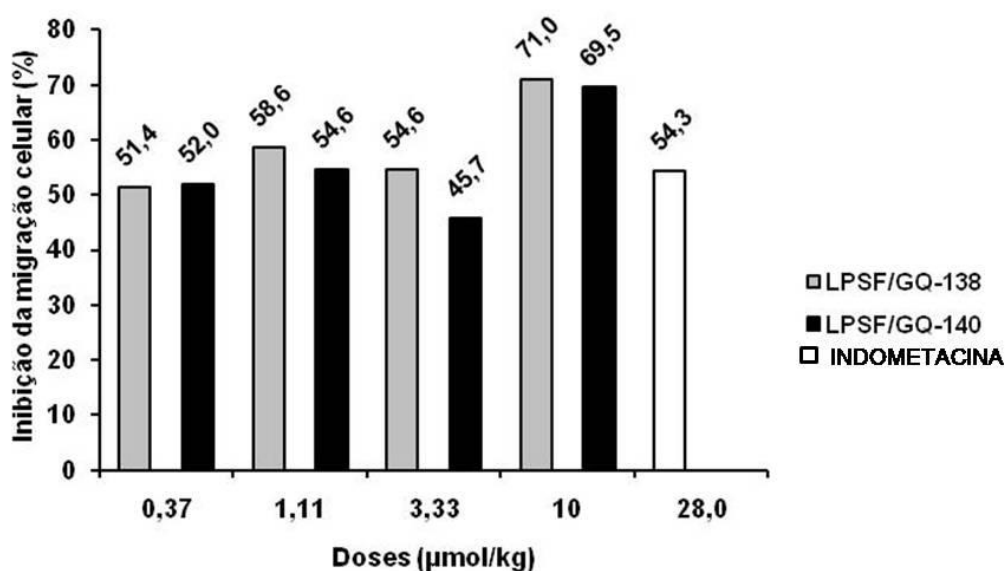


Gráfico 1: Percentual de inibição da migração celular dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-138 e LPSF/GQ-140). O percentual de inibição foi calculado de acordo com a equação: Atividade antiinflamatória % = $(m - m') / m \times 100$ onde m = controle e m' = tratado.

Sendo assim, este ensaio avaliou a migração leucocitária por meio da contagem de leucócitos presentes no exsudato liberado na cavidade peritoneal, após a administração do agente flogístico carragenina 1%. Os gráficos 2 e 3 mostram a ação dos derivados tiazolidínicos testados e do fármaco de referência indometacina na inibição da migração leucocitária.

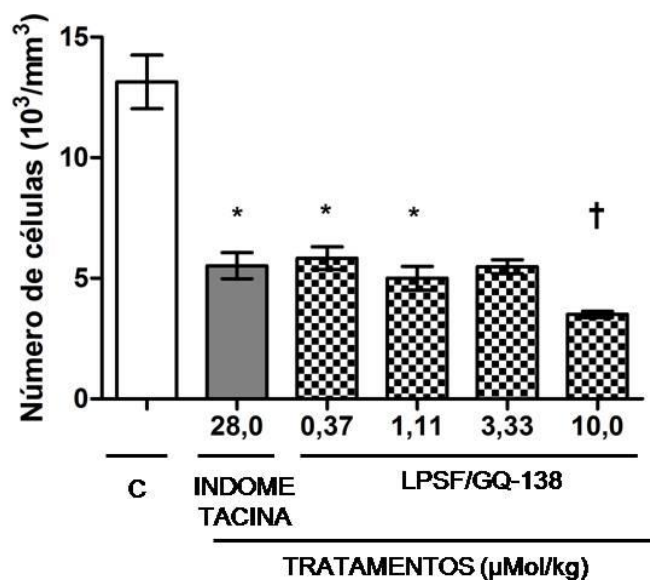


Gráfico 2: Efeito do derivado tiazolidínico LPSF/GQ-138 e indometacina sobre a atividade inflamatória induzida por carragenina (1%) no modelo da peritonite. Os valores são expressos como média $\pm$ e.p.m; (Teste t de Student não pareado) onde: * $p < 0,01$ (controle vs. tratamentos); † $p < 0,01$ (indometacina vs. LPSF/GQ-138).

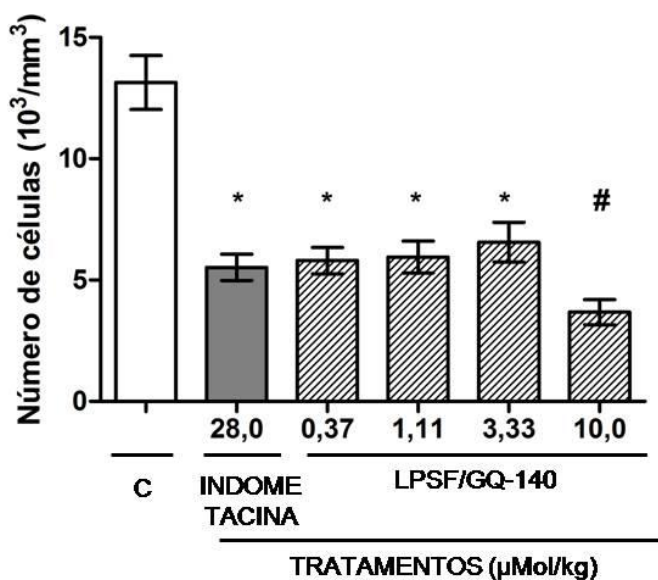


Gráfico 3: Efeito do derivado tiazolidínico LPSF/GQ-140 e indometacina sobre a atividade inflamatória induzida por carragenina (1%) no modelo da peritonite. Os valores são expressos como média $\pm$ e.p.m; (Teste t de Student não pareado) onde: * $p < 0,01$ (controle vs. tratamentos); # $p < 0,01$ (indometacina vs. LPSF/GQ-140).

Embora o mecanismo molecular da ação das TZDs não esteja precisamente conhecido, hoje, sabe-se que os efeitos terapêuticos das TZDs parecem resultar da alta afinidade de união das TZDs ao PPAR γ (LEHMANN et al., 1995; SPIEGELMAN, 1998; SCHOONJANS, STAELS & AUWERX, 1996).

Sabe-se que a rosiglitazona interage com o receptor PPAR γ através da formação de ligações de hidrogênio entre o átomo de oxigênio do anel tiazolidínico com os resíduos de aminoácidos histidina (His323) e serina (Ser289) do domínio LBD do receptor. Este tipo de ligação é importante na estabilidade e ativação do receptor (IWATA et al., 2001).

Uma vez ativado por agonistas, o receptor PPAR γ revela seus efeitos antiinflamatórios que ocorrem devido à atividade transcricional do PPAR γ que antagoniza a de outros fatores de transcrição, como por exemplo, a do AP-1, STAT e NF-kB, responsáveis pelo controle da expressão de genes pró-inflamatórios, tais como: 1) da gelatinase B, uma metaloproteinase, que em macrófagos ativados, causa danos no tecido durante processos inflamatórios agudos e crônicos, 2) a inibição da expressão do gene SR-A, que codifica uma proteína de superfície celular associada a eventos de adesão celular e a entrada de macromoléculas incluindo LDL oxidada e 3) da óxido nítrico sintase induzida (iNOS) (RICOTE et al., 1998). Em concordância, o trabalho de Jiang e colaboradores mostrou que agonistas de PPAR γ (PGJ2, troglitazona e rosiglitazona) também inibem nos monócitos a síntese de moléculas pro-inflamatórias, por diminuírem a expressão de citocinas como IL 1 β , IL-6 e o TNF- α (JIANG, TING & SEED, 1998).

6.4.3. Avaliação da atividade antinociceptiva

6.4.3.1. Contorções abdominais induzidas pelo ácido acético

Os resultados obtidos na avaliação da atividade antinociceptiva, através do teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético, revelaram que os compostos LPSF/GQ-138 e LPSF/GQ-140 inibiram moderadamente a nocicepção na dose de 10 μ mol/kg revelando percentuais de inibição de 32,2 % e 20,8 % respectivamente, em comparação a 50,2% da dipirona na dose de 450 μ mol/kg como demonstrado no Gráfico 4.

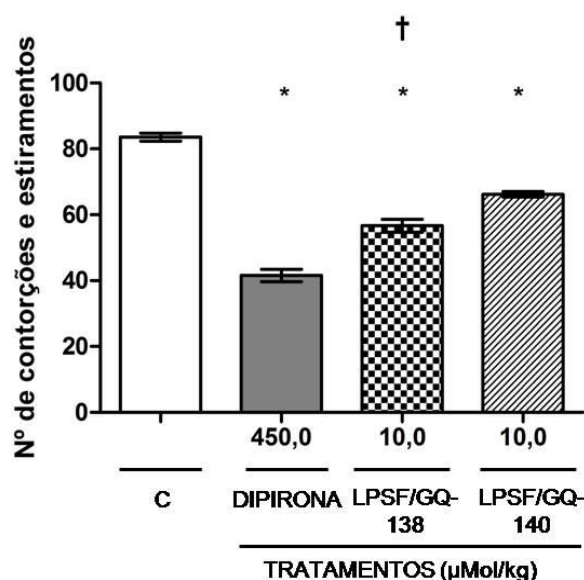


Gráfico 4: Efeito dos derivados tiazolidínicos LPSF/GQ-138 e LPSF/GQ-140 sobre a nocicepção induzida por ácido acético (1%). Os valores são expressos como média $\pm$ e.p.m; (Teste t de Student não pareado) onde: * $p < 0,01$ (controle vs. tratamentos); $^{\dagger} p < 0,01$ (Dipirona vs. LPSF/GQs).

O modelo experimental do ácido acético é considerado relativamente simples, com pouca especificidade, de fácil observação, de rápida execução e de boa sensibilidade a várias substâncias analgésicas e a fármacos antiinflamatórios não-esteroidais (KOSTER, ANDERSON & DE BEER, 1959; BLANE, 1967; BLUMBERG, WOLF & DAYTON, 1965; SIEDMUND, CADMUS & LU, 1957 a,b). O ácido acético atua indiretamente causando a liberação de substâncias endógenas envolvidas na modulação da nocicepção, incluindo a bradicinina, serotonina, histamina e as prostaglandinas (RAO et al., 2005; WITKIN et al., 1961).

Recentemente, Ribeiro e colaboradores (2000) demonstraram que a nocicepção induzida por este estímulo depende também da liberação de citocinas, como a IL-1 β , TNF α , IL-8 a partir de macrófagos e basófilos residentes na cavidade abdominal, e que em conjunto com os outros mediadores mencionados anteriormente, podem induzir a nocicepção característica observada neste modelo.

Estes achados indicam, portanto, que esta atividade pode ser decorrente da inibição direta ou indireta da liberação de mediadores pró-inflamatórios induzida pelo ácido acético, como prostaglandinas e citocinas.

6.4.3.2. Indução do efeito nociceptivo por formalina

Os resultados obtidos na avaliação da atividade antinociceptiva, através do teste da formalina, demonstraram que os compostos sintetizados inibiram moderadamente a dor na dose de 10 $\mu\text{mol/kg}$ revelando percentuais de inibição para o LPSF/GQ-138 na 1ª e 2ª fases do teste de 33,3 % e 59,5 % respectivamente e para o LPSF/GQ-140 na 1ª e 2ª fases do teste de 24,0 % e 42,4 % respectivamente, em comparação com a dipirona na dose de 450 $\mu\text{mol/kg}$ onde foi obtido na 1ª e 2ª fase do teste percentuais de 42,9% e 83,4% respectivamente como pode ser observado nos Gráficos 5 e 6. Destacou-se o LPSF/GQ-138 principalmente na segunda fase do ensaio da formalina, onde observou-se proteção à dor de forma significativa em relação ao controle negativo e ao fármaco de referência.

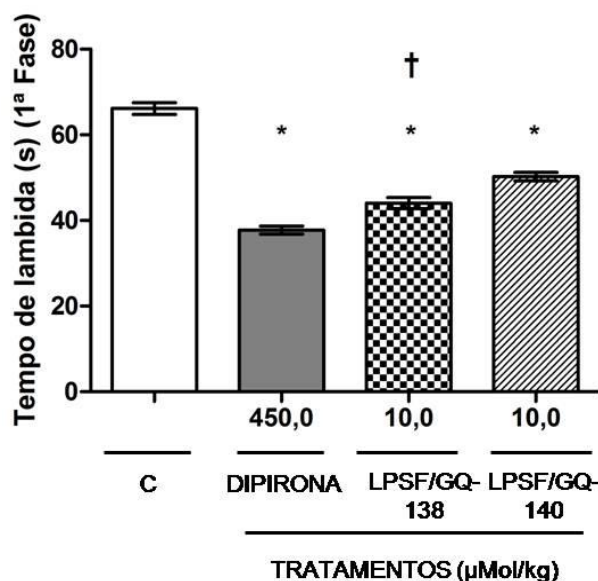


Gráfico 5: Efeito dos derivados tiazolidínicos LPSF/GQ-138 e LPSF/GQ-140 sobre a nocicepção induzida por formalina (1%) na 1ª fase do teste. Os valores são expressos como média $\pm$ e.p.m; (Teste t de Student não pareado) onde: * $p < 0,01$ (controle vs. tratamentos); † $p < 0,01$ (Dipirona vs. LPSF/GQs).

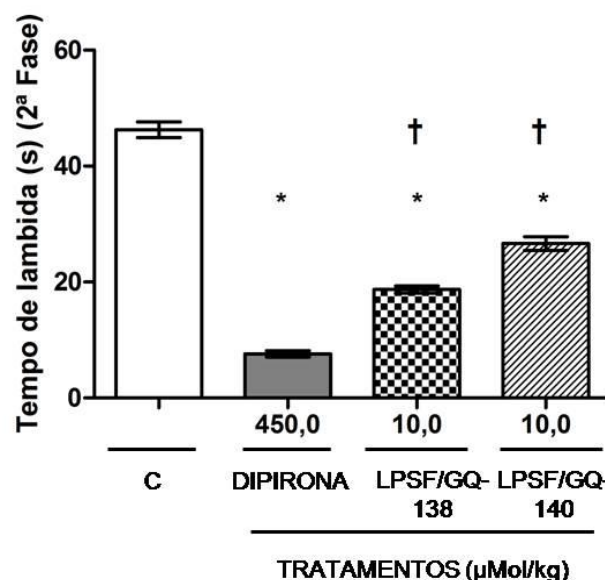


Gráfico 6: Efeito dos derivados tiazolidínicos LPSF/GQ-138 e LPSF/GQ-140 sobre a nocicepção induzida por formalina (1%) na 2ª fase do teste. Os valores são expressos como média $\pm$ e.p.m; (Teste t de Student não pareado) onde: * $p < 0,01$ (controle vs. tratamentos); † $p < 0,01$ (Dipirona vs. LPSF/GQs).

O teste da formalina depende da medida do comportamento de lambida da pata como uma simples medida da dor. Muitos dos estudos que caracterizaram o teste da formalina em camundongos foram realizados por Hole e seus colaboradores (HUNSKAAR, FASMER & HOLE, 1985; HUNSKAAR & HOLE, 1987; ROSLAND, 1991; HOLE & TJØLSEN, 1993, SADDI & ABBOTT, 2000).

Desta forma, trata-se de um dos modelos mais utilizados para explicar os mecanismos de dor e analgesia, com melhores resultados do que os testes que utilizam estímulos mecânicos ou térmicos. É constituído por duas fases: a primeira, neurogênica, resulta da atividade química irritante da formalina diretamente sobre os neurônios nociceptivos; a segunda fase está associada à liberação de mediadores endógenos locais, que geram resposta inflamatória local, responsável pela sensibilização de aferentes primários e de neurônios medulares subsequente a ativação de nociceptores. (SHIBATA et al., 1989; CODERRE, TJØLSEN, 1992; SOUSA et al., 2008).

Estudos demonstraram que agonistas $PPAR\alpha$ e $PPAR\gamma$ inibem a produção de várias citocinas inflamatórias, incluindo aquelas que desempenham papel importante na resposta nociceptiva induzida por formaldeído. A inibição na produção de eicosanóides e NO também foi observada após o tratamento com agonistas $PPAR\alpha$ (LOVETT-RACKE et al., 2004) e $PPAR\gamma$ (SAWANO et al., 2002).

Os bons resultados obtidos na segunda fase (dor inflamatória), corroboram com os resultados obtidos por Oliveira e colaboradores (2007), onde o tratamento agudo com pioglitazona inibiu a segunda fase da resposta nociceptiva induzida por formalina.

6.5. Conclusões

Pode-se concluir que no modelo de inflamação testado, os novos derivados tiazolidínicos avaliados mostraram resultados antiinflamatórios promissores estando de acordo com a literatura em relação à capacidade que possuem as TZDs de inibir a ação de mediadores pró-inflamatórios. As TZDs LPSF/GQ-138 e LPSF/GQ-140 ainda demonstraram, através do teste das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, moderada atividade antinociceptiva se destacando a LPSF/GQ-138 tanto em relação à molécula análoga LPSF/GQ-140 quanto à dipirona utilizada como referência corroborando assim com o resultado obtido na avaliação da atividade antiinflamatória, onde se pode sugerir que houve diminuição significativa na produção e/ou liberação de mediadores pró-inflamatório. As TZDs LPSF/GQ-138 e LPSF/GQ-140 revelaram, através do teste da formalina, uma moderada atividade antinociceptiva destacando-se uma maior atividade na 2ª fase do teste o que indica sua ação periférica mais acentuada como já mencionado na literatura contribuindo mais uma vez com os resultados da avaliação da atividade antiinflamatória realizado.

6.6. Referências Bibliográficas

- BLANE GF. Blockade of bradykinin induced nociception in the rat as a test for analgesic drugs with particular reference to morphine antagonists. **Journal of Pharmacology**. 19: 367–376, 1967.
- BLUMBERG H, WOLF PS, DAYTON UB. Use of the writhing test for evaluating analgesic activity of narcotic antagonists. **Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine**. 118: 763–766, 1965.
- CODERRE TJ, VACARINO AL, MELZACK R. Central nervous system plasticity in the tonic pain response to subcutaneous formalin injection. **Brain Research**. 535: 155–158, 1990.
- CUZZOCREA S. Shock, inflammation and PARP. **Pharmacological Research**. 52: 72–82, 2005.
- HOLE K, TJØLSEN A. The tail-flick and formalin tests in rodents: changes in skin temperature as a confounding factor. **Pain**. 53: 247–254, 1993.

- HUNSKAAR S, FASMER OB, HOLE K. The formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. **Journal of Neuroscience Methods**. 14: 69–76, 1985.
- HUNSKAAR S, HOLE K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**. 30: 103–104, 1987.
- IWATA Y, MIYAMOTO S, TAKAMURA M, YANAGISAWA H, KASUYA A. Interaction between peroxisome proliferators-activated receptor γ and its agonist: docking study of oximes having 5-benzyl-2,4-thiazolidinedione. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**. 19: 536–542, 2001.
- JIANG C, TING AT, SEED B. PPAR γ agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. **Nature**. 391: 82–86, 1998.
- KOSTER R, ANDERSON M, DE BEER EJ. Acetic acid for analgesic screening. **Federation Proceedings**. 18: 412–416, 1959.
- KUMAR V, ABBAS AK, FAUSTO N. **Robbins e Contran Patologia – Bases Patológicas das Doenças**. 7ª Edição. Editora Elsevier. Rio de Janeiro. 2005.
- LEHMANN JM, MOORE LB, SMITH-OLIVER TA, WILKISON WO, WILLSON TM, KLIEWER SA. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ). **The Journal of Biological Chemistry**. 270: 12953–12956, 1995.
- LITCHFIELD JT, WILCOXON FA. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. 96: 99–113, 1949.
- PAULINO N, RODRIGUES NC, PARDI PC, SUÁREZ JAPQ, SANTOS RP, SCREMIN A, VOGEL C, FEIST H, MICHALIK D. Evaluation of anti-inflammatory effect of synthetic 1,5-bis(4-acetoxy-3-methoxyphenyl)-1,4-pentadien-3-one, HB2. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. 17: 4290–4295, 2009.
- RANG HP, DALE MM, HITER JM. **Farmacologia**. 4ª Edição. Editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 2003.
- RAO CHV, KARTIK R, OJHA SK, AMRESH G, RAO GMM. Antiinflammatory and antinociceptive activity of stem juice powder of *Tinospora cordifolia* Miers. in experimental animals. **Hamdard Medicus**. 48: 102–106, 2005.
- RICOTE M, LI AC, WILLSON TM, KELLY CJ, GLASS CK. The peroxisome proliferator-activated receptor gamma is negative regulator of macrophage activation. **Nature**. 391: 79–82, 1998.
- ROSLAND JH. The formalin test in mice: the influence of ambient temperature. **Pain**. 45: 211–216, 1991.
- SADDI GM, ABBOTT FV. The formalin test in the mouse: a parametric analysis of scoring properties. **Pain**. 89: 53–63, 2000.

- SANTOS IBV. Síntese e atividades antiinflamatória e antinociceptiva de novas tiazolidinadionas. 2009. Dissertação de Mestrado. Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brasil.
- SANTOS LC, UCHOA FT, CANAS ARPA, SOUSA IA, MOURA RO, LIMA MCA, GALDINO SL, PITTA IR, BARBE J. Synthesis and anti-inflammatory activity of new thiazolidine-2,4-diones, 4-thioxothiazolidinones and 2- thioxoimidazolidinones . **Heterocyclic Communications**. 11: 121–128, 2005.
- SCHOONJANS K, STAELS B, AUWERX J. Role of the peroxisome proliferators-activated receptor (PPAR) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. **Journal of Lipid Research**, 37: 907–25, 1996.
- SERHAN C.N. Resolution Phase of Inflammation: Novel Endogenous Anti-Inflammatory and Proresolving Lipid Mediators and Pathways. **Annual Review of Immunology**. 25: 101–137, 2007.
- SHIBATA M, OHKUBO T, TAKAHASHI H INOKI R. Modified formalin test: characteristic bifasic pain response. **Pain**. 38: 347-352, 1989.
- SIEDMUND EA, CADMUS RA, LU GA. Method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesic. **Proceedings of The Society for Experimental Biology & Medicine**. 95: 729–731, 1957a.
- SIEDMUND EA, CADMUS RA, LU GA. Screening analgesics, including aspirin type compound based upon the antagonism of chemically induced “writing” in mice. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. 119: 184–193, 1957b.
- SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. Biometry - the principles and practice of statistics. New York: W.H. Freeman, 2. ed., p.859, 1981.
- SOUSA AM, FRANCO PAB, ASHMAWI HA, POSSO IP. Efeito analgésico local do tramadol em modelo de dor provocada por formalina em ratos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. 58: 371–379, 2008.
- SPIEGELMAN BM. PPAR γ : Adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. **Diabetes**. 47: 507–514 , 1998.
- TJØLSEN A, BERGER OG, HUNSKAAR S, ROSLAND JH, HOLE K. The formalin test: evaluation of the method. **Pain**. 51: 5–17, 1992.
- WITKIN LB, HUEBNER CF, GALDI F, O’KEEFE E, SPITALETTA P, PLUMMER AJ. Pharmacognosy of 2 amino-indane hydrochloride (Su 8629): a potent non-narcotic analgesic. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. 133: 400–408, 1961.

7. Anexos

7.1. Parte Química

7.1.1. Reagentes, Solventes e Equipamentos

Os reagentes utilizados foram ácido monocloroacético, tiouréia, acetato de etila, benzeno, cianoacetato de etila, etanol, *n*-hexano, piperidina, fluoreto de 3-flúor-benzil, 4-metil-benzaldeído, 4-metóxi-benzaldeído, hidróxido de potássio. Os reagentes e solventes utilizados na síntese dos compostos e para suas análises pertencem às marcas Sigma, Aldrich, Acros, Merck, Vetec ou Quimis.

Na cromatografia em camada delgada foram utilizadas placas de sílica gel 60 Merck F254, de 0,25 mm de espessura, reveladas em luz ultravioleta (254 ou 366 nm) ou através de vapores de iodo.

A caracterização estrutural foi realizada através da espectrofotometria de absorção no infravermelho (IV), em espectrofotômetro FTIR Bruker Modelo IFS 66, pastilhas de KBr. Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) foram efetuados em espectrofotômetro Varian Modelo Plus 300 MHz. Para determinação dos pontos de fusão foi utilizado aparelho Quimis Modelo 340.27.

7.1.2. Rota de síntese dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona (LPSE/GQ)

Os derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona (LPSE/GQs) foram obtidos através de síntese em várias etapas como mostrado na Figura 11. Inicialmente, obtém-se a tiazolidina-2,4-diona **3** por reação do ácido monocloroacético **1** com a tiouréia **2**. Numa segunda etapa a tiazolidina-2,4-diona **3** reagiu com o fluoreto de 3-fluór-benzil **4**, para formação do intermediário 3-(3-fluór-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSE/GQ-56) **5**. Paralelamente, obtém-se os compostos 3-fenil-2-ciano-acrilatos de etila substituídos (LPSE/IPs **8**) através da reação de condensação de Knoevenagel de cianoacetato de etila **6** com 4-R-benzaldeído ($\text{R}=\text{CH}_3$; $\text{R}'=\text{OCH}_3$) **7** em presença de piperidina como catalizador. Finalmente, a 3-(3-fluór-benzil)-tiazolidina-2,4-diona **5** sofre uma reação de adição de Michael pelos ésteres cianocinâmicos, conduzindo aos produtos finais desejados **9**.

Os precipitados que se formaram durante o tempo reacional, foram separados por filtração ainda quente e purificados por lavagens sucessivas com etanol absoluto. Após purificação foram obtidos os derivados 3-benzil-5-benzilideno tiazolidina-2,4-diona **9**.

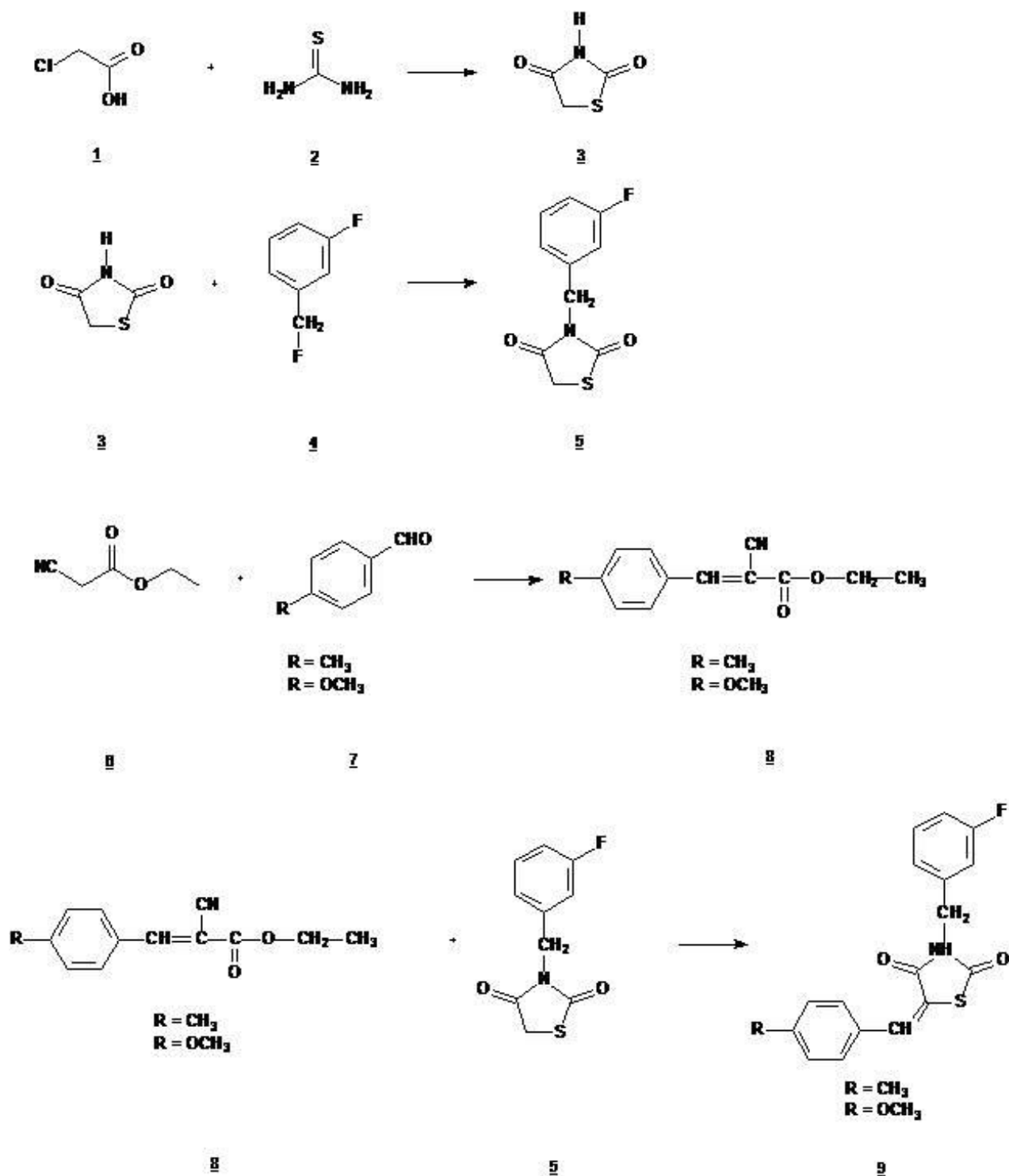
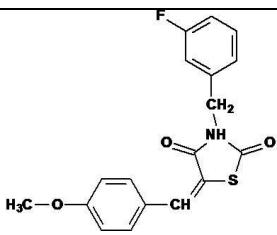
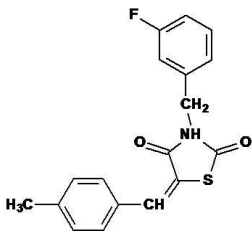


Figura 11: Diagrama de síntese dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona

7.1.3. Nomes químicos e características físico-químicas

Inicialmente foram definidos os nomes químicos dos produtos. Em seguida os produtos foram analisados por sistema de CCD Hexano/Acetato 7:3, além de terem seus percentuais de rendimento e os valores de Rf calculados. A Tabela 1 a seguir nos mostra esses dados:

Tabela 1: Nomes químicos e características dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-dionas

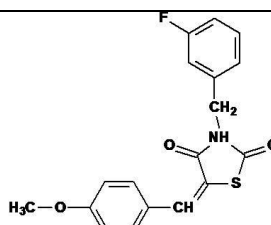
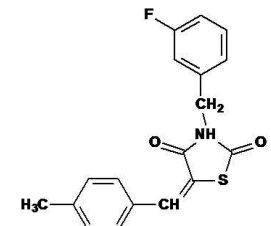
COMPOSTO	NOME QUÍMICO	F.M.	M.M.	P.F. (°C)	Rdt (%)	Rf	ELUENTE
 LPSF/GQ-138	3-(3-flúor-benzil)-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona	$C_{18}H_{14}NO_3SF$	343	130 – 132	75	0,79	<i>n</i> -hex/AcOEt 7:3
 LPSF/GQ-140	3-(3-flúor-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona	$C_{18}H_{14}NO_2SF$	327	134 – 135	86	0,57	<i>n</i> -hex/AcOEt 7:3

7.1.4. Análise Espectroscópica

7.1.4.1. Método de espectroscopia de infravermelho – IV

Através da espectroscopia no infravermelho, verificaram-se as bandas de absorção características dos grupos funcionais presentes nos ésteres de Cope. Observou-se as frequências de absorção referentes às vibrações de deformação da C=O em uma banda de absorção compreendida entre 1500 a 1733 cm^{-1} . A vibração da ligação dupla C=C foi observada em uma frequência de 1671 a 1673 cm^{-1} . O espectro IV dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-dionas (LPSF/GQs) apresenta uma frequência de absorção do CH em 3003 cm^{-1} (Tabela 2).

Tabela 2: Frequências de absorção no infravermelho, em cm^{-1} , dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-dionas

COMPOSTO	=CH-	C=O	C=C
 LPSF/GQ-138	3003	1730 (Assimétrico) 1510 (Simétrico)	1671
 LPSF/GQ-140	3003	1733 (Assimétrico) 1500 (Simétrico)	1673

Pastilhas de KBr - Espectrofotômetro FTIR Bruker, modelo IFS66

7.1.4.1.1. Espectros de infravermelho – IV dos derivados da série 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-dionas (LPSF/GQs).

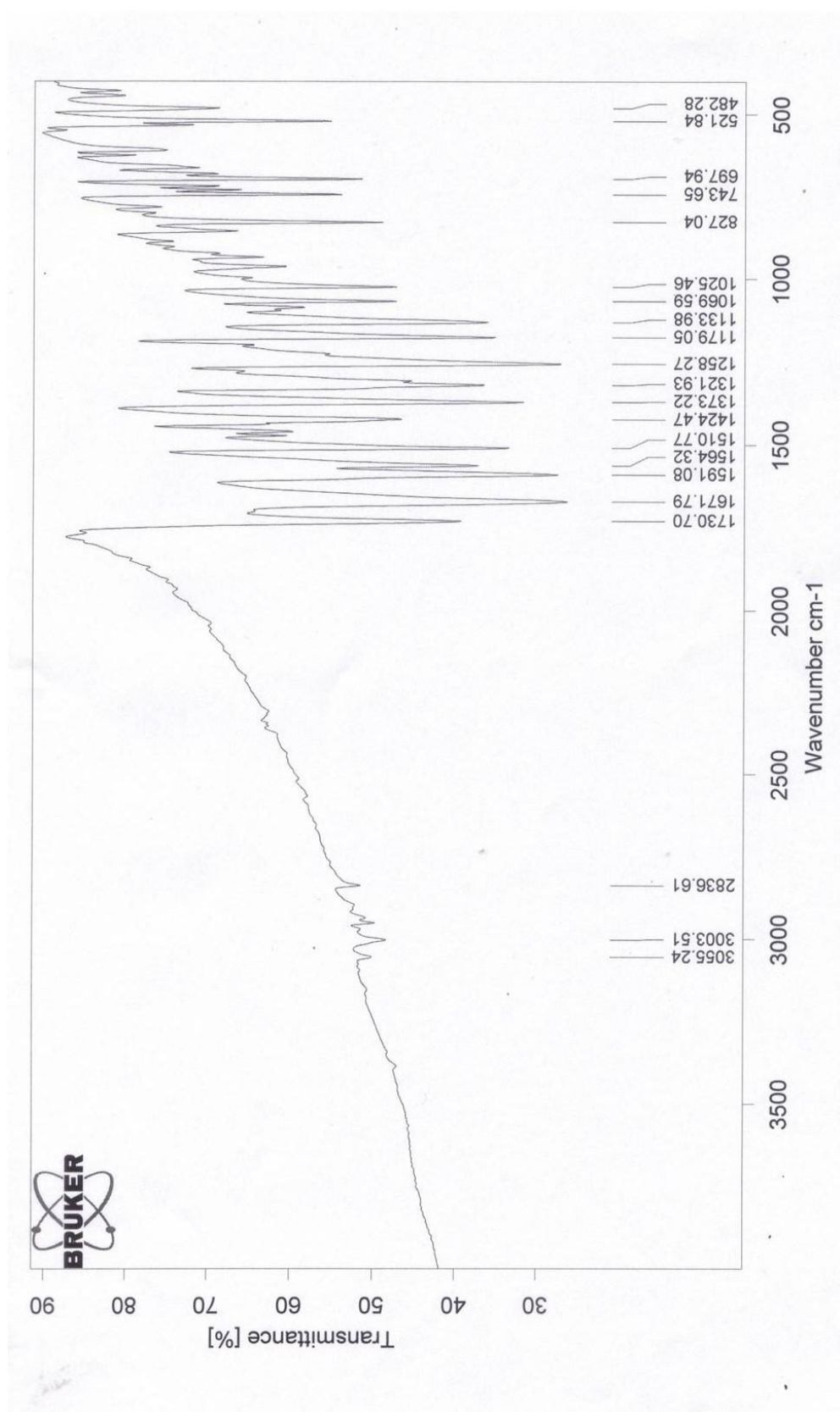


Figura 12: Espectro de infravermelho do 3-(3-fluór-benzil)-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-138)

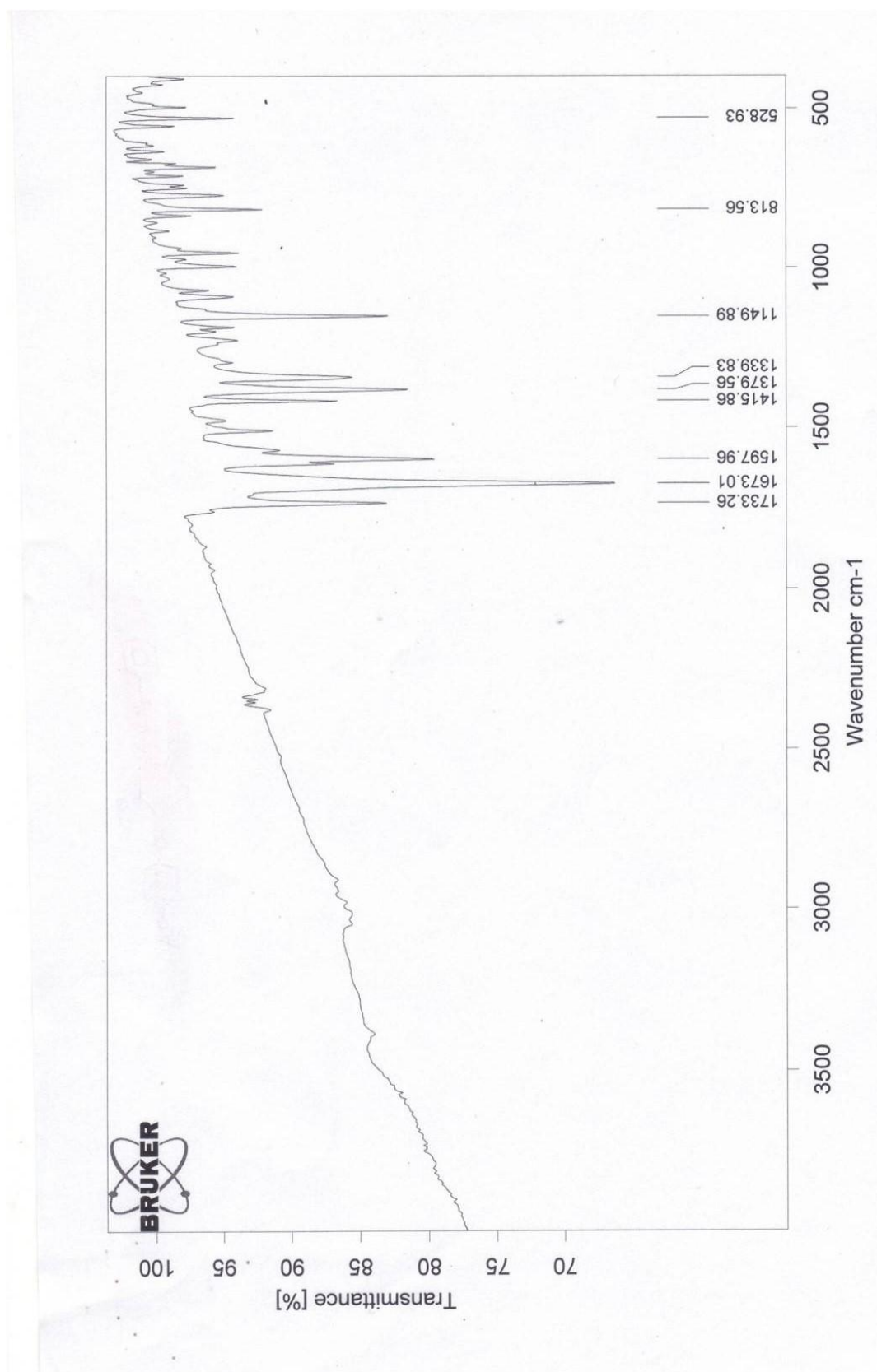
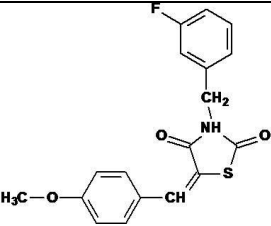
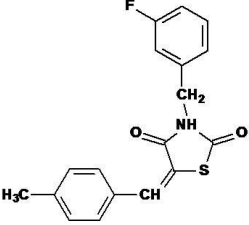


Figura 13: Espectro de infravermelho do 3-(3-fluor-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-140)

7.1.4.2. Método de ressonância magnética nuclear de hidrogênio – RMN ^1H

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) permitiu confirmar as estruturas dos compostos sintetizados. Foram verificados os picos característicos dos hidrogênios presentes nos grupos CH= , CH_2 , OCH_3 e no anel aromático. Na Tabela 3 encontram-se expressos, em ppm, os deslocamentos químicos observados para estes compostos.

Tabela 3: Deslocamentos químicos (δ) em ppm dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-dionas.

ESTRUTURA	CH=	CH ₂	OCH ₃	HIDROGÊNIOS BENZILIDÊNICOS	HIDROGÊNIOS BENZÍLICOS	HIDROGÊNIOS METÍLICOS
 LPSF/GQ-138	7,93	4,83	3,83	7,61 (d, 2H) J = 8,7 Hz 7,11 (d, 2H) J = 8,7 Hz	7,53 – 7,49 (m, 1H) 7,35 – 7,30 (m, 3H)	-
 LPSF/GQ-140	7,94	4,83	-	7,54 (d, 2H) J=7,8 Hz 7,36 (d, 2H) J = 7,8 Hz	7,53 – 7,30 (m, 4H)	2,36

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

7.1.4.2.1. Espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio – RMN ^1H dos derivados da série 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-dionas (LPSF/GQs).

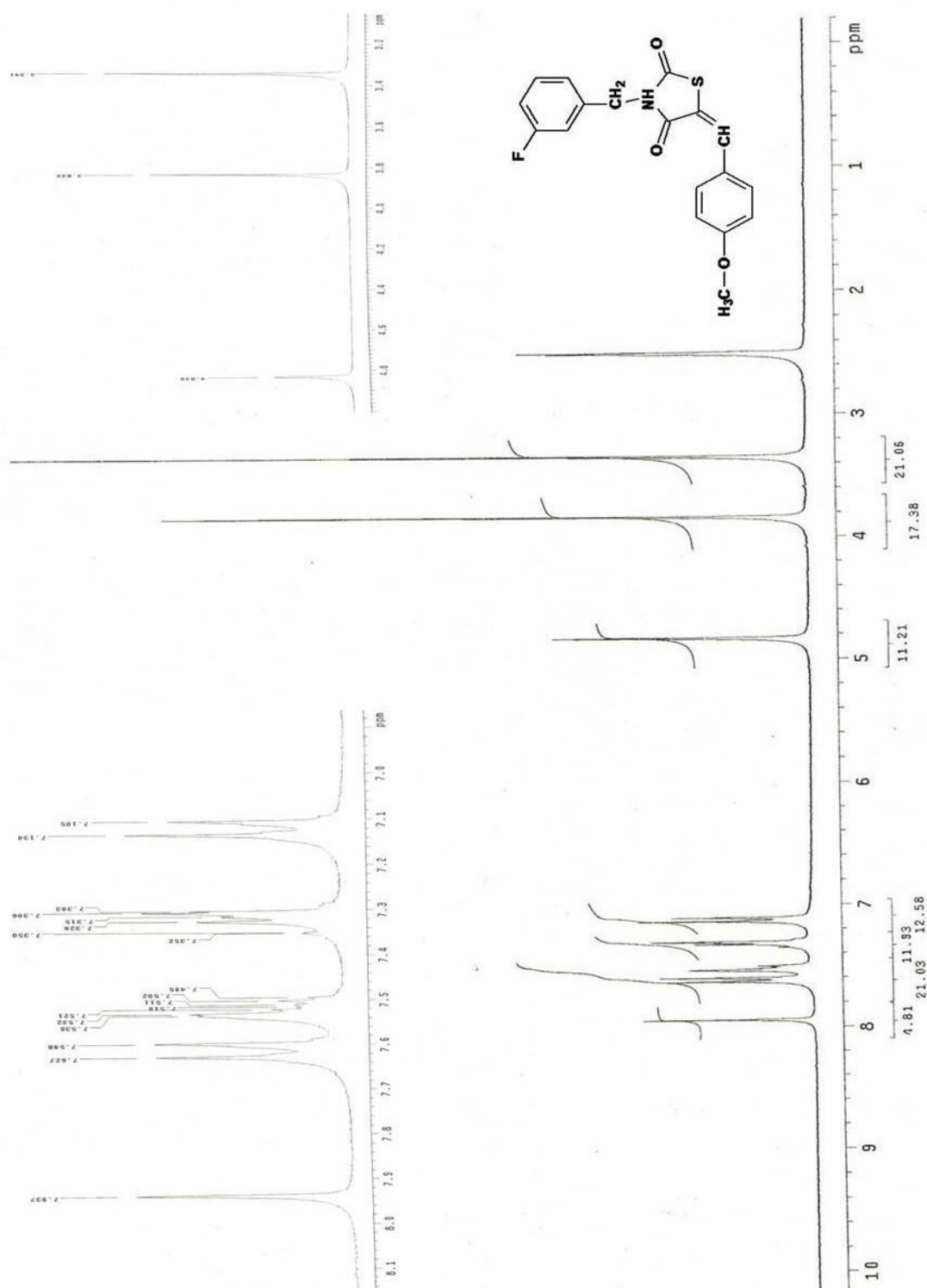


Figura 14: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 3-(3-fluor-benzil)-5-(4-metóxi-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-138)

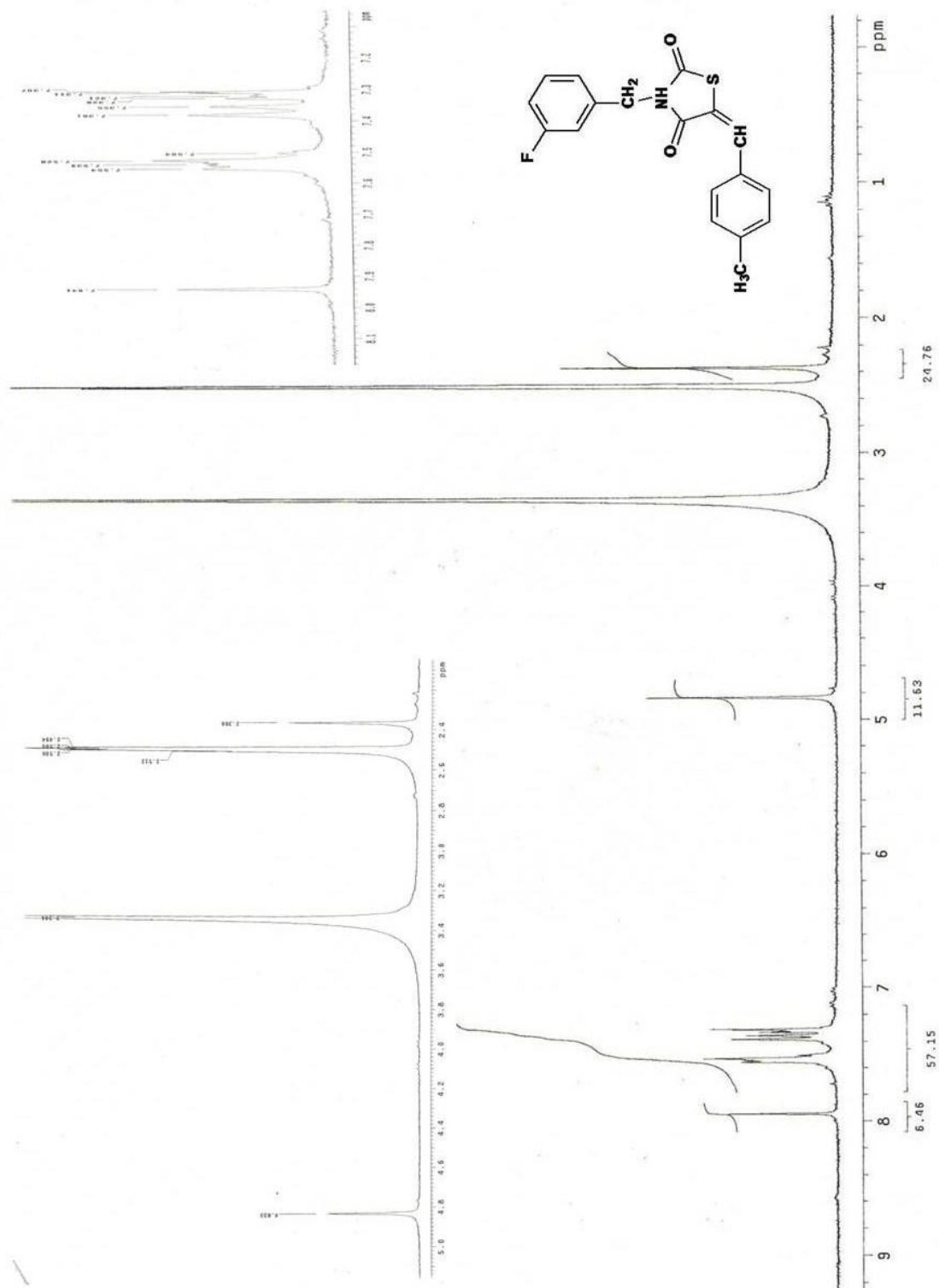


Figura 15: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio do 3-(3-fluor-benzil)-5-(4-metil-benzilideno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-140)

7.2. Parte Biológica

7.2.1. Animais

A utilização de camundongos em estudos de mecanismos básicos de dor e analgesia cresceu rapidamente nos últimos anos. Muitos testes comportamentais foram desenvolvidos para uso em ratos e posteriormente modificados para camundongos incluindo o teste da formalina e a dor induzida por ácido acético (TJØLSEN et al., 1992, SADDI & ABBOTT, 2000).

Para o desenvolvimento deste trabalho, foram utilizados camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*) de ambos os sexos, com faixa etária de 50 dias e peso variando entre 25 e 30 g, provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Todos os procedimentos realizados seguiram as diretrizes preconizadas pelo Manual sobre Cuidados e Usos de Animais de Laboratório (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, 2003), com esforços para minimizar o número e o sofrimento dos animais utilizados. Inicialmente, os camundongos foram submetidos a um período de adaptação, sendo mantidos em gaiolas sob condição padronizada de iluminação (ciclo claro/escuro de 12 horas), temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e recebendo água *ad libitum* e dieta padrão. Após este estágio, foram realizados os experimentos. Os procedimentos experimentais foram realizados sempre pela manhã, e concluídos no mesmo dia. Os protocolos utilizados foram aprovados pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal (CEEa) da Universidade Federal de Pernambuco (processo nº. 23076.006242/2009-75).

7.2.2. Substâncias utilizadas

EDTA (Sigma);

Carragenina (Sigma);

Ácido acético;

Formaldeído;

NaCl a 0,9%

7.2.3. Delineamento experimental

7.2.3.1. Atividade antiinflamatória

A atividade antiinflamatória dos derivados LPSF/GQs foi avaliada utilizando carragenina, com o objetivo de demonstrar a possível atividade antiinflamatória dos compostos. Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais, conforme homogeneidade dos seus pesos corporais:

1. GRUPO CONTROLE NEGATIVO (n=7), injeção do agente flogístico na cavidade peritoneal, sem tratamento prévio;
2. GRUPO LPSF/GQ-138 (n=7), injeção do agente flogístico na cavidade peritoneal e tratamento prévio;
3. GRUPO LPSF/GQ-140 (n=7), injeção do agente flogístico na cavidade peritoneal e tratamento prévio;
4. GRUPO REFERÊNCIA (n=7), injeção do agente flogístico na cavidade peritoneal e tratamento prévio com substância de referência;

7.2.3.2. Atividade antinociceptiva

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais, conforme homogeneidade dos seus pesos corporais:

1. GRUPO CONTROLE NEGATIVO (n=7), indução do estímulo, sem tratamento prévio;
2. GRUPO LPSF/GQ-138 (n=7), indução do estímulo, com tratamento prévio;
3. GRUPO LPSF/GQ-140 (n=7), indução do estímulo, com tratamento prévio;
4. GRUPO REFERÊNCIA (n=7), indução do estímulo, com tratamento prévio da substância de referência;

7.3. Atividades paralelas

7.3.1. Resumos publicados em congressos

LINS, T.U.L.; ARAÚJO, L.C.C.; OLIVEIRA, T.B.; PITTA, I.R.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; SILVA, T.G. Derivados tiazolidinônicos 3,5-dissubstituídos (LPSF/GQ-138 e LPSF/GQ-140) como possíveis candidatos a fármacos antiinflamatórios. **41º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental**. Ribeirão Preto – SP. 2009.

LINS, T.U.L. Síntese e Avaliação das Atividades Antiinflamatória e Analgésica de Novas Tiazolidinadionas e Análogos Estruturais Bioisósteros. **I Simpósio de Inovação em Ciências Biológicas – Sicbio: “Há 40 anos na difusão do conhecimento”**. Recife – PE. 2008.

SILVA, T.G.; PEREIRA, D.T.M.; LINS, T.U.L.; BARBOSA, K.P.S.; GALDINO, S.L.; LIMA, M.C.A.; PITTA, I.R.; Avaliação da inibição da migração celular pelo derivado tiazolidinônico 3,5-dissubstituído LPSF/GQ-15. **41º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental**. Ribeirão Preto – SP. 2009.

AGUIAR, J.S.; MOURA, S.L.; SITÔNIO-SANTIAGO, M.M.; CASTRO, K.C.; LINS, T.U.L.; SILVA, T.G. Atividade antiinflamatória do extrato etanólico da vagem de *Caesalpinia ferrea* MART. **61ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência – SBPC**. Manaus – AM. 2009.

MALTA, D.J.N.; LINS, T.U.L.; MOURA, S.L.; SITÔNIO, M.M.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; SILVA, T.G. Evaluation of imidazolidine derivative as new anti-inflammatory and analgesic agent **The 4th Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry: Systems Chemical Biology**. Porto de Galinhas – PE. 2008.

